



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL EğİTİM ve ARAşTIRMA HASTANESİ
GENEL CERRAHİ KLİNİğİ

Eğitim sorumlusu: Doç. Dr. Acar AREN

LOW ANTERİOR REZEKSİYON SENDROMUNA
KÖK HÜCRE UYGULAMA
DENEYSEL ALIřMA

Dr. Esin KAPLAN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Soykan ARIKAN

İstanbul 2017

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimimde tecrübe ve bilgi birikimi ile bana ışık tutan; Tez Danışmanım ve 2 Cerrahi Şefi Doç. Dr. Soykan Arıkan Hocam, 1 Cerrahi Şefi ve Eğitim Sorumlumuz Doç. Dr. Acar Aren Hocam, 3 Cerrahi Şefi Doç. Dr. Hasan Bektaş Hocam, 4 Cerrahi Şefi ve İdari Sorumlumuz Doç. Dr. Serkan Sarı Hocam'a, eğitime ilk başladığım andan itibaren benden yardımlarını, tecrübelerini ve tavsiyelerini hiç esirgemeyen çok değerli 1, 2, 3, 4 cerrahi uzman abim ve ablalarımın teşekkürü bir borç bilirim.

Asistan arkadaşlarıma da teşekkür eder, başarılarının devamını dilerim. Cerrahi ameliyathane ve servis emektar hemşire, personel ve sekreterlerine destekleri, yardımları ve her daim samimi, neşeli çalışma ortamları için teşekkür ediyorum. Ayrıca tez çalışmamı yaptığım İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi çalışanlarına, sağladıkları modern laboratuvarları, yardımları ve keyifli çalışma ortamları nedeniyle teşekkür ederim.

Dr.Esin Kaplan

TEŞEKKÜR.....	2
ÖZET.....	5
ABSTRACT.....	6
KISALTMLAR.....	7
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	9
TABLOLAR DİZİNİ.....	10
1.GİRİŞ.....	11
2.GENEL BİLGİLER.....	12
2.1. Kolon anatomisi.....	12
Kolon'un vasküler dolaşımı	
Kolon'un lenfatik dolaşımı	
Kolon'un innervasyonu	
2.2. Rektum ve Anal Kanal Anatomisi.....	17
Rektum ve Anal Kanal'ın Vasküler Dolaşımı	
Rektum ve Anal Kanal'ın lenfatik Dolaşımı	
Rektum ve Anal Kanal'ın İnnervasyonu	
2.3. Rektum ve Anal Kanal Histolojisi.....	24
2.4. Rektum ve Anal Kanal Fizyolojisi.....	24
2.5. Defekasyon Fizyolojisi.....	25
2.6. Rektum Kanseri.....	33
2.7 Cerrahi tedavi Seçenekleri.....	36
2.8. Low Anterior Rezeksiyon Sendromu.....	39
2.9. Kök hücre.....	39
2.9.1. Mezenkimalkök hücreler.....	42
2.9.2. Stromal Vasküler Fraksiyon.....	43
2.9.3. Kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları.....	44

2.9.4. Kök hücre kaynağı olarak adipoz doku.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	46
3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı.....	47
3.2. Cerrahi İşlem.....	48
3.3. Adipoz Doku Temini.....	50
3.4. Mezenkimal Kök Hücrenin Takibi.....	50
3.5. Elektromyografi (EMG).....	52
3.6. İstatiksel Yöntem.....	53
4. BULGULAR.....	54
4.1. EMG ölçümleri.....	54
4.2. Hayvan Ağırlık Ölçümleri.....	55
4.3. İstatiksel Bulgular.....	55
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ	61
KAYNAKÇA.....	62

ÖZET

Low anterior rezeksiyon sendromu, mezorektal eksizyon sırasında oluşan nöronal hasara bağlı, hastalarda rektal ve üriner inkontinans, impotans gibi cinsel işlev bozukluklarının oluşmasına verilen genel bir başlıktır.

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen farklılaşmamış hücrelere verilen isimdir. Mezenkimal kök hücreler (MKH), birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli dayanıklı hücrelerdir. MKH kaynakları kemik iliği (Kİ) ve adipoz dokulardır. Günümüzde Adipoz doku kaynaklı kök hücre temini kültür ortamı kullanılmadan bir seri satrifüj ve filtreleme işlemleri ile saatler içinde kolaylıkla sağlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı low anterior rezeksiyon sendromunda rectum ve sfinkter inervasyon hasarı üzerine adipoz doku kökenli kök hücrenin (ADKKH) etkilerini değerlendirmektir.

Çalışmada, 22 adet, 3 aylık dişi Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Her grupta 10 sıçan olacak şekilde 2 grup oluşturuldu. Ayrıca 2 adet sıçan ise adipoz doku eldesi amaçlı kullanıldı. Grup 1 Total mezorektal diseksiyon yapılarak kontrol grubu olarak bırakıldı. Grup 2 Total mezorektal diseksiyon yapıldıktan sonra elde edilmiş olan kök hücreler pelvik bölgeye enjekte edildi. Ratlara operasyona alınmadan önce, postop. 7. ve 14. Günlerde EMG ölçümü yapıldı. Operasyon öncesi (kontrol:0.44±0.28, kök hücre:0.62±0.25), postop. 7. Gün (kontrol:0.24±0.20, kök hücre:0.37±0.26), ve 14. Günlerde (kontrol:0.30±0.25, kök hücre:0.51±0.24) EMG ölçümlerini alındı. İki grup karşılaştırıldığında kök hücre grubunda, kontrol grubuna göre istatistiğe yansıyan anlamlı iyileşme görülmedi ($p>0.05$). Çalışmada EMG ölçümlerinde istatistiksel anlamda bir fark çıkmamakla birlikte kök hücre verilen grup önemli kilo kaybetmiştir. Kontrol grubunun ortalama ağırlığı 285.2±19.7, kök hücre grubunun ortalama ağırlığı 258±14.1 olup istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı ($p<0.05$) fark bulunmuştur.

Çalışma sonucunda kök hücre verilen grup ile kök hücre verilmeyen grup EMG ölçümleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Kök hücre grubundaki hayvanlarda anlamlı kilo kaybı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: LARS, Kök Hücre

ABSTRACT

Background: Low anterior resection syndrome (LARS) is the umbrella term which describes a constellation of symptoms, including rectal and urinary incontinence and sexual dysfunction such as impotence, which emerge as a result of mesorectal excision-induced neuronal injury. Stem cells are undifferentiated cells present in the multicellular organisms, which have unique self-renewal capacity and the ability to give rise to differentiated cell types. Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent and robust cells, which can be isolated from various tissues, including bone marrow (BM) and adipose tissue. The available methods allow isolation of adipose-derived stem cells through a series of centrifugation and filtration steps in only hours, and do not require culturing cells in growth media. This study aims to explore the effects of adipose-derived stem cells (ADSCs) on rectum and sphincter innervation injury in LARS.

Material and Method: Twenty-two three-month-old, female Sprague-Dawley rats were used in this study. The animals were assigned into two groups (n=10 in each). Two additional animals were used to extract the adipose tissue. Group 1 (control group) underwent total mesorectal dissection. Group 2 (treatment group) underwent total mesorectal dissection, and adipose tissue-derived stem cells (ADSCs) were injected into the pelvic region. Electromyography (EMG) measurements were performed preoperatively and on postoperative Days 7 and 14.

Results: The mean preoperative EMG scores in the control group and the treatment group were 0.44 ± 0.28 and 0.62 ± 0.25 , respectively. On postoperative Day 7, the mean EMG scores in the control group and the treatment group were 0.24 ± 0.20 and 0.37 ± 0.26 , respectively. On postoperative Day 14, the mean EMG scores in the control group and the treatment group were 0.30 ± 0.25 and 0.51 ± 0.24 , respectively. There was no significant difference in the EMG scores between the groups ($p>0.05$). However, a significant weight loss was observed in the treatment group. The mean weight was 285.2 ± 19.7 g and 258 ± 14.1 g in the control and treatment groups, respectively ($p<0.05$).

Conclusion: Our study results suggest that ADSCs have no significant effect on the EMG scores following total mesorectal dissection. However, ADSC administration may be associated with weight loss, which should be further investigated.

Keywords: LARS, STEM, CELL

KISALTMALAR

ADKKH: Adipoz Doku Kökenli Kök Hücre

ALS: Amyotrofik Lateral Skleroz

CD: Farklanma Kümeleri

EÖH: Endotel öncü hücre

EGF: Endotelyal Büyüme Faktörü

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

GFP: Yeşil Floresan Protein

HPH: Hematopoetik Kök Hücre

HLA: İnsan Lökosit Antijeni

HS: İnsan serumu

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IL 1: İnterlökin-1

IL 2: İnterlökin-6

IL 8: İnterlökin-8

ISCT: Uluslararası Hücresel Tedavi Birliği

İMA: İnterior mezenterik arter

İMV: İnterior mezenterik ven

Kİ: Kemik İliği

KİKKH: Kemik İliği Kökenli Kök Hücre

MKH: Mezenkimal Kök Hücre

NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç

PMNL: Polimorfonükleer Lökosit

SMA: Superior mezenterik arter

SMV: Superior mezenterik ven

SSS: Santral Sinir Sistemi

TGF-B: Transforme Edici Büyüme Faktörü β

TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa

SVF: Stromal Vasküler Fraksiyon

ATZ: Anal Transizyonel Zone

ÇRS: Çevresel Rezeksiyon Sınırı

Cm: Santimetre



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Haftalara Göre EMG Değişikleri

Şekil 2: Hayvan Ağırlık Değişikliği

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1:Kolon'un Arteriar Dolaşımı

Resim 2:Kolon'un Venöz Doloşımı

Resim 3:Rektum Anatomisi

Resim 4:Anal Kanal Sınırları

Resim 5:Rektum İnervasyonu

Resim 6:Rektum plexusları

Resim 7:Low Anterior Rezeksiyon

Resim 8:Mezorektum Diseksiyon Planı

Resim 9:Operasyon sırasında rektumun ekartörler ile ortaya konması

Resim 10:Keskin ve künt diseksiyonlar ile rektumun tamamen çıplaklaştırılması

Resim11:Kök Hücre Enjeksiyonunun Yapılması

Resim 12:Kök Hücre Elde Edilme Aşamaları

Resim 13:Stromal Vasküler Fraksiyon Tüpte Görünümü

Resim 14:EMG Ölçümü İçin Sfinkter 3 Kadrana İğne Batırma

Resim 15;EMG Üç İğneli Prob

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1:1,2 ve 3. Sfinkter EMG Ölçüm Sonuçları

Tablo 2:Deney Sonu Kontrol Ve Kök Hücre Grubunun Ağırlıkları

Tablo 3:EMG İstatistik Değerlendirmeleri

Tablo 4:Hayvan Ağırlık Değişiklik İstatistikleri



1. GİRİŞ

Kolorektal kanserler, Batı dünyasındaki kadın ve erkeklerde en sık görülen tümörler arasında 3.sırada yer alırken, kanser bağlantılı ölümler arasında 2. sırada yer almaktadır (1). Kolorektal kanser vakalarının yaklaşık %25-30'unda kanser rektum yerleşimli iken (2); rektum kanserli vakaların %70-80'inde rektumun 2/3'ünde distal lokalizasyon gözlenir (3). Rektal kanser vakalarının %90'ında tümör rektum ve perirektal lenf dokularında sınırlı olduğundan, cerrahi tedavi birincil seçenektir. Alt rektum kanserleri, rektumun diğer bölgelerinde yerleşen kanserlere göre daha yüksek oranlarda abdominoperineal rezeksiyon ve lokal nüks oranlarına sahiptir (4, 5).

Rektumun lenf nodları mezorektum içindedir. Mezorektal dokunun tamamının çıkarılmasıyla hem primer rektum kanseri, hem de mezorektum içindeki tümör odakları ve lenf nodları çıkarılmış olur. Bu ameliyata Total Mezorektal Eksizyon (TME) denir. TME sfinkter korunarak veya tümörün çok aşağıda yerleşmesi ve sfinktere invaze olması dolayısı ile sfinkter korunmadan(abdominoperineal rezeksiyon) uygulanabilir.

Yapılan sfinkter koruyucu rezeksiyon; Low Anterior Rezeksiyon, Ultra Low Anterior Rezeksiyon ve İntersfinkterik rezeksiyon olarak uygulanabilmektedir. Her ne kadar sfinkter korunsa dahi çıkarılan mezorektumla birlikte oluşan sinir hasarına bağlı hastalarda rektal ve üriner inkontinans, impotans gibi cinsel işlev bozuklukları oluşabilmektedir. Hastaların yaşam standartlarını olumsuz etkileyen bu önlenemeyen komplikasyonlara genel olarak Low Anterior Rezeksiyon Sendromu denir.

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen farklılaşmamış hücrelere verilen isimdir. Vücudumuzdaki kas, karaciğer, cilt hücreleri gibi hücrelerin hedefleri bellidir ve bu hücreler bölündükleri zaman yine kendileri gibi bir hücre oluştururlar. Oysa kök hücrelerin bu hücrelerden farklı olarak belirlenmiş bir fonksiyonları yoktur. Bu yüzden aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşebilirler. Mezenkimal kök hücreler (MKH), birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli dayanıklı hücrelerdir. Salgıladıkları çözünür faktörler, hücreler arası veya hücre dışı matriks ile yakın ilişki halinde bulunmaları nedeniyle içinde buldukları dokuya özel hücrelerin fonksiyonlarına önemli katkı sağlarlar. MKH kaynakları kemik iliği (Kİ) ve adipoz dokulardır. Günümüzde Adipoz doku

kaynaklı kök hücre temini kültür ortamı kullanılmadan bir seri satrifüj ve filtreleme işlemleri ile saatler içinde kolaylıkla sağlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı low anterior rezeksiyon sendromunda rectum ve sfinkter inervasyon hasarı üzerine adipoz doku kökenli kök hücrenin (ADKKH) etkilerini değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kolon anatomisi

Kolonun kas tabakalarından en dışta olan longitudinal kas tabakasıdır. Bu lifler birbirlerinden eşit uzaklıkta üç bölgede yoğunlaşarak kolonun tenyalarını meydana getirirler. Tenyaların genişliği 5-6 mm olup, rektosigmoid köşede şerit özelliklerini yitirerek rektumun longitudinal kas liflerine karışırlar. Tenyaların boyu kolon boyundan daha kısa olduğu için kolon üzerinde cepleşmeler meydana gelir ki, bunlara da kolonun haustraları denmektedir (6).

Çekum kalın bağırsağın ilk parçasıdır ve ortalama çapı 4-8 cm. arasındadır. Terminal ileum; çekuma „ileoçekal valv“ adı verilen kalınlaşmış bir invajinasyon yoluyla boşalır. İleoçekal valv mekanizmasıyla ileum içeriğinin kolona hızlı geçişi ve regürjitasyonu önlenmiş olur.

Appendiks, ileoçekal valvin yaklaşık 3 cm. aşağısından çekumdan çıkan ve kör sonlanan bir yapıdır. Çekumun aslında mezenteri yoktur, ancak yinede çoğu kaynakta intraperitoneal olarak kabul edilir, çünkü önemli kısmı mobildir (7).

Çıkan kolon, çekumdan karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanan yaklaşık 15–20 cm“lik kolon segmentidir. Karaciğer alt yüzünde sola doğru dönerek hepatic fleksurayı yapar. Ön ve yan tarafları peritonla kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir. Doğrultusu aşağıdan yukarıya ve önden arkaya doğru eğiktir (7).

Transvers kolon, ortalama 40-50 cm. olup kolonun en mobil ve en uzun olan kısmıdır. Hepatik ve splenik fleksuralar arasında uzanır ve intraperitonealdir. Omentum majus transvers kolonun üst kesimine tutunur (8).

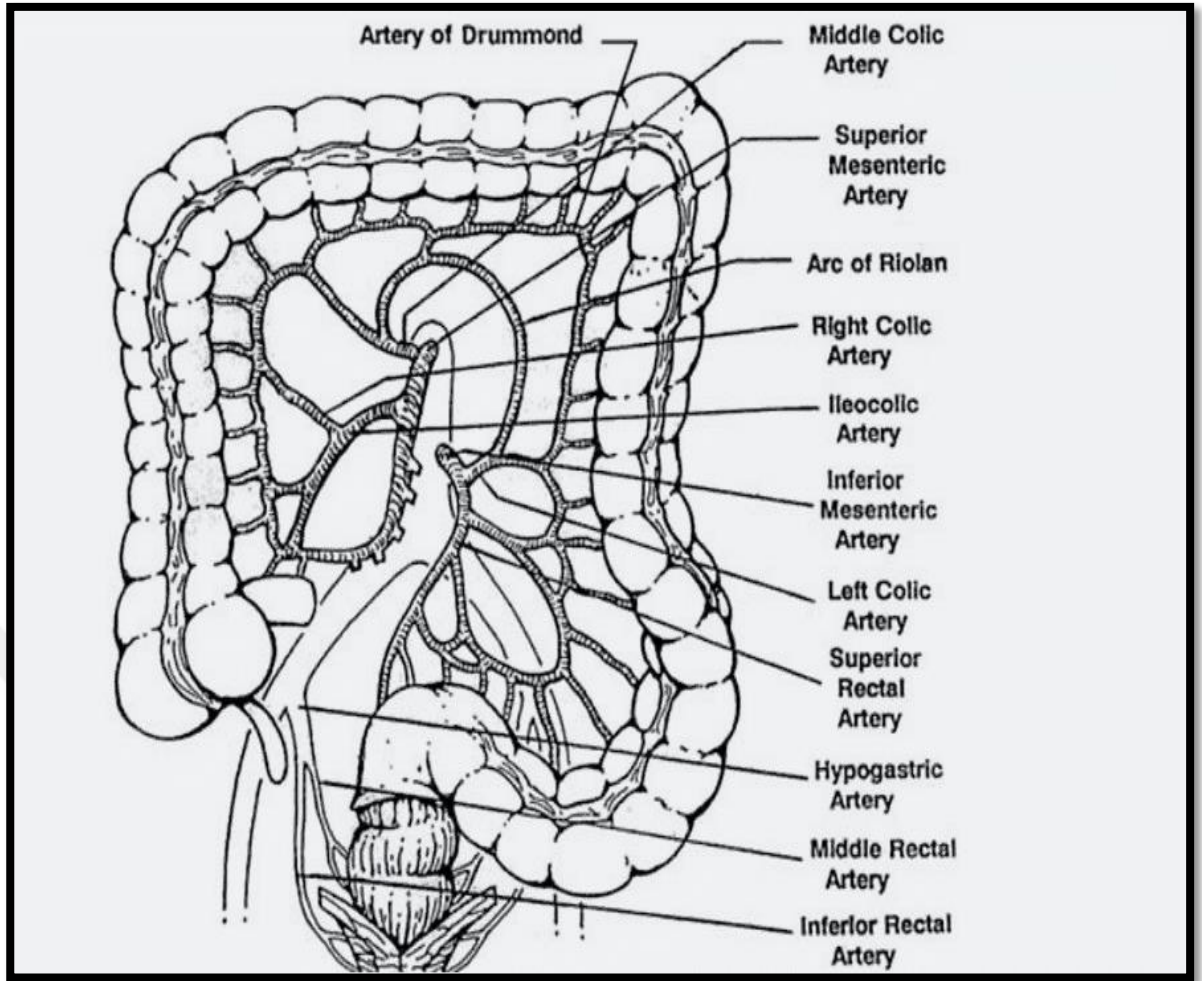
İnen kolon, splenik fleksuradan başlayıp pelvis girişinde sigmoid kolona kadar uzanır. Ortalama 25-30 cm uzunluğundadır. İnen kolonun ön yüzü peritonla kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir (7). İnen kolon arkada iliak kas, iliolumbar ligament, kuadratus lumborum kası, transversus abdominus kasının başlangıcı, sol böbrek fasyası, uyluğun lateral kutanöz siniri, ilioinguinal ve iliohipogastrik sinirlerle komşudur. Öndeyse ince bağırsaklar, omentum majus ve karın duvarı ile temastadır (9).

Sigmoid kolon, iliyak krest hizasından veya altında kolon mezenteriyle sigmoid kolonu oluşturur. Kolonun bu bölümü aşağı doğru ilerler. Genellikle sakral 3. vertebra hizasında mezodonun sonlandığı yerde rektuma döner. Sigmoid kolonun arka tarafındaki yapılar; sol eksternal ve internal iliyak damarlar, sol gonodal damarlar, sol üreter ve sakral pleksus köklerini içerir (6).

Kolon'un Vasküler Dolaşımı

Çekum ve çıkan kolon, superior mezenterik arterin (SMA) iki dalı tarafından beslenir: İleokolik ve sağ kolik arter. Bu arterlerin oluşturduğu arkuslardan çıkan vasa rektalar kolon duvarına mediyal yüzden girerler. Vasa rekta, kolon yüzeyine ulaştığında kısa ve uzun dallara ayrılır. Kısa dallar kolonun mediyal veya mezenterik tarafında, uzun dallar da kolonun lateral ve antimezenterik tarafında dağılırlar. Uzun dallardan ayrılan küçük dallar epiploik apendikslere gönderilir.

Transvers kolon da benzer şekilde, superior mezenterik arterin dalı olan orta kolik arter tarafından beslenir (10). İnfierior mezenterik arter (İMA), aortadan üçüncü lumbar vertebranın ve duodenumun transvers segmentinin alt kenarının hizasından veya yakınından çıkar. İnfierior mezenterik arterin dalları, inen kolonda dağılan sol kolik arter, sigmoid kolonda dağılan sigmoidal arter ve rektumda dağılan superior rektal arterdir. İnsanların %38'inde aksesuar orta kolik arter vardır. Sol kolik arter, insanların %86'sında splenik fleksuraya kadar çıkar, %14'ünde fleksuranın uzağında marjinal arterle birleşir (10). Drummond'un marjinal arteri, ileokolik, sağ kolik, orta kolik, sol kolik ve sigmoidal arter dalları arasındaki bir seri anastomozdan oluşmuş bir arkustur. Marjinal arter, barsak duvarından 1-8 cm uzakta, kalın barsağın mezenterik kenarına hemen hemen paralel bir seyir izler. Superior rektal arterde sonlanabilir veya sonlanmaz (10). SMA'in dalı olan a.calica media ile İMA'in dalı olan sol kolik arter arasında splenik flexura düzeyinde daha santralde riolan cavsi arteri olarak bilinen anastomatik arter bulunur. (Resim 1)



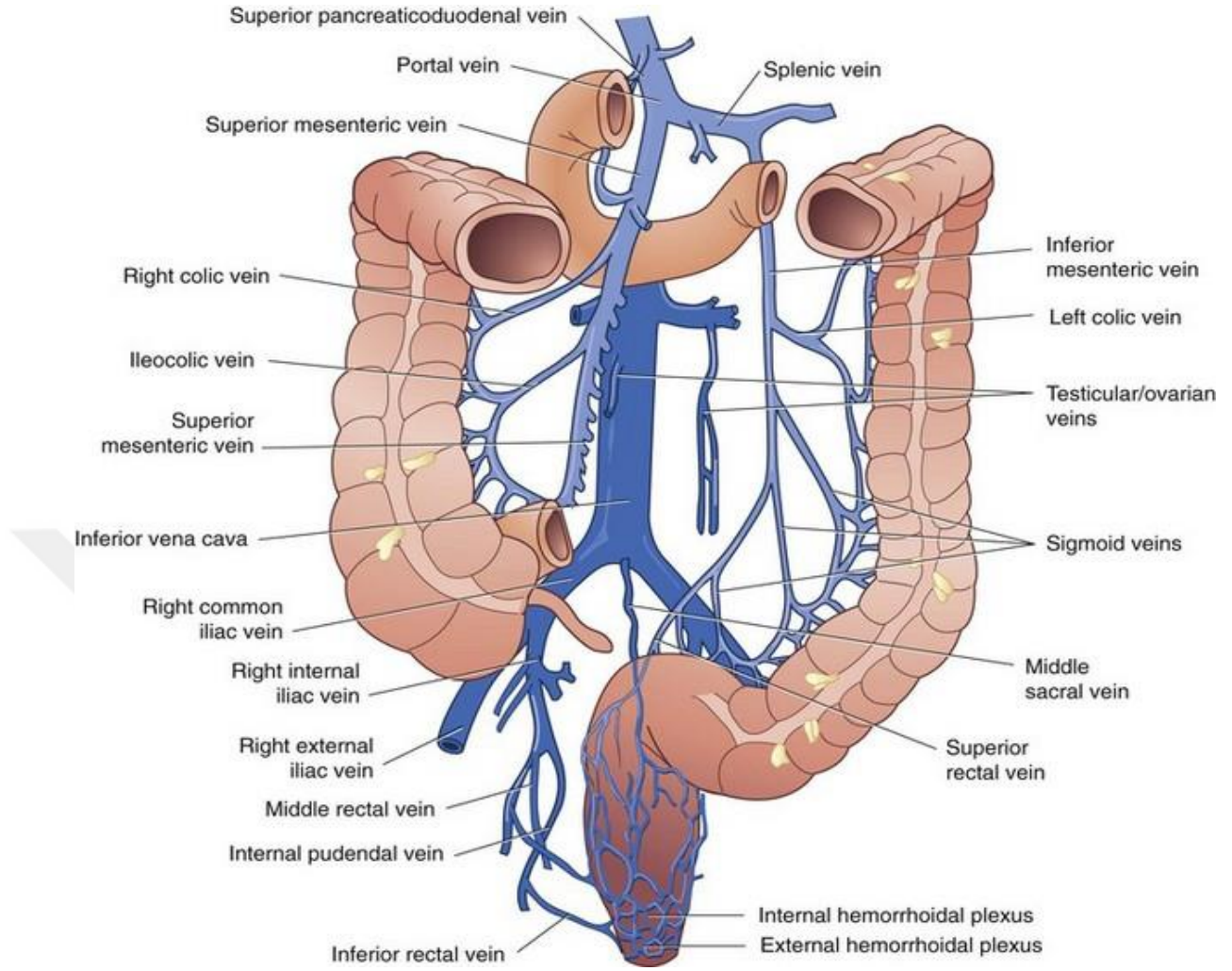
Resim 1:Kolon'un Arteriar Dolaşımı

Çekum ve apendiks bölgesindeki venöz dönüş, ileokolik ven yoluyla superior mezenterik vene (SMV) ulaşır.

Çıkan kolon ve hepatik fleksuradaki venöz dönüş, vena kolika dekstra yoluyla, transvers kolon venöz dönüşü ise middle kolik ven yoluyla SMV'ye doğrudur.

Splenik fleksuradaki venöz dönüş, hem vena kolika media ile hem de vena kolika sinistra yoluyla olmaktadır.

İnen kolon venöz dönüşü, vena kolika sinistra yoluyla, sigmoid kolon venöz dönüşü ise vena sigmoidea yoluyla inferior mezenterik vene (İMV) doğrudur. İMV, inen kolon, sigmoid kolon ve proksimal rektumu drene eder. Treitz ligamanının solunda retroperitoneal lokalizasyonda gider, pankreasın posteriorunda splenik venle birleşir (7).(Resim 2)



Resim 2:Kolon'un Venöz Dolaşımı

Kolon'un Lenfatik Dolaşımı

Kolon, submukoza ve muskularis mukozada lokalize sirküler dizilimli lenfatik kanallarla çevrilidir. Bu nedenle tümörler barsağı genellikle çepeçevre sarma eğilimindedirler. Bu segmental yapı tümörlerin longitudinal intramural yayılımını sınırlar. Submukozal ve serozal zonlara dairesel ilerlemeler yine annüler lezyonlarla sonuçlanır. Lenfatiklerde arterleri takip eder. Epikolik lenf bezleri, küçüktür ve hemen

kolon duvarı üzerinde seröz membranın altında yerleşmişlerdir. Parakolik lenf bezleri barsak duvarı ile marjinal arter arasında bulunurlar. Mezokolik (intermezenterik) lenf bezleri kolonun esas damarları SMA, İMA boyunca uzanırlar. Mezenter kökü (principal) lenf bezleri süperior ve inferior mezenterik arter kökü etrafındaki ve aortik düğümler ile sol lomber düğümleri içerir.

Rektum ve anal kanal lenf yolları, biri pektinat çizginin üstünde, diğeri de altında olmak üzere iki duvar dışı pleksus oluşturur. Üst pleksus, arka rektum düğümlerinden süperior rektal arter boyunca bir düğüm zincirine ve İMA boyunca aortik gangliyonlara drene olur. Orta ve inferior rektal arteri takip eden lenf gangliyonları ise hipogastrik gangliyonlara ve pelvis yan duvarlarında iliaka interna lenf gangliyonlarına drene olur. Rektum alt, anal kanal ve perineal derinin lenfatik drenajı her iki taraf inguinal lenf bezleri ve arteria iliaka interna etrafındaki lenf bezlerine doğru olmaktadır (9).

Kolon'un İnnervasyonu

Sempatik sinirler peristaltizmi inhibe ederken, parasempatikler ise stimüle eder. Kolona giden sempatik lifler spinal kordun aşağı altıncı torasik segmentinden kaynaklanır. Kolonun parasempatikleri vagustan gelir. (7)

Kolon histolojisi

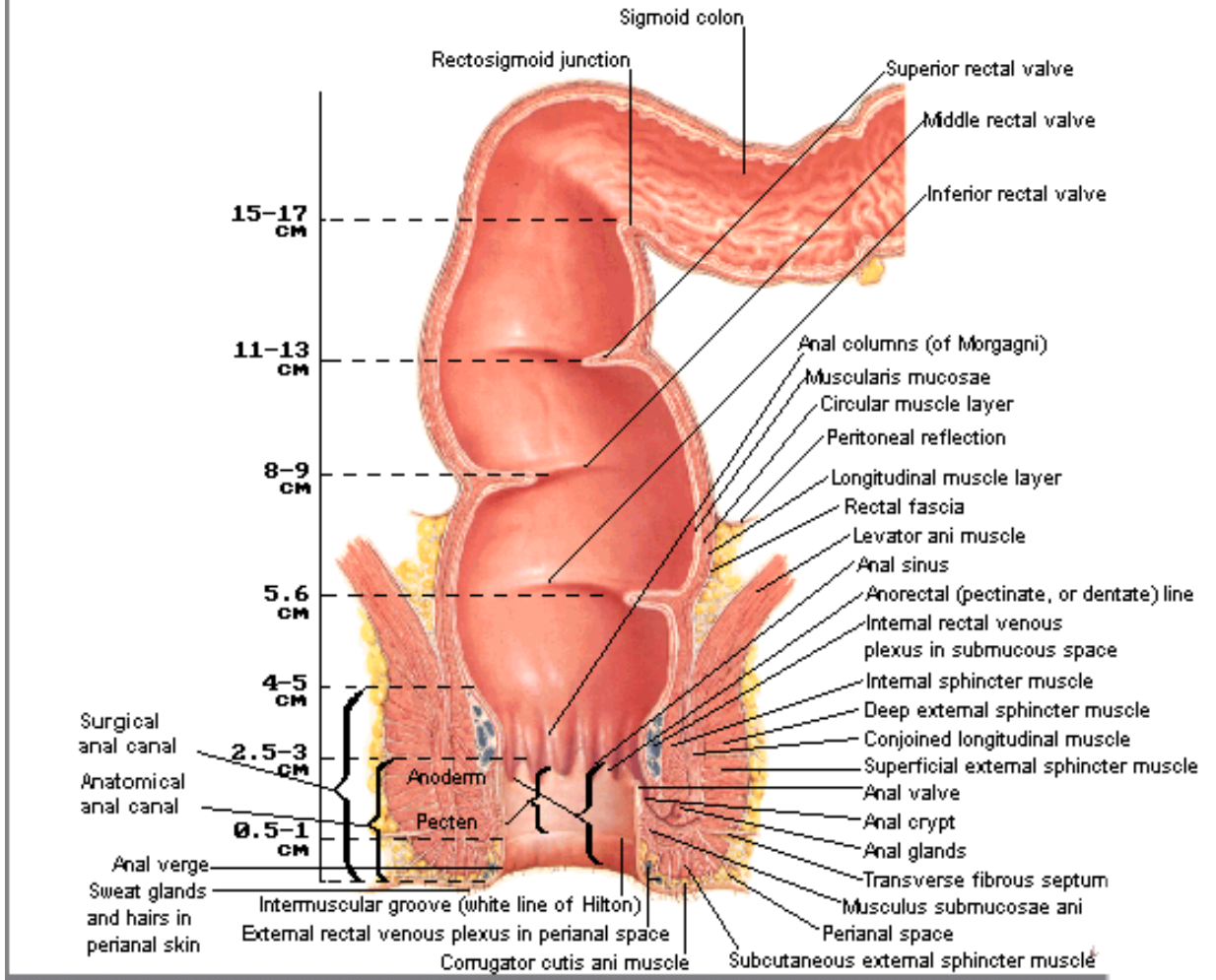
Sindirim kanalında görülen 4 tabaka kolonda da vardır: Tunika mukoza; mukoza yüzey epitelyumu, kripta, lamina propria ve lamina muskularis mukozadan oluşur. Barsağın bu bölümünde villus yoktur. Yüzey epiteli basit kolumnar veya küboidal epitelden oluşur. İntestinal bezler uzundur çok sayıda goblet ve emici hücre, az sayıda enteroendokrin hücre ile karakterizedir. Epitelyal hücreler arasında T lenfositler mevcuttur (8). Lamina propria; fibroblastlar, damarlar, sinirler, düz kas ve inflamatuvar hücrelerin gevşek bir kolleksiyonunu içerir. Lenfatikler lamina proprianın iç 1/3'lük bölümünde sınırlıdır. Normalde mevcut olan inflamatuvar hücreler, lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, eozinofil ve histiyositlerdir (11). Muskularis mukoza; ince bir kas tabakasıdır. Mukozayı daha derin submukozadan ayırmaktadır (11). Tunika submukoza; lamina proprianın hücresel içeriği submukozal stromada da yer alır. Burada Meissner submukozal pleksusunu bulunur. Submukoza

arteriolleri, venüleri ve lenfatikleri içerir (11). Tunika muskularis, içte sirküler, dışta longitudinal kaslardan meydana gelmiştir. Auerbach pleksusu iki kas tabakası arasında yer alır. Dış longitudinal tabaka lifleri tenya koli denilen üç kalın longitudinal bant halinde toplanmıştır (11). Tunika seroza; peritondur. Çekum, apendiks, transvers kolon ve sigmoid kolon ve rectum 1/3 kısmını tam olarak sarar, çıkan kolon, inen kolon ve rektum'un geri kalan bölümü ile anal kanal peritonun arkasında kalır .

2.2. Rektum ve Anal Kanal Anatomisi

Rektum yaklaşık 12-15 cm uzunluğunda ve sigmoid kolon ile anal kanal arasında uzanır. Rektumun üst 1/3 bölümü ön ve yan yüzlerinde peritonla örtülüdür. Orta 1/3 bölümünün yalnızca ön yüzü periton tarafından çevrilir ve alt 1/3 bölümü peritoneal izdüşümün altındadır. Rektumun proksimali, yaklaşık olarak sakral promontorium seviyesinde kolonun tenya kolileri düzeyi olarak tanımlanır (5).

Rectum and Anal Canal



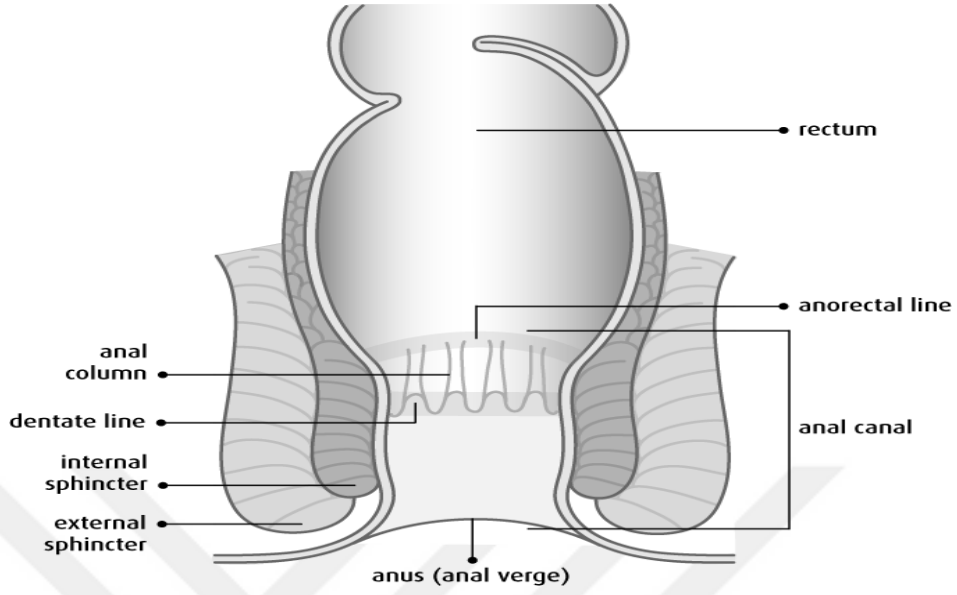
Resim 3:Rektum Anatomisi

Anatomik anal kanal, anal sınırdan dentat sınıra kadar uzanır. (Resim 3)

Cerrahi anal kanal ise anal sınırdan puborektalisin rektal tuşe ile palpe edilebilen sirküler alt sınırını oluşturan anorektal halkaya dek uzanan bir yapı olarak tanımlanır. Anorektal halka dentat sınırın 1,5- 2 cm üzerindedir (5).

Birbirinden intersfinkterik aralık ile ayrılmış olan Anal kanal ve Anal margin anatomisi de farklıdır. Anal kanalın asıl fonksiyonu defekasyonun düzenlenmesi ve kontinansın sağlanması olup anal margin ile dış ortama açılır. Anokütanöz çizgi anatomik olarak internal anal sfinkterin sonlandığı yere denk gelir ve tuşe ile hissedilir. Buraya klinikte intersfinkterik aralık denir. (Resim 4)

The Anal Canal and Structures



Resim 4: Anal Kanal Sınırları

Vaskülarizasyon

Rektum ve Anal kanalın arterleri; bunlar süperior, middle, inferior rektal ve median sakral arterlerdir. Süperior rektal arter İMA“in terminal dalı olup, arteria iliaca kominis sinistrayı çaprazladıktan sonra oluşur ve rektumun arka duvarına doğru iner. S3 seviyesinde ikiye ayrılarak üst ve orta rektumu besler. Orta rektal arter, arteria iliaca internadan çıkar, erkekte rektumun kas yapısı ve prostat bezini besler. Kadınlarda bazen olmayabilir, yerini uterin arter alır. Denonvillier fasyası boyunca geçer ve anorektal halka seviyesinde anorektal yüzden rektal duvara girerler. İnférieur rektal arter internal pudental arterden çıkar, öne ve mediale doğru ilerleyerek anal kanalın pektinat çizgi distalinde kalan kısmı beslerler (7). Median sakral arter aort bifurkasyosunun hemen altında çıkar ve periton arkasından alt lomber vertebraların, sakrumun ve koksiksin ön yüzünden aşağı doğru iner. Rektum arka duvarına birkaç küçük dal verir (9).

Anal kanal mukozası diseke edilerek kaldırıldığı zaman altında hemoroidal damar pleksusu görülür (Resim 3). Üst hemoroidal(rektal) arter ile orta ve alt hemoroidal

arter ve venin uç dalları birleşerek bu damar ağını oluşturur. Bu damarlar rektum duvarını geçerek submukozada birbirleriyle birleşip bir damar ağı oluşturur. Dentat çizgi proksimalinde kalan kısım internal hemoroid pleksusu, distalde perianal deri altında kalan kısım eksternal hemoroid pleksusu yapar. İnternal hemoroidal venler süperior rektal vene drene olur. Dentat hattın altında eksternal hemoroid venler pudental venlere drene olur (9).

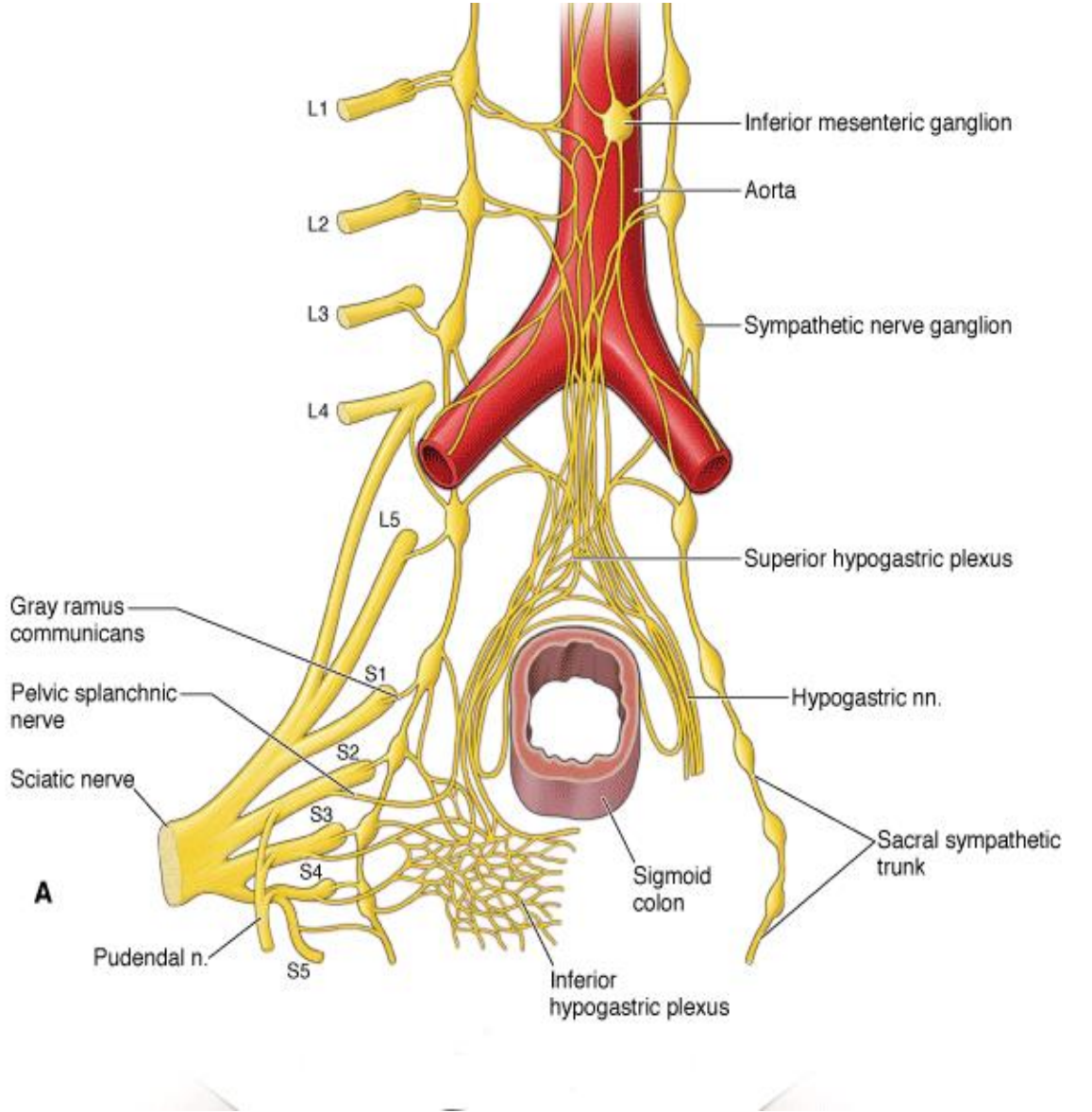
Rektumun venöz drenajı arterlerine paralel seyrederek, portal ve sistemik (kaval) dolaşımın her ikisine birden boşalır. Rektumun üst kısmı süperior rektal ven aracılığıyla İMV'ye drene olur. Bu drenaj portal sistemdedir. Orta ve alt bölge ise middle rektal ven ve inferior rektal ven aracılığıyla internal pudental vene oradan da internal iliak ven yoluyla sistemik dolaşıma drene olurlar. Süperior rektal ven (portal) ile middle ve inferior rektal venler (sistemik) arasında anastomozlar bulunmaktadır ve bunlar bir portosistemik Şant meydana getirirler.

Anal kanalın kas tabakasını içte rektumun sirküler düz kasları ile longitudinal kas lifleri yapar. Dışta ise 3 bölümden oluşan ve çizgili kaslardan yapılmış eksternal sfinkter oluşturur. Puborektalis kasının yaptığı anorektal halka hizasında yani anal kanalın üst sınırında rektumun sirküler kasları kalınlaşmaya başlar. Dentat çizgi civarında en kalın hale gelir (ortalama 6 mm) ve buradan distale doğru tekrar daralarak intersfinkterik aralıkta sonlanır. İnternal sfinkteri oluşturan bu sirküler kaslar kanal mukozası altında, birbirine paralel şekilde yerleşmiştir. Sayıları 20-30 arasında olup kitabın yapraklarının cildine bağlandığı gibi periferde longitudinal fibromusküler banda sıkıca tutunmuşlardır (Resim 4). İnternal sfinkteri yapan her bir kas yaprağının üzerinde kılcal damarlar bulunur ve bunlar cerrahi mikroskop altında görülürler. Defekasyon esnasında longitudinal band lifleri anal kanalı yukarı doğru çekerken kanalın üst kısmı gevşer ve gaitanın kanala girişine izin verir. Lümen içindeki gaita submukozada bulunan afferent lifler yardımı ile internal sfinkterin gevşemesine yol açar ve düz kas yapraklarının lümene bakan serbest uçlarını distale doğru iter. Bu durum anal kanalı açarak defekasyona yardımcı olur. Eksternal sfinkteri yapan iskelet kasları subkutan, yüzeysel ve derin olmak üzere 3 parçadan oluşur. Subkutan parçası perianal derinin hemen altında yerleşmiştir ve internal sfinkteri alttan ve yandan sarar (Resim 3). Longitudinal bandın distal kısmı eldiven parmağı şeklinde açılarak perianal deride sonlanır ve eksternal sfinkterin subkutan parçası bu liflerin arasında yerleşir. Yüzeysel ve derin parçası ise yukarı doğru anal

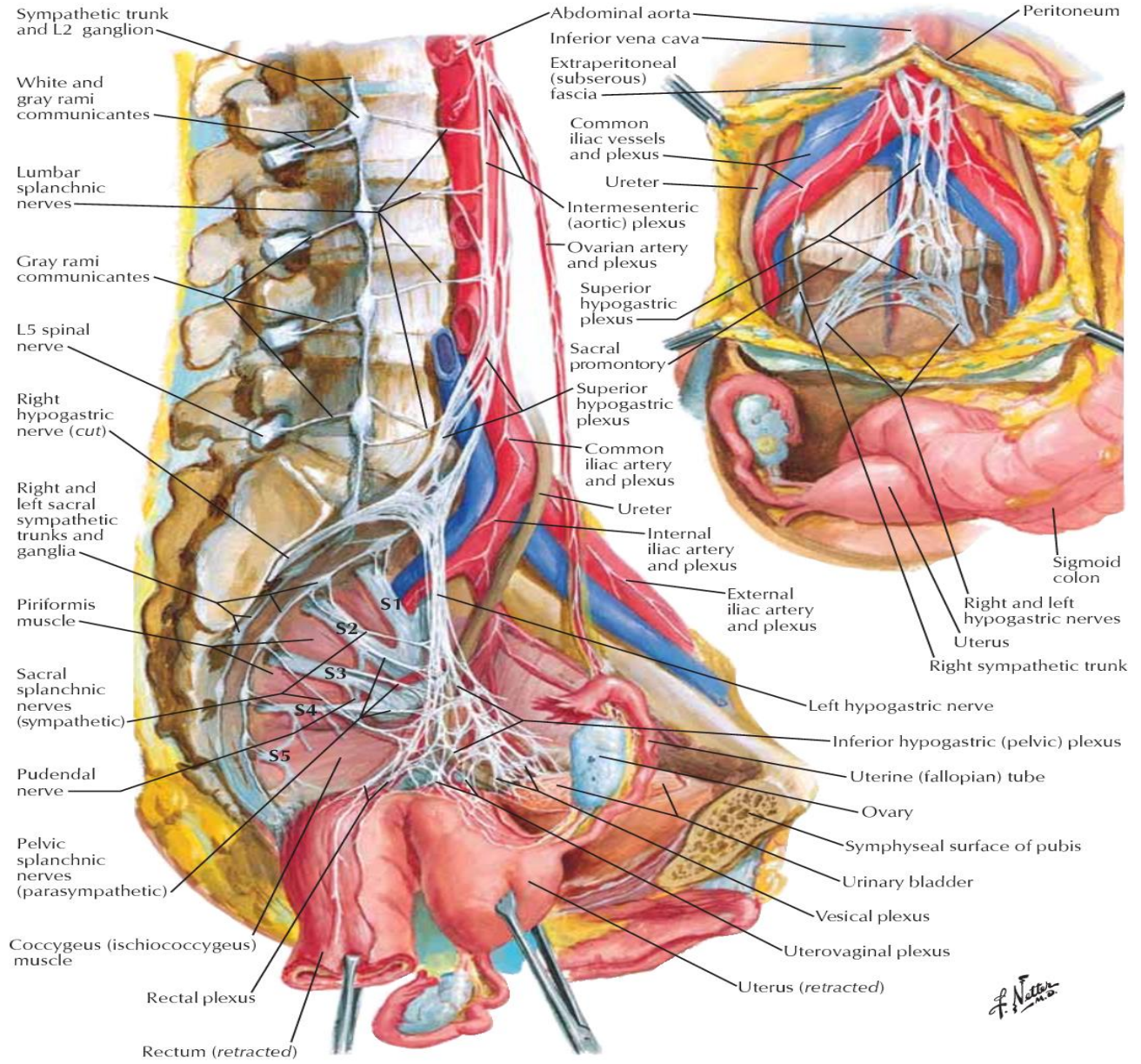
kanalı dıştan sararak, levator ani kas kompleksini oluşturan kaslardan puborektalisin liflerine karışır. Levator ani, eksternal anal sfinkter kası ile birlikte diğer postural gövde kasları gibi devamlı aktivite halindedir ve anal kanalı kapatır. Puborektalis kası, simfizis pubis arkasından başlayıp rektum-anal kanal bileşkesini yandan ve arkadan sararak anorektal halkayı yapar. Daha sonra tekrar pubise dönerek U şeklinde bir loop yapar. Normalde kasılmış halde bulunduğu için anal kanalla rektum arasında bir açılanma oluşturur. Bu durum karın içi basıncının yardımı ile anal kanalı kapalı tutarak kontinansa yardımcı olur. Defekasyon esnasında gevşeyerek anal kanalın vertikal yönde düzleşmesini sağlar ve gaitanın çıkışını kolaylaştırır.

Duyu ve motor sinirleri

Sol kolonun ve rektumun sempatik innervasyonu ilk üç lumbal segmentten kaynaklanır. Bu sinirler, preaortik pleksuslara katılır ve aorta bifurkasyonunun aşağısında inferior mezenterik pleksus adını alır (7). Sol kolonun parasempatikleri rektumun her iki yanında “nervi erigentesleri” oluşturmak üzere sakral sinirlerden (S2,S3,S4) gelir. Sakral parasempatiklerin uzantıları splenik fleksura bölgesine hipogastrik pleksuslar yoluyla çıkar (8). (Resim 5)



Resim 5:Rectum İnervasyonu: Lumbal sempatik trunk tarafından oluşturulan Süp. Hypogastrik Plexustan çıkan sağ ve sol Hypogastrik sinir Sacral Plexustan gelen(Nervi Erigentesler) ile rectum ön ve laterallerinde Pelvik(İnf. Hypogastrik) Plexus'u oluşturur.



Resim 6:Rektum plexusları: Süp. Hypogastrik plexustan çıkan hypogastrik sinir, sacral plexusla birlikte pelvik plexus oluşturmakta ve pelvik organlar inerve edilmektedir.

Rektumun innervasyonu pelvisin ürogenital organları ile paylaşılır.(Resim 6) Torakolumbar segmentlerden çıkan sempatik sinirler inferior mezenterik plexusu oluşturmak üzere inferior mezenterik arterin altında birleşir. Bu saf sempatik sinirler aortik bifurkasyonun altında lokalize süperior hypogastrik plexuslara inerler. Daha sonra hipogastrik sinir adıyla ikiye ayrılıp pelvise inerler. Rektum, mesane ve cin-

siyet organları hem erkekte hem de kadında hipogastrik sinir yoluyla sempatik innervasyon alırlar. Nervi erigentes (S2,S3,S4)“den çıkan parasempatik lifler, hipogastrik sinirle pelvik plexus’u(inferior hypogastrik plexus) oluşturmak üzere rektumun önü ve yanında birleşir. Buradan çıkan dallar, rektumu, internal anal sfinkteri, prostatı, mesaneyi ve penisi innerve eder. İnternal anal sfinkterin motor innervasyonu kontraksiyona neden olan sempatik ve kontraksiyonu inhibe eden parasempatik liflerledir. Eksternal anal sfinkter ve levator ani kası internal pudental sinirle innerve olur. Rektumun distansiyonu internal sfinkterin relaksasyonu ile sonuçlanır. Eksternal sfinkter istemli olarak kasılır (7).

2.3 Rektum ve Anal Kanal Histolojisi

Anal kanalın başlangıcı olan anorektal halka mukozası rektumun silindirik epiteli ile döşelidir. Bu epitel dentat çizginin 1 cm proksimalinde çok katlı küboid epitele değişim göstererek dentat çizgiye kadar sürer. Bu değişim bölgesi anal transizyonel zon (ATZ) olarak adlandırılır. Dentat çizgi hizasından itibaren çok katlı yassı epitel başlar. Parlak gri-pembe renkli mukozası olan bu bölge anoderm adını alır ve anokütanöz çizgide sonlanır. Burada deri ekleri yani ter ve yağ bezleri ile kıl follikülleri bulunmaz ancak duyu sinirleri vardır. Rektum anal kanala doğru huni şeklinde daraldığı için mukozası sütunlar halinde kabarıklıklar yapar. Sayıları 8-14 arasında değişen bu longitudinal sütunlara Morgagni kolonları adı verilir. Bu yapıların dentat çizgi hizasına gelen alt kısımların da oluşan kabarıklıklara anal papilla ve bunların arasında kanal çukurluklara da sinus veya kripte adı verilmektedir. Anal bezler anal kanal etrafında intersfinkterik bölgede yerleşmişlerdir ve kısa bir kanalla kripte açılırlar. Sayıları 3 ile 12 arasında olup ortalama 6 tanedir ve daha çok posteriorda yerleşmişlerdir. Görevleri tam olarak bilinmeyen anal bezlerin infeksiyonu veya gaita ile kanalının tıkanması durumunda apseye yol açarlar.

2.4 Rektum ve Anal Kanal Fizyolojisi

Anal kanalın asıl fonksiyonu defekasyonun düzenlenmesi ve kontinansın sağlanmasıdır. İstirahat halinde puborektalis kasının oluşturduğu açılanmaya ek olarak internal ve eksternal sfinkter kaslarının tonusları kanalı kapalı tutar. Kanal basıncının büyük bir kısmını internal anal sfinkter yapar. Bu kas otonom santral sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Anal kanal istemli sıkma basıncını ise eksternal anal sfinkter sağlar. Defekasyon sırasında bağırsak içeriğinin rektumda oluşturduğu distansiyon internal sfinkteri gevşetir. Buna rektoanal inhibitör refleks denir. İnternal kasın gevşemesi bir miktar bağırsak içeriğinin anal kanala girerek ATZ ile temasına olanak verir. Böylece gaz-gaita ayırımı yapılır (anal örnekleme refleksi). Bu durum sırayla eksternal sfinkter ve levator kompleksinin kasılmasına yol açarak kontinans sürdürülür. Gaz çıkarmak için ya da ortam uygun ise defekasyonun sağlanması için çömelme pozisyonu alınarak rektum ile anal kanal arasındaki açı düzleştirilir. Karın içi basınç artırılarak puborektal kas ve eksternal sfinkter gevşetilir ve defekasyon sağlanır. Daha sonra gevşemiş olan kaslar tekrar kasılarak anal kanal kapatılır.

2.5 Defekasyon Fizyolojisi

Anorektal bölgenin fizyolojisi oldukça karışıktır ve son zamanlarda yapılan detaylı araştırmalar bu bölgenin fonksiyonunu anlamaya kolaylık sağlamıştır.

Anal Kontinens

Anal kontinens için iyi bir tanımlama yapmak zordur. Ancak en kolay tanımlama tam gaz ve gaita kontrolü anlamında yapılabilir. Normal kontinens birbiri ile ilişkili birçok mekanizma ile alakalıdır. Gaita hacmi ve içeriği önemlidir, çünkü bazı hastalar zayıflamış mekanizma katı gaita için kontinentken sıvı bir gaita için inkontinent olabilir. Aynı zamanda gaitanın bir rezervuar olan rektuma geliş hızı da önemlidir. Diğer önemli faktörler sfinkterik komponent, sensor reseptörler, mekanik faktörler, ve anüsün korpus kavernosumudur.

Anal Kontinens Mekanizmaları

Gaita hacmi ve içeriği

Rezervuar fonksiyon

Sfinkter fonksiyonu

İnternal sfinkter

Eksternal sfinkter

Sensor komponentler

Ekstrinsik sensor reseptörler

İntrinsik sensor reseptörler

Nörolojik yollar

Refleksler

Mekanik faktörler

Anorektal açığı

Flutter valv mekanizması

Flap valv mekanizması

Anal kanalın korpus kavernosumu

Gaita hacmi ve yoğunluğu

Erişkinlerde gaita ağırlığı ve hacmi kişiden kişiye değişiklik gösterdiği gibi farklı coğrafik bölgelerde yaşayanlar arasında da farklılık gösterir. Gaitanın kolondan geçiş zamanı da kontinenste rol oynayabilir çünkü hızlı geçiş yeterli kolonik absorpsiyonu engeller. Gaita yoğunluğu belki de anal kontinensi belirleyen en önemli faktördür. Normal kontrolü sağlamak büyük ölçüde rektal içeriğin katı, sıvı veya gaz olmasına bağlıdır. Bazı insanlar gaz ve sıvı içeriğe inkontinent iken katı içeriğe kontinent olabilir ancak bunun tersi de söz konusu olabilir. Anal inkontinensi olan hastalarda bu faktör tedavide çok önemli yer tutabilir. Gaita kıvamının düzeltilmesi hastanın kontinent olması için yeterli olabilir.

Rektumun rezervuar fonksiyonu

Kalın barsağın distal kısmı anal kontinenste önemli bir role sahip rezervuar fonksiyonuna sahiptir. Sigmoid kolonun lateral açılanması ve Houston valvleri mekanik

bir bariyer oluşturur. Rektum ve sigmoid kolon arasında bir basınç bariyerinin var olduğu düşünülür (O'Beirne sfinkteri). Ancak böyle bir bariyerin varlığına dair kesin kanıtlar yoktur. Rektum ve sigmoid kolon arasında motor aktivite ve myoelektrik aktivite arasındaki fark gaitanın ilerlemesi için bir tür bariyer oluşturur. Rektumda motor aktivite daha fazladır. Kontraktıl dalgaların yükseklikleri de rektumda daha fazladır. Rektum ve anal kanal arasındaki açılanma rektal kapasite ve rektal genişleyebilirlik diğer önemli faktörlerdir.

Sfinkter fonksiyonu

Anal kontinensi sağlamada anal sfinkterlerin aktivitesi genel olarak en önemli faktör olarak bilinir. Anal kanal içinde sfinkterler yüksek basınç alanından sorumludurlar. Maksimum dinlenme basıncı 40 ile 80 mm Hg arasında değişir. İntrarektal basınca karşılık bir bariyer oluşturmaya çalışır. Yüksek basınç alanı pull-through kayıtlar ile tanımlanmıştır, ortalama 3.5 cm uzunluğa sahiptir ve ana olarak her iki sfinkterin devamlı tonik kasılması sonucu oluşur. Internal sfinkter dinlenme esnasında yüksek basınç alanının oluşmasında en önemli sfinkter internal sfinkterdir. Kaydedilen basıncın %52 ile % 85'ini oluşturur. Eksternal sfinkter bir şekilde paralize olsa dahi dinlenme basıncı önemli ölçüde değişmez ve bu da dinlenme basıncının büyük oranda internal sfinkter tarafından sağlandığını gösterir. Normalde internal sfinkter devamlı bir tonik kontraksiyon içindedir. Sadece rektal distansiyona bağlı olarak gevşer. İnternal sfinkterin sempatetik sinir yolları dışında parasempatetik yollarla da innerve olduğunu gösterilmiştir. Eksternal sfinkter dinlenme ve uyku halinde pelvik taban kaslarında ve eksternal sfinkterde devamlı tonik bir aktivite kaydedilmiştir. Bu açıdan eksternal sfinkter bir istisnadır çünkü diğer çizgili kaslar dinlenme esnasında elektriksel olarak sessizdir. Eksternal sfinkterde her zaman aktivite var olmasına rağmen bazal tonusu postural değişikliklere göre değişim gösterir. Örneğin eksternal sfinkter aktivitesi kişi ayakta dururken artar. Perianal stimülasyonla veya öksürme ve valsalva manevrası ile eksternal sfinkter aktivitesi artış gösterir. Rektal distansiyon da aktivite artışı ile sonuçlanır. Eksternal sfinkterin kalıcı aktivitesi ikinci sakral spinal segment ile ayarlanır. Tabes dorsalis olan hastalarda eksternal sfinkter aktivite göstermez çünkü bu spinal segment posterior kök dejenerasyonu nedeni ile hasarlanmıştır. Spinal_kordun transseksiyonu sonucu

external sfinkter tamamen paralize olur ancak tonik aktivite spinal şok döneminden sonra tekrar döner.

Eksternal sfinkter ve pelvik kaslarda aktivite her zaman olmasına rağmen bu kaslar istemli olarak daha fazla sadece 40 ile 60 saniye kasılabilir. Daha sonra elektriksel aktivite ve basınç bazal seviyeye döner.

Sensor komponentler

Ekstrinsik sensor reseptörler Gerim reseptörlerinin rektum duvarında olduğu yazılsa da kanıtlar bu reseptörlerin puborektalis ve pelvik taban kaslarında yerleşmiş olduğunu göstermektedir. Puborektalis kasının hem sensor hem de motor liflerinin olduğu saptanmıştır. Puborektalis kasının basınca duyarlı daha fazla reseptör içerdiği ve konuşma, öksürme, derin nefes alma ve rektuma dokunma gibi durumlarda puborektalis kasının aktivitesinin arttığı savunulmaktadır.

Pararektal dokular içinde yerleşmiş olan bu proprioseptif refleksler için olan reseptörler rektumun rezeksiyonu ve koloanal anastomoz sonrası normal kalır, bu nedenle hastalarda normal rektal dolun hissi olur. Ancak aşağı anastomozlardan sonra iyi fonksiyonel sonuçlar alabilmek için anatomik ilişkilerin sağlam kalması esastır ve bu yapıların pelvik sepsisle hasar görmemesi gereklidir. Bu reseptörlerin rektal duvar içerisinde olduğu gibi bunu saran pelvik taban kaslarında da mevcut olduğu düşünülmektedir.

Intrinsik sensor reseptörler rektal içeriğin karakterinin kesin olarak algılanması anal kanal içerisinde olmaktadır. Dikkatli histolojik çalışmalar anal kanal subepitelial tabakası içinde organize ve serbest sinir uçlarının çok olduğunu göstermektedir. Sensor reseptörlerin hemen her tipi mevcuttur. Bu sinir uçları asıl olarak anal kanalın distal yarısında bulunurlar. Ancak dentate çizginin 5 ila 15 mm üzerine kadar uzanabilirler. Anal kanalın dokunma, sıcaklık gibi unsurlara aşırı duyarlılığının tersine rektum gerilme dışında diğer uyarılara duyarsızdır. Bu his alanının (sensor zone) anal kontinensteği önemi halen tartışmalı bir konudur. Anal kanal lidokain ile infiltre edildiğinde kontinens üzerine etkisi olmadığı gösterildiyse de son çalışmalar anal kanalın ısı değişikliklerine olan hassasiyetinin kontinens üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Nörolojik yollar

İnternal sfinkter çift ekstrinsik innervasyonla çalışmaktadır. Bunlardan birincisi hipogastrik sinir boyunca çıkan sempatetik yoldur ve motor fonksiyonu vardır. Diğeri inhibitör bir parasempatetik yoldur. İnternal sfinktere giden sempatetik yol 5. lumbal sinir segmentinden çıkar Preganglionik sempatetik nöronlar kolinerjiktir ve prevertebral gangliondaki postganglionik nöronların hücre gövdelerinde sinaps yaparlar. Postganglionik sempatetik nöronların noradrenerjik aksonları hipogastrik (pre-sakral) pleksus boyunca seyrederek ve pelvik pleksusa kadar uzanır. Sempatetik sinirler internal sfinkter kasları üzerinde direkt bir etkiye sahiptir ve alfa ile beta adrenoreseptörleri etkiler. İnternal sfinkter ayrıca 2., 3. ve 4. sakral spinal segmentlerden çıkan preganglionik parasempatetik liflerden etkilenir. Bu preganglionik parasempatetik liflerin kolinerjik aksonları, aganglionik sfinkterik alanın proksimalinde anorektal duvar içinde yerleşmiş olan postganglionik parasempatetik nöronların hücre gövdeleri ile sinaps yaparlar. Bu nöronların aksonları internal sfinktere uzanır. Nonsfinkterik alanlarda sempatetik sinirler gastrointestinal sistem düz kasına inhibitörken parasempatetik sinirler uyarıcıdır. İnternal sfinkterde bunun tersinin olduğu düşünülür. Sempatetik sinir sistemi internal sfinkter üzerinde çift etkiye sahiptir. Bu çalışmalar alfa adrenoreseptörlerin kontraksiyonlara, beta adrenoreseptörlerin ise relaksasyona aracı olduğunu göstermektedir. İnternal sfinkterin düz kasları üzerinde eksitatör alfa adrenoreseptör popülasyonunun dominant olduğu savunulmaktadır Bu da sempatetik sinir sisteminin tüm eksitatör etkisini açıklamaktadır. Asetilkolinin etkilerini araştıran çalışmalar parasempatetik nörotransmitterlerin predominant inhibitör etkilerinin olduğunu göstermektedir. Sakral sinirlerin bilateral kaybı ile sonuçlanan majör sakral rezeksiyonlar sonrası anorektal fonksiyonlar ciddi şekilde etkilenmektedir. Birinci ve ikinci sakral sinirlerin bilateral korunması anal kanala geçen farklı özellikteki rektal içeriğin ayırt edilmesi için yeterli olmaktadır. Tek taraflı sakral sinir kayıplarında ise belirgin bir anorektal fonksiyon etkilenmesi olmamaktadır. Araştırmalarda üçüncü sakral sinirin bilateral korunması ile de normal kontinens sağlanmaktadır.

Refleksler

Klasik anal refleks perianal derinin uyarılması ile eksternal sfinkterin kasılması sonucu oluşmaktadır. Refleksin afferent ve efferent yolları pudental sinir içindedir ve

sakral 1-4 sakral segmentleri kullanır. Anal kontinensten sorumlu her iki sfinkter bu refleksten de sorumludur. Rektal distansiyon internal sfinkterde geçici bir relaksasyon sağlarken eksternal sfinkter de simultane kontraksiyona neden olur. Eksternal sfinkterin refleks cevabı aktivitede geçici bir artışa yol açar ve bu postural değişiklik veya intraabdominal basınç artışı ile başlatılabilir. İnternal sfinkterin refleks cevabı ise geçici gevşemedir ve bu rektal distansiyon veya valsalva manevrası ile stimüle edilebilir. Aynı refleks kolon içeriği rektuma girdikten hemen sonra da oluşur. Kontraksiyonun peristaltik dalgası sfinkterlere ulaşmadan önce rektal distansiyon anında sfinkter gevşer. İnternal sfinkterin geçici relaksasyonu rektal içeriğin anal kanal içindeki sensor epiteli ile temasa geçmesini sağlayarak içeriğin mevcudiyetinin ve katı, sıvı ya da gaz olduğunun anlaşılmasını sağlar. Bu örnekleme süresince eksternal sfinkterin eşzamanlı kasılması ile kontinens sağlanır. Eksternal sfinkterin istemli kontraksiyonu kontinens periyodunu uzatır ve artmış intrarektal hacim için kolondaki uyum (komplians) mekanizmalarının çalışmasına zaman tanır. Kolon yeni volümüne adapte olduğunda gerilme reseptörleri daha fazla aktive olmaz ve afferent stimulus ve aciliyet hissi kaybolur. Daha ileri distansiyon eksternal sfinkterin de inhibisyonuna neden olur. Rektal içeriği ve özelliğini tanımlama sadece bilinçli bir durum değil aynı zamanda bilinçaltı bir durumdur, çünkü uyku esnasında defekasyon engellenirken gaz rahatlıkla çıkar. Bilinçli örnekleme, istemli olarak hafifçe intraabdominal basınç artırılarak yapılır. Bu esnada eksternal anal sfinkter aktivitesi de artar. Bu yol ile katılar tutulurken gaz rahat olarak çıkar.

Mekanik faktörler

Anorektal açığı Fekal kontinensin sağlanmasında önemli bir komponent rektum ile anal kanal eksenleri arasındaki açılanmadır (anorektal açığı). Bu da puborektalis kasının devamlı tonik aktivitesine bağlıdır. Defekografide ölçüldüğü üzere, dinlenme anında anal kanal eksenini ile rektum arasındaki açı yaklaşık olarak 90 derecedir. Radyolojik çalışmalar defekasyon esnasında bu açılanmadaki değişiklikleri gösterir. Flutter valv (kanat kapakçık) mekanizması intraabdominal basıncın anorektal bileşkenin hemen üzerinde anal kanal kenarına lateralden yansımaları ile kontinensin sağlandığına dair bir görüş vardır. Anal kanal ön-arka yarık tarzında bir açıklıktır. İnteraabdominal basınçtaki herhangi bir artış flutter valvindekine benzer tarzda kompresyona neden olur. Flutter valv mekanizması tartışmalı bir konudur çünkü en

yüksek basınç anal kanalın üst kısmında değil ortasında bulunur. Bu durumda intraabdominal güçlerin infralevator seviyede etki etmesi gerekirdi. Flap valv mekanizması Teoriye göre, intraabdominal basınçtaki herhangi bir artış anorektal açığa yansımakta ve anterior rektal duvarın sıkıca anal kanal üzerine serilmesini sağlamaktadır. Bu da bir oklüzyona ya da flap valv (sibop) etkisine neden olur. Defekasyon için flap valf mekanizması kırılmalıdır. Bu kırılma puborektalis kasının uzaması, pelvik tabanın alçalması ve açının silinmesi ile olur. Flap valv mekanizması çok sorgulanmıştır. Eğer flap valv mekanizması intraabdominal basınç arttığında kontinensi sağlıyorsa, anal kanaldaki basıncın düşük olması gerekirdi oysa yapılan çalışmalarda anal kanal basıncı intraabdominal basıncın arttığı her zaman intrarektal basınçtan yüksek bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında anal kontinens flap valvden ziyade eksternal sfinkterin refleks kontraksiyonu ile sağlanmaktadır. Çok yoğun bir fibroelastik stroma, anal kanalın nutrisyonel gereksiniminin çok ötesinde olan zengin bir venöz ağ yapısını sarmakta ve desteklemektedir. Dentate çizgi üzerinde anal kanalın sol lateral, sağ anterolateral ve sağ posterolateral kadranlarında daha da büyük hacme ulaşırlar ve doğumdan itibaren mevcut olan hemoroidal yastıkcıkları (hemoroidal cushions) oluştururlar. Bu vasküler yastıkcıklar fizyolojik olarak genişleme ve kontraksiyon özelliğine sahiptirler. Bu teoriyi destekleyen görüşe bağlı olarak hemoroidektomi yapılan hastalarda korpus kavernosumun hasar görmesi nedeni ile fekal kontinensde değişiklikler ortaya çıkmaktadır.

Defekasyon

Defekasyonu başlatan stimulus rektumdaki distansiyondur. Fekal materyal sigmoid kolon ve inen kolonda bulunduğu sürece rektum boş kalacak ve hasta defekasyon için aciliyet hissi yaşamayacaktır. Bu rezervuar tipinde kontinens sfinkter fonksiyonlarına bağımlı değildir. Sol kolonun distansiyonu peristaltik dalgaları başlatır. Bu da fekal kitlenin rektuma ilerletilmesini sağlar. Normal olarak bu durum günde bir ya da çok kez gerçekleşebilir. Hareketin zamanlaması çevresel faktörler arasındaki dengeye bağlıdır çünkü acil defekasyon hissi anorektumun basit reflekslerinin korteksin kompleks inhibisyonu ile baskılanır. Rektal distansiyon internal sfinkterin gevşemesini uyarır aynı zamanda da eksternal sfinkterin kasılmasını tetikler. Böylece sfinkter aracılıklı kontinens sağlanır. Materyalin rektuma girişine olan cevaplar Anorektumdaki dinamik değişiklikler iki uyarana karşı gelişir.

1-İntraabdominal basınçtaki değişiklikler

2-Materyalin kolondan rektuma geçişi

Kolonik transit fiziksel aktivitenin artırılması ve yemek yenilmesi ile artar. Materyalin rektuma geçişini bildiren afferent sinir uyarıları bilinçaltı bir seviyede de çalışır. Bu çerçevede akkomodasyon ve örnekleme cevapları refleks olarak gerçekleşir.

Akkomodasyon (uyum) cevabı;

Akkomodasyon cevabı rektal ampullanın fekal kitleye uyum sağlamak için gösterdiği reseptiv tipte relaksasyondur. Rektal balon ile yapılan çalışmalar balonun yaklaşık olarak 10 ml şişirildikten sonra eksternal anal sfinkterin geçici olarak elektromyografik aktivitesinde artış gösterdiği, buna karşın internal sfinkterin basınç aktivitesinde düşüş gösterdiği yönündedir. Balonun geçici şişirilmesinde rektal ampullada 1-2 dakika basınç artışı görüldükten sonra geri şişirilme öncesine döndüğü görülmüştür.

Örnekleme cevabı;

Örnekleme cevabında, internal sfinkterin üst kısmında geçici relaksasyon sayesinde rektal içerik, natürünün anlaşılabilmesi için anal kanal içindeki sensor epitel ile temas geçer. Bu sayede örneğin gaz içerik dışarı çıkarken katı içerik rektum içinde tutulur.

Defekasyonun başlaması

Defekasyonu başlatma metodu kişiden kişiye değişiklik göstermektedir. Aciliyet hissi kaybolduysa defekasyondan önce istemli olarak ıkınma ile intraabdominal basınç artışı gerekli olacaktır. Bir kez defekasyon başladıktan sonra hareket iki yoldan birini seyredecektir. Bunlar:

- 1- Distal kolonun peristaltizmi ile içeriğin rektuma devamlı bir şekilde itilmesi.
- 2- Defalarca ıkınarak gaita parçalarının dışarı atılması.

Bu yollar arasındaki tercih genelde kişinin alışkanlığına ve gaitanın içeriğine bağlıdır.

2.6 Rektum Kanseri

İnsidans

Kolorektal kanser en sık görülen 3. kanser türüdür. Dünyada her yıl 1 milyondan fazla kişiye kolorektal kanser tanısı konulmakta ve bunların %50'sinden fazlasında hastalık, metastaz ile seyretmektedir (1). Kolorektal kanser Avrupa'da 2. sıklıkta görülen kanser türüdür (%13.2). Avrupa'da yılda 212,000 kişi kolorektal kanser sebebiyle hayatını kaybetmektedir (1). Kolorektal kanserlerin yaklaşık 1/3'ü rektum kanseridir. Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 41,000 kişi rektum kanseri tanısı almaktadır. Sağlık Bakanlığı'nın 2006 yılında yayınladığı kanser istatistiklerine göre ülkemizde rektum kanseri insidansı tüm kanserler arasında erkeklerde 8. ve kadınlarda 10. sıradadır.

Klinik Belirtiler

Semptomatik olan hastaların çoğunda dışkılama alışkanlıklarında değişiklik, hematokezya, rektal dolgunluk hissi veya karın ağrısı vardır (12-13). Karın ağrısının nedeni kısmi tıkanma ya da peritona yayılım olabilir. Rektum kanserinin pelvik taban kaslarını tutarak tenesmusu yol açabileceği unutulmamalıdır. Ender olarak lokal ileri rektum kanserleri siyatik siniri ya da obturatuvar siniri tutarak nöropatik ağrı sendromuna neden olabilirler (14). Dışkılama sırasında ağrı distal rektum kanserlerinde görülebilen bir belirtidir. Şiddetli anal ağrı olan olgularda rektum tümörü anal sfinkterleri invaze etmiş olabilir ve çok duyarlı olan anal mukoza ağrıya yol açabilir. Diğer olası semptomlar arasında abdominal distansiyon, bulantı, kusma, kilo kaybı ve düşünlük sayılabilir. Hastaların önemli bir kısmının asemptomatik olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Kolorektal kanser tanısı konan hastaların yaklaşık %20'si tanı anında uzak metastaz yapmış durumdadır (12).

Yayılım

Rektum kanserleri, lenfatik, hematojen, komşuluk ve transperitoneal yollarla yayılır. En sık görülen metastaz bölgeleri, bölgesel lenf nodları, karaciğer, akciğer ve peritondur. Metastatik hastalarda belirti ve bulgular metastaz alanına göre değişir.

Prognoz

Rektum kanserlerinin kolorektal kanserler arasında her evrede sağ kalımın en olumsuz olduğu tümörler(15) olduğu bilgisi, günümüzde rektum kanseri lehine değişmektedir. Cerrahi tekniğin optimizasyonu ve neoadjuvan tedavi yaklaşımı son yıllarda rektum kanserlerinde 5 yıllık sağ kalım sürelerinin kolon kanserinden daha iyi olmasına yol açmış görünmektedir. Rektum kanserinin birincil tedavisi cerrahidir. Küratif cerrahi sonrası 5 yıllık sağ kalım evre I, II ve III için sırasıyla yaklaşık % 80-90, %50-60 ve %30-40'dır (16-17). Distal rektum kanserleri rektum kanserleri arasında en kötü prognoza sahiptir.

Tanı

Tanı genellikle rektal tuşe ve rektosigmoidoskopi ile konur. Rektum kanserlerinin büyük çoğunluğu mukozadan köken alan endoluminal adenokarsinomlardır. Rektosigmoidoskopi ve fleksible sigmoidoskopi semptomatik hastalarda biyopsi olanağı sunan en iyi tanı yöntemidir. Kolonoskopi senkron lezyonların saptanması için hemen her hastada önerilir.

Ayırıcı Tanı

Rektum kanserinin belirti ve bulguları diğer maligniteler ve hemoroid, divertiküler hastalık, infeksiyon ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi benign hastalıklarla karışabilir.

Patoloji

Histolojik olarak büyük çoğunluğu adenokarsinomdur. Küçük bir kısmı (yaklaşık %15'i) müsinöz karsinomdur. Müsinöz karsinomlarla daha ileri evre tümörler olarak karşılaşılır ve neoadjuvan tedaviye yanıt daha kötüdür. Taşlı yüzük hücreli karsinomların oranı yaklaşık %1'dir ve çok agresif tümörlerdir. Distal rektum kanserlerinin bir kısmı adenoskuamöz karsinomlardır. Kötü prognozlu histolojik tiplerden biri de yoğun nöroendokrin diferensiasyon gösteren küçük hücreli karsinomlardır.

Prognostik Faktörler

Rektum kanserinde cerrahi tedaviden sonra prognozu belirleyen en önemli faktör, tümörün evresidir. Prognozu etkileyen parametreler arasında tümörün lokal uzanımı özellikle önemlidir. Serozayı invaze eden T4 tümörlerin prognozu daha kötüdür. Bölgesel lenf nodlarının metastatik olması da kötü prognostik faktördür; adjuvan tedavi endikasyonudur. Bölgesel lenf nodu metastazı insidansı tümörün transmural invazyon derinliği ve grade'i ile ilişkilidir. Metastatik lenf nodu sayısında prognozla ilişkili bulunmuştur. Rezidü tümör kalması (R1 mikroskobik, R2 makroskobik) ya da çevresel rezeksiyon sınırı (ÇRS)'nın pozitif (≤ 1 mm) olması kötü prognostik faktördür.

Subjektif biçimde belirlenmesine rağmen yüksek grade'li (%50 oranında gland formasyonu) tümörlerde prognoz daha kötüdür.

Tanımlar

Erken rektum kanseri

Rektum kanserinde tümör yaygınlığına ve cerrahi olarak tümörün tamamen çıkarılıp çıkarılamayacağına göre çeşitli tanımlamalar kullanılmaktadır. Erken rektum kanseri terminolojisi T1 tümörler için kullanılır; rektum duvarında submukozaya uzanan ancak submukozayı aşmamış tümörlere erken rektum kanserleri denir.

Lokal ileri rektum kanseri

Rektum kanserinde anrezektabilite ("unresectable") kriterleri değişkendir ve maa-lesef tam olarak açıklığa kavuşturulmamış bir konudur. Cerrah, radyolog, radyasyon onkoloğu, medikal onkolog, ve gastroenterologtan oluşan multidisipliner ekip yaklaşımıyla, lokal ileri rektum kanseri (LİRK), tümörün lokal alana adezyonu veya diğer organlara fiksasyonu nedeniyle geride mikroskobik veya gros (makroskobik) hastalık bırakmadan rezeke edilememesi olasılığı olan durum olarak tanımlanır.

Tümör belirtileri

Rektum kanserli hastalarda CEA (tanı anında hastaların yaklaşık %70'inde yüksek) ve CA 19-9 yükselebilir ancak, bunların tanı ya da tarama testi olarak kullanılması önerilmez.

2.7 Cerrahi Tedavi Seçenekleri

Rezeksiyon Prensipleri

Primer tümörün, onun çevresindeki lenfatik yatağın (mezorektum) ve yayıldığı komşu organların (üreter, mesane, prostat, vagina) çıkarılması gerekir. Kolon kanserinden bir farkı radyoterapinin uygulanabilmesidir.

Lokal tedavi (Transanal)

Rektumun son 10 cm lik kısmına transanal olarak yaklaşılabilir. Transanal eksizyon özellikle rektumu çepre çevre sarmayan villöz adenomlarda mükemmeldir, bunlar endoskopik olarak çıkarılmaları güçtür. Bazı T1 ve T2 tümörlerde de lokal eksizyon yapılır ancak lokal nüksü yüksektir ve kemoradyoterapiyle kombine edilmiştir, bu işlemde tabiki lenf nodları çıkarılamaz. Transanal endoskopik mikrocerrahi (TEM), laparoskopik cerrahideki ya da buna benzer aletler ve yöntemlerle uygulanır. 15. cm' ye kadar ulaşılabilir.

Radikal rezeksiyon

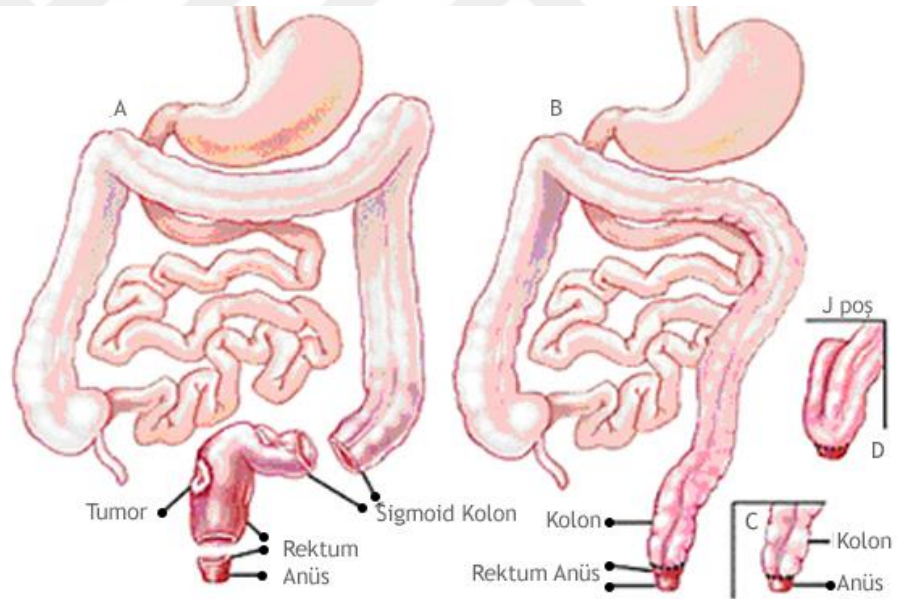
Çoğu rektum kanserinde uygulanan yöntemdir. İlgili rektum ve çevresindeki lenf nodlarını içeren mezorektum çıkarılır. Buna total mezorektal eksizyon denir (TME). Rektum mezosunun ön, arka ve yan sınırlarındaki anatomik fasyalardan ilenlenerek yapılır. Bu sayede tümörün tam çıkarılması ve da iyi sürvi, daha az nüks, daha az kanama ve daha az sinir yaralanması sağlanır. Rektum anatomisi ve tümörün rektumdaki lokalizasyonu cerrahi tedavi seçiminde önemli rol oynar. Rektum tümörünün yerleşimine göre rezeksiyonun genişliği ve anastomozun düzeyi değişir.

Anterior rezeksiyon terimi rektum rezeksiyonundan sonra anastomoz yapılan kısmın peritoneal refleksiyonun üzerinde kaldığı ameliyatlar için kullanılır.

Aşağı anterior rezeksiyon (low anterior rezeksiyon) ise rektum rezeksiyonundan sonra anastomoz düzeyinin peritoneal refleksiyonun altında kaldığı ameliyatları tanımlar.(resim 7) .

Genişletilmiş Aşağı Anterior Rezeksiyon (Ultra Low Anterior Resection) Distal rektum tümörlerinde uygulanır. Kadında rektovaginal septum, erkekte prostat ve seminal veziküllerin de altına kadar yani, levatör ani kasına kadar inilir. Koloanal anastomoz yapılır. Anastomoz kaçığı riski yüksektir bu yüzden koruyucu ileostomi düşünülmelidir.

Intersfinkterik rezeksiyonda ise transanal yaklaşımla el ile anastomoz yapılabilir ve yeterli distal sınır sağlayabilmek için internal sfinkter parsiyel veya total olarak çıkarılır.

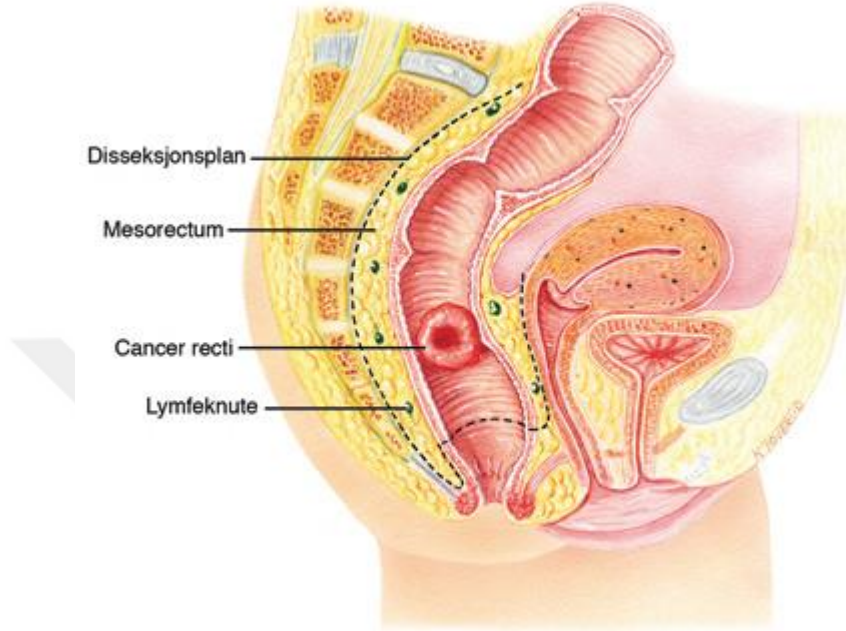


Resim 7:Low Anterior Rezeksiyon sınırları ve anastomoz teknikleri

Anterior ya da aşağı anterior rezeksiyonlar sigmoid ve rektum tümörlerinin transabdominal yoldan çıkarılmasını tanımlayan ameliyatlardır.

Alt rektum kanserleri için bir seçenek olan abdominoperineal rezeksiyon (APR) ameliyatında ise anusün çıkarıldığı bir perine fazi söz konusudur.

Rektum kanserlerinde AAR'un onkolojik ilkeleri, total mezorektal eksizyon tekniği ile belirlenmiştir(Resim 8)



Resim 8:Mezorektum Diseksiyon Planı

Cerrahinin primer amacı primer tümörün bölgesel lenf nodlarını da içerecek biçimde tam olarak çıkarılmasıdır. Cerrahi spesmenin en az 12 lenf nodu içermesi gerekir (18-19). Barsak devamlılığının sağlanması her hasta için arzu edilen bir durumdur ancak, rektum kanserinde primer amaç onkolojik ilkelere uygun davranmaktır. Sfinkter koruyucu cerrahi ikincil amaç olabilir. Distal ve radikal rezeksiyon sınırları cerrahi başarı için yaşamsal önem taşır. Rektum kanseri en çok lenfatikler aracılığı ile yukarı doğru yayılır. Peritoneal refleksiyonun aşağısında yer alan rektum kanserleri intramural ve ektramural lenfovasküler yollar ile distale doğru da yayılırlar. Yapılan çalışmalarda distal sınırın 1 cm kadar kısa olduğu olgularda lokal nüksün artmadığı gösterildi (20-21). Günümüzde rektum kanseri cerrahisinde temiz distal sınır için tümörün 2 cm altına inilerek rezeksiyon yapılması yeterli kabul edilir. Distal intramural yayılım, tümör kötü diferansiye ya da yaygın metastatik değilse tümörün 2 cm distali ile sınırlı olmaktadır (22) . Sonuç olarak, günümüzde 2 cm distal

sınır kabul edilebilir bir mesafedir. Asıl önemli olan radial (çevresel rezeksiyon sınırı) sınırdır.

2.8 Anterior rezeksiyon sendromu (ARS)

Rektum kanseri cerrahisi sonrası artan dışkılama sıklığı, dışkılama formunda değişiklik, acil dışkılama ihtiyacı ile fekal inkontinensin görülmesi ve üriner ve cinsel işlev bozuklukları ile karakterizedir. (23) Özellikle fekal inkontinens, hayat kalitesini anlamlı oranda düşürmektedir. (24) Fekal inkontinens rektal rezervuar kapasitede azalma, sfinkter ve otonomik sinir hasarı ile ilişkilidir.(25) Bu değişiklikler rektum kanseri sebebi ile total mezorektal eksizyon ile aşağı anterior rezeksiyon yapılan hastaların %10-20'nde görülebilmektedir. ARS tedavisinde dünya literatüründe medikal tedaviden dışkıyı saptırıcı stoma açılmasına kadar değişen pekçok tedavi yöntemi tartışılmaktadır.

2.9 Kök hücre

Kök hücreler, uygun biyokimyasal sinyallerin varlığında farklı hücre tiplerine dönüşebilme özelliğine sahip hücrelerdir. Tip 1 diyabet hastalığı, Parkinson hastalığı, Alzheimer, Multipl skleroz gibi birçok hastalığın tedavisini sağlamak amacıyla araştırmacılar; hasar gören hücre, doku veya organların biyolojik işlevlerini yerine koymayı ya da tamir etmeyi sağlayacak yöntemler üzerinde çalışmışlardır. Bir hedef doku veya organa, o organın işlevlerini eski haline getirmeye yetecek kadar sayıda ve kalitede izole edilmiş ve özellikleri belirlenmiş olan hücrelerin nakledilmesiyle bu amaca ulaşılabilir. Kök hücreler, bu amaca hizmet edebilecek yani hücre tabanlı tedavide kullanılacak başlıca unsur olarak görünmektedir (26). 1983 yılında allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrası komplikasyon olarak, yaygın akciğer ossifikasyonlarına bağlı olarak solunum yetmezliği tespit edilmiştir. Bu olayın üzerine ilk kez Sale tarafından, in vivo plastisite kavramı tanımlanmıştır (27). Sonraki yıllarda, başta kemik iliğinde bulunan kök hücrelerin in vitro ve in vivo koşullarda yalnızca kaynaklandıkları doku ve organların hücrelerini değil vücudun

diğer işlevsel hücrelerine de dönüşebildiklerini (plastisite) gösteren birçok rapor yayınlanmıştır. Diğer erişkin kök hücre kaynaklarına oranla daha kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle kemik iliği kaynaklı kök hücreleri (KİKKH) öncelikli olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilen kök hücreler, tıpta oldukça önemli kaynak olmuşlardır (26). Farklı sınıflamalar olmakla birlikte kök hücreler buldukları dokuya göre embriyonik kök hücreler ve erişkin kök hücreler olmak üzere iki genel gruba ayrılabilir. Farklılaşma potansiyellerine göre kök hücreler totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent kök hücreler olarak sınıflandırılırlar (26). Totipotent hücre; döllenme meydana geldiğinde oluşan hücre (zigot) tek başına tüm organizmayı meydana getirebilecek genetik bilgiye ve güce sahiptir. Pluripotent hücre vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip olmalarına rağmen, artık tek başlarına tüm organizmayı oluşturacak güce sahip değildir (26). Multipotent hücre, birbirine yakın hücre gruplarını oluşturabilen kök hücrelerdir. Kan kök hücreleri, kemik iliğinde bulunur ve gerektiğinde beyaz kan hücrelerine, kırmızı kan hücrelerine ve trombositlere dönüşebilir. Oligopotent hücre, lenfoid ve myeloid hücrelerde olduğu üzere sadece birkaç hücre grubunu oluşturan kök hücrelerdir. Unipotent hücre, kas ana hücresinde olduğu üzere bir hücre tipini oluşturan kök hücrelerdir (28). Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Bunun en iyi örneği döllenmiş yumurta hücresi ya da zigottan itibaren görülebilmektedir. Bu totipotent hücreler sınırsız farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Embriyonel kök hücreler yüksek seviyede telomeraz aktivitesi içerirler. Hücre replikasyonu ile aktivasyonda azalma gözlenmez, bu nedenle sınırsız proliferasyon kapasitesine sahiptirler. Embriyonel kök hücreler tüm somatik dokuları oluşturabildiği halde, tam yeni kişiyi oluşturması mümkün değildir (29-31). Erişkin bir kök hücresi, bir doku veya organdaki farklılaşmış hücreler arasında bulunan farklılaşmamış hücre olup, bu hücre kendisini yenileyebilir ve içinde bulunduğu doku veya organın özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilir. Erişkin kök hücrelerinin yaşayan organizmadaki esas görevleri, buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır. Bazı bilim adamları, erişkin kök hücresi yerine artık “somatik kök hücresi” terimini kullanmaktadır (32). Erişkin kök hücreler totipotent değil pluripotenttir. Bu hücrelerin geniş bir farklılaşma kapasitesi olsa da embriyonik kök hücreler kadar değildir (33). Erişkin kök hücreleri kendilerini yenileme özelliklerine sahiptirler ve ihtiyaç halinde farklılaşma göstererek doku ve

organların tamirini, yenilenmelerini ve yaşamlarını devam ettirmelerini sağlamaktadırlar. Son yıllarda araştırılan birçok dokuda bu kök hücreler bulunmaktadır. Erişkin kök hücreler ile ilgili ilk çalışmalar hematopoetik kök hücreler ile yapılmıştır (34). Friedenstein 1976'da ilk kez mezenkimal kök hücrelerin (MKH) kendini yenileyebildiğini, değişik bağ doku elemanlarına farklılaşabileceğini ve fibroblastlara benzer yapıları olduğunu göstermiştir (35). Ashton ve arkadaşları, 1980'de tavşan kemik iliği stromal hücrelerini izole edip başka hayvanların periton içine implante ederek kemik ve kartilaj oluşumunu göstermişlerdir (32). Erişkin kök hücreler kemik iliğinde, periferik kanda, kan damarlarında, iskelet kasında, diş dokusunda, miyokardium içinde, karaciğerde, gastrointestinal sistemde, over epitelinde, testislerde, akciğerlerde, meme dokusunda, adipoz dokuda, deride, beyinde, medulla spinaliste, tükürük bezlerinde ve paratiroid bezlerde gösterilmiştir. Erişkin kök hücreler dokular içinde uykuda beklemekte ve ihtiyaç sinyalini aldıktan sonra etkinleşerek bölünmektedirler(32). Kan hücrelerine köken olan hematopoetik kök hücrelerinin farklı embriyonik kökenli (ektoderm ve endoderm) hücrelere kaynaklı olabileceğinin ortaya çıkmasıyla, erişkin kök hücrelerine yönelik araştırmalar hızlanmıştır. Kök hücrelerin kullanımında iki önemli özellik dikkate alınmaktadır:

- 1) Hücrelerin yüksek sayıda ve kolay elde edilebilmesi,
- 2) Uygun in vitro ve in vivo şartlarda istenilen hücre ve doku yapısına kolayca ve yüksek oranda dönüşebilmeleri.

Adipoz doku kökenli kök hücreler (ADKKH) lipoaspirasyon sonrasında veya abdominal cilt altı yolla alınmış yağ dokusunun mekanik ve enzimatik yollar ile ayrıştırılması ile elde edilen ve in vitro şartlarda farklanmadan büyüme özelliğine sahip hücrelerdir. İnsanda ilk kez 2001 yılında Zuk ve arkadaşları (36) tarafından ayrıştırılarak tanımlanan ADKKH, diğer yetişkin kök hücre kaynaklarıyla karşılaştırıldığında düşük verici morbiditesi ve yüksek oranda elde edilebilme özellikleri nedeniyle kök hücre uygulamaları için uygun hücre kaynağı olarak görülmektedir. Günümüze kadar farklı gruplar tarafından gerçekleştirilen birçok çalışmada bu hücrelerin in vitro gelişimleri ve farklı hücre ve dokulara dönüşümleri incelenmiş, uygun şartlarda ADKKH'in mezoderm kaynaklı kemik, sinir, kıkırdak, kas, fibroblast ve endotel hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir (36-38).

2.9.1. Mezenkimal kök hücreler

Mezenkimal kök hücreler (MKH), erişkin kök hücre tipidir. Stromal kökenli olmaları nedeniyle genel anlamda “destek hücresi” özelliği taşımaları, MKH’lerin tıbbın birçok alanında kullanım potansiyeli taşımasının temelini oluşturmaktadır. Birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli dayanıklı hücrelerdir. Salgıladıkları çözünür faktörler, hücreler arası veya hücre dışı matriks ile yakın ilişki halinde bulunmaları nedeniyle içinde buldukları dokuya özel hücrelerin fonksiyonlarına önemli katkı sağlarlar (39). MKH’ler pek çok hücre tipine farklılaşma yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir. Yağ, kemik, kıkırdak, kas, tendon hücrelerine farklılaşabilirler (40). Kemik iliği hücreleri kültür kaplarında kültüre edildikleri zaman hızla plastik kültür kabına yapışan hücrelerin kemik iliği stromal hücreleri olduğu, yapışmayan hücrelerin ise hematopoetik hücreler olduğu 1960’lı yıllardan beri bilinmektedir. Son yıllarda ise, stromal hücre sistemine duyulan ilgi giderek artmaktadır. Önceleri, kemik iliği kökenli stromal hücreler, özellikle de MKH’ler, hematopoezi indüklemek amacıyla kullanıma girerken daha sonraları in vivo ve in vitro çalışmalarla aralarında kas, kıkırdak, kemik, sinir, karaciğer, kalp, beyin, adipoz doku, böbrek, akciğer ve bağırsakların da olduğu çeşitli hematopoetik olmayan dokuların parankim hücrelerine farklılaştıkları gösterilmiştir (41-43). MKH’lerin başta hücreyel tedaviler, doku mühendisliği, bağışıklık baskılayıcı tedaviler ve gen tedavileri olmak üzere birçok alanda klinik kullanım potansiyeli olması bu hücrelere olan ilgiyi giderek arttırmaktadır (44). MKH’lerin kardiyak rejenerasyonda iskemik kalp hastalarında ventriküler yeniden düzenlenme ve diyastolik fonksiyonların yeniden düzenlenmesi gibi olumlu etkileri oluşturabileceği rapor edilmektedir (45). Bu olaylardan sorumlu olan moleküler mekanizmalar ise; apoptozis direncinde artış, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) salgılanmasında artış, hücreyel düzeyde kan akımında artış ve mikrovasküler yapıda artış şeklinde özetlenmektedir (45-47). Organizmanın en zengin kök hücre kaynaklarından biri olan kemik iliği, MKH’ler için de ana kaynak sayılmaktadır. Kemik iliğinde, mezodermden köken alan hematopoetik, endotel ve mezenkimal kök hücreler bulunmaktadır. Kemik iliği dışında birçok dokudan da MKH izole edilebilmektedir. Kemik/periost, kas dokusu, diş pulpası ve maksillofasial dokular, karaciğer, lipoaspirasyon materyalleri, kordon kanı, kordon stroması, plasenta, amniyon sıvısı, sino-

vial sıvı, hatta periferik kandan da adezyon özellikleri nedeniyle ayrıştırılarak çoğaltılabilmeleri mümkündür (48,49). Mezenkimal kök hücreler, kemik iliği de dâhil olmak üzere dokularda çok az sayıda bulunmaktadır. Ayrıca yapışma özelliklerine bağlı olarak buldukları dokulardan yeterli sayıda elde edilmelerinde zorluklar vardır. Gerek klinik uygulama, gerekse temel bilim araştırmalarında yeterli hücre sayılarına ulaşabilmek için in vitro ortamda çoğaltılmaları gerekmektedir. Bu hücrelerin in vitro çoğaltılmaya elverişli, dayanıklı hücreler oldukları, kültürde çoğalma ve farklılaşma yeteneklerini korudukları bilinmektedir. Kültür ortamında çoğaltılan MKH'ler ışık veya faz kontrast mikroskopu ile incelendiğinde hücrelerin iğ şeklinde olduğu ve fibroblast benzeri hücre toplulukları oluşturdukları dikkati çekmektedir. Hücreler, düşük konsantrasyonlarda kültür edildiğinde 16 koloni oluşturmaya meyil ederken, daha yüksek hücre yoğunluğunda ise koloni oluşturmak yerine yan yana dizilmiş hücre grupları halinde çoğaldıkları gözlenmektedir (40).

2.9.2.Stromal Vascüler Fraksiyon

2002'de Patricia Zuk ve arkadaşları yağ dokusunun tıpkı kemik iliğindeki gibi farklı hücrelere farklılaşabilme kabiliyeti olan oldukça yoğun miktarda kök hücre barındırdığını ve bunların kemik iliği orjinli kök hücrelerle CD yüzey antijenleri ve gen ekspresyonlarındaki farklılık dışında benzer özelliklere sahip olduklarını tespit ettiler(50). Zuk ve arkadaşları aynı çalışmada immunofloresan ve flow-sitometri çalışmaları ile yağ dokusu kaynaklı kök hücrelerin mezodermal veya mezenkimal orjinli olduğunu, düşük miktarda perisit, endotelial hücreler ve düz kas hücreleri ile birlikte bulunduğunu gösterdiler. Ailhaud 1992'de yağ aspirasyonu ile elde ettiği yağ süspansiyonunu santrifüje ettikten sonra en alt tabakada çöken hücre topluluğuna 'stromal vasküler fraksiyon' (SVF) adını vermiş bu hücrelerin öncü yağ hücrelerinden oluştuğunu göstermiş ayrıca bu fraksiyonun kök hücre içerebileceği öngörüşünde de bulunmuştur(51) SVF sadece içerdiği kök hücre yönüyle değil çeşitli büyüme faktör, sentezleme yeteneği olan preadiposit, adipoblast ve endotelial hücreler açısından da oldukça önemlidir.

Geçmişte endotelial öncü hücrelerin intravenöz infüzyonu ile iskemik dokularda neovaskülerizasyon sağlanmıştır (52), ancak lokal enjeksiyonun intravenöz infüz-

Yona göre bazı avantajları vardır. Birincisi; hedef dokudaki endotelial öncü hücrelerin lokal dansitesini artırabiliriz, ikincisi ise hücrelerin sistemik yan etkilerinden (anjiojenik hastalıklardan diabetes mellitus, romatoid artrit hatta kanser gibi hastalıkların ortaya çıkmasını kolaylaştırıcı etkilerinden) korunmuş oluruz. Biz de çalışmamızda lokal enjeksiyon yöntemini kullandık. Bunun yanı sıra Jalees Rehman ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada insan cilt altı yağ dokusundan izole ettikleri her 106 stromal hücrenin 1203 ± 254 pg vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF), 280 ± 2944 pg Hepatosit büyüme faktörü ve 1247 ± 346 pg trasforming büyüme faktörü beta sentezlediğini ve VEGF sentezinin iskemik koşullarda 5 kat arttığını göstermişlerdir(53). Son olarak Jalees Rehman ve arkadaşları yaptıkları kapsamlı bir çalışmada yağ dokusundan elde ettikleri SVF’da granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör(GM-CSF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), hepatosit büyüme faktör, (HGF), basic fibroblast büyüme faktör, (bFGF), ve transforming growth factor-beta (TGF- β) gibi anjiogenik ve antiapoptotik faktör salgılama potansiyeli olduğunu göstermişlerdir (37). Patricia A. Zuk ve arkadaşları yaptıkları bir çalışma ile stromal vasküler fraksiyonun aynı zamanda, tıpkı kemik iliği gibi mezenkimal kökenli olduğu ve iyi bir multipotent kök hücre kaynağı da olduğunu göstermişlerdir(38)

2.9.3. Kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları

Kök hücreler son yıllarda tüm tıp dünyasının en çok üzerinde durduğu ve her yıl yüzlerce yeni çalışmanın yapıldığı bir konu haline gelmiştir. Kemik iliği kaynaklı MKH’lerin, de novo miyokard oluşturduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda miyokard enfarktüsü ve koroner arter hastalıklarında intrakoronar kök hücre infüzyonunun, kalp kası rejenerasyonunda oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (54,55). Bundan başka oftalmolojide de araştırmacılar hasar görmüş göze başarılı bir şekilde korneal kök hücre transplante ederek görme kabiliyetini restore etmişlerdir (56). Aynı hücrelerin başka uyarılarla nöral hücre serisine de dönüşebildikleri gözlenmiş ve ALS gibi hastalıklarda spinal kordaki 17 hasarlı bölgeye verilen kök hücrelerin ablatif sinir hücrelerini rejenere ettiği ve sonuçta lökomotor fonksiyonun geri döndüğü gösterilmiştir (57). Yine en önemli metabolik hastalıklardan tip 1 diyabet

hastalığında pankreasta insülin salgılayan beta hücrelerindeki hasar mekanizmasının moleküler düzeyde anlaşılması ile ilgili yüz güldürücü çalışmalar yapılmıştır (58). Kök hücrelerin daha önce terapötik anjiyogenez yapıcı etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olup (59-62) flep cerrahisinde kullanımına ait ilk çalışma ise Ichioka ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (63). Sıçanlarda yaptıkları bu çalışmada, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin dorsal cilt fleplerindeki damarlanma üzerine etkisi araştırılmış ve kapiller dansitede iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde belirgin artış tespit etmişlerdir. Mezenkimal hücrelerin vasküler endotelial hücrelere farklılaşma yetenekleri olduğu bilinmektedir. Zheng ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, VEGF ve mezenkimal kök hücrelerin birlikte iskemik fleplerde neovaskularizasyonu arttırdığı gösterilmiştir (64). Uysal Ç. ve ark. yaptığı çalışmada ise sıçan dorsal cilt fleplerinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarının ADKKH uygulanması ve bir takım büyüme faktörlerinin regüle edilmesi sonucu iskemi reperfüzyon hasarının önlenebileceği gösterilmiştir (65). Diğer kök hücre tiplerine benzer şekilde, ADSC'lerin nöronal ve glial hücrelere diferansiyasyon potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir ve bazı sinir büyüme faktörlerinin salgılanması ile nöronal iyileşmeyi teşvik edebilmektedir.

2.9.4. Kök hücre kaynağı olarak adipoz doku

Bugüne kadar mezenkimal kök hücre kaynağı olarak çoğunlukla kemik iliği kullanılmış ancak son çalışmalara bakıldığında yeni kaynaklar tanımlanmıştır. Zuk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada adipoz dokunun mezenkimal hücrelerden oldukça zengin olduğu gösterilmiştir (44). Adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin kemik iliğinden elde edilen kök hücrelere göre izolasyonlarının daha az acı verici olmaları, lipoaspirasyon yöntemi ile kolayca elde edilebilmeleri nedeniyle adipoz dokunun plastik cerrahide son yıllarda kök hücre kaynağı olarak kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Poznanski ve ark. yaptıkları çalışmada yağ dokusunun kök hücre bakımından oldukça zengin bir doku olduğunu göstermişlerdir (66). Ayrıca adipoz doku santimetre küp başına kemik iliğine göre 100 ila 1000 kat daha fazla pluripotent hücre içermektedir (67,68). Yağ dokusu da kemik iliği gibi embriyonik mezodermden oluşur ve bir stroma içerir. Lipoaspirata kısa süreli kollajenaz muamelesi ve santrifüj uygulaması sonrası elde edilen ürüne "processed lipoaspirate=işlenmiş lipoaspirat" (PLA) denilir. PLA'lar uygun uyaranlar ile osteojenik, adipojenik,

myojenik ve kondrojenik hücelere farklılaşır (41) ve o diziye özel gen ve proteinleri içerir, bu da kök hücre fenotipini teyit eder. Bu nedenle bu doku mezodermal doku tamirinde kullanılabilir. Aspiratla elde edilen PLA fraksiyonu fibroblastik, endotelyal hücreler, makrofaj ve düz kas hücreleri gibi heterojen bir gurubu içerir, seri pasajlarla MKH'lere benzeyen homojen fibroblastik bir popülasyon kalır. Uzun süreli kültürlerle PLA'ların büyüme kinetikleri ve farklılaşma kapasiteleri değişmez. Adipoz doku adipositlerden oluşmuş olan gevşek bağ dokusudur. Adipoz doku lipoblastlardan oluşur ve asıl rolü yağ formunda enerji depolamaktır. Ayrıca vücudun destek ve izolasyonunu sağlar. Adipoz doku; leptin, rezistin ve Tümör Nekroz Faktörü α (TNF α) salgılayarak önemli bir endokrin organ olarak da işlev görür. Adipoz dokunun; enerji depolama, yağda eriyen vitaminleri depolama, fiziksel koruma sağlması ve termogenez fonksiyonlarına ek olarak, günümüzde adipositlerden ve adipoz stromal hücrelerden köken alan proteinlerin otkrin, parakrin ve endokrin etkiler ile hem lokal hem de sistemik etkileri olduğu gösterilmiştir. Adipositlerden sentezlenen sitokinlerin homeostazda, immün yanıtta, vazoregülasyonda ve steroid metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir (69).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, İstanbul Mehmet Akif Ersoy Deneysel Araştırma Geliştirme ve Eğitim Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda, 2017/05 numarasıyla onay almıştır. Çalışmada kullanılan sıçanların temini ve deney, aynı merkezde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda Low Aterior Rezeksiyon Sendromu oluşturulan ratlarda adipoz kökenli MKH uygulamasının etkileri araştırıldı. Çalışmada, ağırlığı 280-300 gram olan 22 adet, 3 aylık dişi Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Her grupta 10 sıçan olacak şekilde 2 grup oluşturuldu. Ayrıca 2 adet sıçan ise adipoz doku eldesi amaçlı kullanıldı. Sıçanların inguinal bölgelerinden eksize edilen adipoz dokular uygun işlemlerden geçirilerek MKH izolasyonu ve hazırlanması için laboratuara gönderildi. Grup 1 (Kontrol grubu, n=10):Ketamin (Ketalar, Pfizer) 40mg/kg sedoanaljesi altında anal sfinkter elektromyografi ölçümleri alındı. Daha sonra ketamin(Ketalar, Pfizer) ve 5 mg/kg doz ksilazin (Rompun % 2 Bayer) ile anestezi

derinleştirilerek laparotomi sonrası, Total mezorektal diseksiyon pelvik tabana kadar yapılarak rectum çevresi tamamen çıplaklaştırıldı. Diseksiyon sonrası rezeksiyon ve anastomoz yapılmadı. 7. ve 14. günlerde tekrar EMG ölçümü Ketamin (Ketalar, Pfizer) 40mg/kg sedoanaljesi altında yapıldı. Grup 2(Kök hücre grubu, n=10): 40mg/kg doz Ketamin (Ketalar, Pfizer) sedoanaljesi altında anal sfinkterin elektromyografi ile ölçümleri alındı. Daha sonra 40 mg/kg doz ketamin(Ketalar, Pfizer) ve 5 mg/kg doz ksilazin (Rompun % 2 Bayer) ile anestezi derinleştirilerek laparotomi sonrası total mezorektal diseksiyon pelvik tabana kadar yapılarak rectum çevresi tamamen çıplaklaştırıldı. Yine rezeksiyon ve anastomoz yapılmadı. Elde edilen kök hücreler Rat başına 2.5 ml olacak şekilde rektum çevresine sacrum üzerine ve pelvis tabanına verilerek operasyon sonlandırıldı. 7. ve 14. günlerde tekrar EMG ölçümü Ketamin (Ketalar, Pfizer) 40mg/kg sedoanaljesi altında yapıldı. Her iki gruba da batına işlem sonrası 1 cc Serum fizyolojik verildi. Adipoz doku eldesi sonrası bu amaçla kullanılan 2 sıçan 150 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal verilmesi ile sakrifiye edildi. Çalışmada mekenkimal kök hücre eldesi için Biotrend medikal firmasına ait Beautycell ADSC Protokolü kullanıldı. EMG ölçümleri için Radonltd Firmasına ait Powerlab marka EMG cihazı kullanıldı. Denek sayıları ve çalışma süresi belirlenirken literatürde daha önce sfinkter üzerine EMG çalışması yapılan çalışmalar örnek alındı. Anestezi ile cerrahinin etkisi de göz önüne alınarak çalışma sonunda elde bulunan denek sayılarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinin sağlıklı yapılabilmesi için her grup maksimum on denekten oluşturulmuştur ve çalışma süresi 14 gün olarak belirlenmiştir.

3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı

Ratlar ad-libitum olarak pellet yem ve çeşme suyu ile (yem ve su sınırlaması olmadan) beslendi ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ışık periyodunda havalandırılmalı kafes sisteminde (IVC), zengilleştirme materyali (nest) kullanılarak barındırıldı. Oda ısısı 18-20 °C arasında sabitlendi. Hipotermi oluşmasını engellemek için sıçanlar ışık kaynağı altında ameliyat edildi ve uyanma esnasında da bu uygulamaya devam edildi. Çalışma süresi toplam 14 gün ve toplam 20 sıçanla çalışıldığından, hayvanların barındırıldığı kafeslerin üzerine hangi grup olduğu yazılmasına rağmen, grupların birbirine karışmaması için her gruptaki deneklerin kuyruklarına farklı renklerde numaralar verilerek işaretlenmiştir.

Anestezi Prosedürü;

40 mg/kg dozda ketamin (Ketalar, Pfizer) ile ratlar anestezi altına alınarak EMG ölçümleri yapıldıktan sonra 5 mg/kg doz ksilazin (Rompun % 2 Bayer) ile anestezi derinliği sağlanarak cerrahi prosedüre başlandı.

3.2. Cerrahi işlem

Sıçanlara, periton içine 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc), 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer inc) uygulanarak anestezi verildi. Anestezi derinliği ekstremitte çekme yanıtı ile değerlendirildi. Hayvanlar uyuduktan sonra cerrahi masaya sırtüstü gelecek şekilde dört ekstremiteden flaster ile tespit edildi. Ameliyat alanı %10 povidon-iodin (Batticon antiseptik solüsyon, Adeka Ltd. Türkiye) ile temizlendi ve cerrahi boyunca sterilite koşulları sağlandı. Tüm gruplarda sıçanlara anestezi verilmesini takiben, ksifoidin 1 cm altı ile pubisin 1 cm üzeri olacak şekilde insizyonla cilt-cilt altı ve fasya geçilip laparotomi yapıldı. Sigmoid kolon askıya alınıp mesane ve batın duvarı parabef ekartörler ile ekarte edilerek diseksiyon makası yardımıyla özellikle rektum posterior bölge ile sakrum arasında keskin ve künt diseksiyon yapılarak rektum pelvik tabana kadar tamamen serbestleştirildi.(Resim 9-10)



Resim 9:Operasyon sırasında rektumun ekartörler ile ortaya konması



Resim 10: Keskin ve künt diseksiyonlar ile rektumun tamamen çıplaklaştırılması



Resim 11: Kök Hücre Enjeksiyonunun Yapılması

İşlem sonrası kanama kontrolü sonrası batına 1 cc serum fizyolojik verilerek sıçanların fasyaları ve ciltleri 3/0 vicril dikişlerle devamlı olarak kapatıldı. Kontrol grubunda diseksiyon yapıldıktan sonra başka işlem yapılmadan fasya ve cilt kapatıldı. Kök hücre grubundaysa rektum çevresi sakrum üstü ve pelvik tabana hazırlanan kök hücre çepeçevre uygulandı. (resim 11)

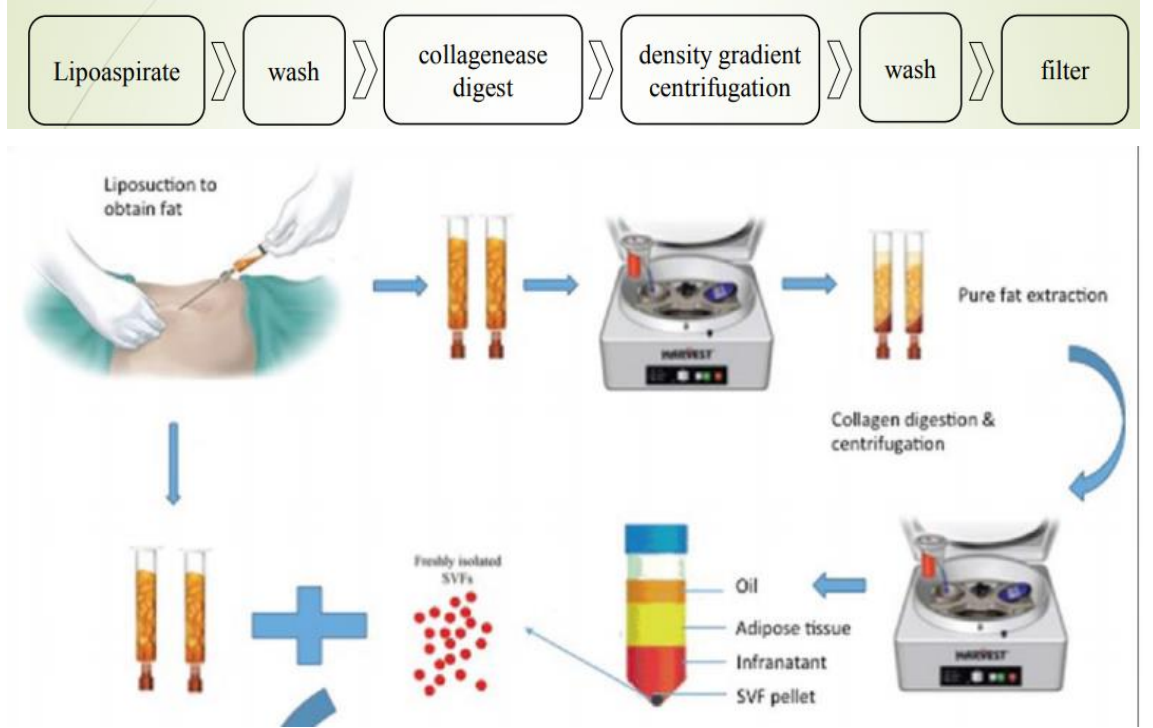
3.3. Adipoz doku temini

Sıçanların abdominal ve inguinal bölgeleri anestezi sonrası tıraş edildi ve sırtüstü pozisyonda cerrahi masaya tespitleri yapıldı. İnsizyon ksifoidin yaklaşık 1 cm altından başlatıldı ve karın orta hat boyunca vertikal ekseninde devam edildi. Median insizyonun tamamlanmasını takiben, pubisin yaklaşık 1 cm superior seviyesinde, insizyon bilateral inguinal bölgelere doğru uzatıldı. İnsizyonların tamamlanması ardından cilt flepleri cilt altı planda yapılan disseksiyonla kaldırıldı. İnguinal bölgelerdeki yağ yastıkçıkları ortaya kondu. İnguinal yağ yastıkçıkları çıkarıldı. 2 sıçandan yaklaşık 10 cc kadar yağ doku elde edildi. Eksize edilen yağ dokular, serum fizyolojik ile yıkanarak steril kaplara alındı.

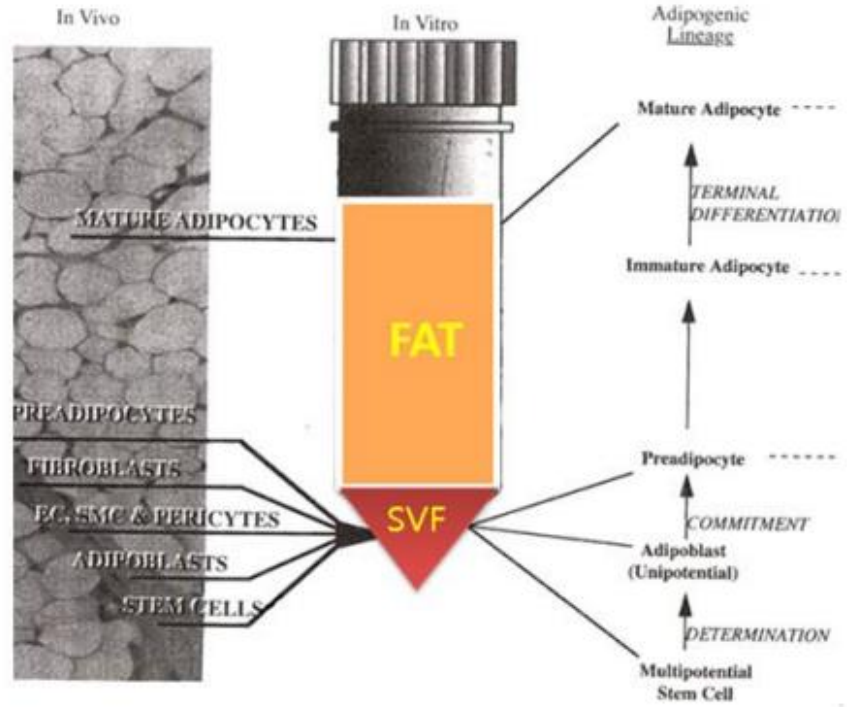
3.4. Mezenkimal Kök Hücrenin Takibi

Mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu, hazırlanması işlemleri Biotrend medical Laboratuvarı'nda yapıldı. 2 adet Sprague-Dawley cinsi sıçanın inguinal bölgesinden alınan adipoz dokular PBS ile yıkandı. Takiben 100 mm²'lik petri kaplarına alınan dokular burada mekanik olarak no:15 bistüri ve doku makası yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Bu esnada vasküler ve fibrotik yapılar ayıklanarak uzaklaştırıldı. Ayırma işlemi tamamlandıktan sonra kalan adipoz dokular yeni petri kaplarına alındı. Enzim Stok Solüsyonu Hazırlandı. 100 g Liyofilize Collagenase enzimi 10 ml steril su ile sulandırıldı. 1 ml olan aliquat 4 ml steril su ile 5 ml ye tamamlandı. Her 25 ml pure adipose doku için 0,5 ml kullanıldı. Elde edilen yağ dokusu 50 ml'lik falcon tüpler içerisine 25'er ml olarak aktarıldı ve üzeri 50 ml'ye kadar Ringer Laktat/SF solüsyonu ile tamamlandı. 100 g hızında 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edilen yağ dokusunun RBC (Red Blood Cell) kısmı falcon tupun dip kısmından 10 ml'lik pipet yardımıyla ayrıştırıldı. Adipose doku purifikasyonu gerçekleştirilmiş oldu. Purifikasyonu gerçekleştirilmiş olan 25 ml adipose doku 25 ml Ringer Laktat/SF solüsyonu ile 50 ml'ye tamamlandı. 0,5 ml enzim solüsyonu eklendi. 37 °C sıcaklığa sahip olan inkübatöre alınarak 200 rpm çalkalama hızında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası adipose doku 800 g hızında 5 dk santifüj

edildi. Santrifüj sonrası 25 ml'lik pipet ile üst kısımdaki yağ dokusu atıldı. Falcon tüp içerisindeki konsantrasyon 5 ml dip kısımda kalıncaya kadar yukarıdan aşağı pipet yardımıyla çekilerek atıldı. Adipose dokudan izole edilen 5 ml'lik hücre süspansiyonu Ringer Laktat/SF solüsyonu ile 50 ml'ye tamamlandı. 300 g hızında 3 dakika sanrifüj edildi. Santrifüj sonrası pipet yardımıyla dip kısımda 5 ml sıvı kalacak şekilde üst kısım atıldı. Bu yıkama işlemi 3 -4 defa tekrarlanarak enzim hücre süspansiyonundan uzaklaştırıldı. Yıkama işlemi gerçekleştirilmiş olan hücre süspansiyonu steril bir falcon tüpe yerleştirilen filtre (Cell Strainer 100 µm)den geçirildi. SVF hücre süspansiyonu falcon tüpün dip kısmında elde edildi. (Resim 12-13)



Resim 12:Kök Hücre Elde Edilme Aşamaları



Resim 13:Stromal Vasküler Fraksiyon Tüpte Görünümü

3.5. Elektromyografi Ölçümü (EMG)

Operasyondan önce ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) ile ratlar sedatize edildikten sonra 3 iğneli emg probu ile internal anal sfinkter amplitudü yaklaşık 30 saniye kaydedildikten sonra ratlar operasyona alındı. Postop. 7. Ve 14. Günlerde aynı ölçüm tekrarlandı.(Resim 14-15)



Resim 14:EMG Üç İğneli Prob



Resim 15:EMG Ölçümü İçin Sfinkter 3 Kadrana İğne Batırma

3.6. İstatiksel Yöntem

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı kolmogorov simirnov test ile ölçüldü. Nicel

bağımsız verilerin analizinde mann-whitney u test kullanıldı. Bağımlı nicel verilerin analizinde wilcoxon testi kullanıldı. Analizlerde SPSS 22.0 programı kullanılmıştır. İlgili verilerin analizinde varsayımların sağlanıp sağlanmadığı ve verilerin yapısı göz önünde bulundurularak uygulanacak teste karar verildi.

4. BULGULAR

Postop. 1. Gün kontrol grubundan bir hayvan kaybedildi. Deney bitimine kadar hayvan kaybedilmedi. Kök hücre grubundan bir hayvan genel durum bozukluğu nedeni ile deneyden çıkarıldı. Kök hücre grubunda deney bitiminde kontrol grubuna göre aşırı miktarda kilo kaybı gözlemlendi.

4.1. EMG Ölçümleri:

Kontrol grubu ve kök hücre grubunda ilki operasyondan önce olmak üzere 1'er hafta ara ile 3 iğne problu EMG ölçümleri yaklaşık 30 sn olacak şekilde ketamin sedoaneljisi altında yapıldı.(tablo 1)

	Kontrol grubu(amplitude)				Kök hücre grubu(amplitude)		
	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm		1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm
1.	Ex	ex	ex		-	-	-
2.	0,601	0,424	0,560		0,833	0,504	0,648
3.	0,749	0,354	0,580		0,551	0,193	0,434
4.	0,921	0,625	0,720		0,257	0,201	0,216
5.	0,314	0,205	0,106		0,837	0,854	0,870
6.	0,119	0,037	0,045		0,787	0,138	0,340
7.	0,476	0,203	0,329		0,664	0,578	0,632
8.	0,232	0,119	0,114		0,802	0,436	0,696
9.	0,141	0,019	0,083		0,152	0,034	0,143
10.	0,371	0,1474	0,190		0,719	0,347	0,604

Tablo 1:1,2 ve 3. Sfinkter EMG Ölçüm Sonuçları

4.2.Hayvan ağırlık ölçümleri:

Hayvan ağırlıkları deney başında ortalama 280-300 gr idi. Deney bitiminden sonra yapılan ölçümlerde kök hücre grubunun kontrol grubuna göre kilo verdiği gözlemlendi. Deney bitiminden sonra postop. 16. Gün hayvan ağırlıkları ölçüldü. Deney sırasında her iki gruptan birer hayvan, deney bitiminden sonra her iki gruptan birer hayvan kaybedilmiş olup kilo kontrolleri 8 hayvan üzerinden yapılmıştır.(tablo 2)

KONTROL		KÖK HÜCRE	
Sayı	KG	Sayı	KG
1	0	1	0
2	0	2	0
3	274.2	3	272.5
4	299.8	4	241.4
5	291.3	5	277.0
6	314.3	6	256.7
7	284.5	7	250.2
8	260.5	8	254.3
9	258.7	9	241.0
10	298.6	10	271.1

Tablo 2:Deney Sonu Kontrol Ve Kök Hücre Grubunun Ağırlıkları

4.3. İstatiksel bulgular

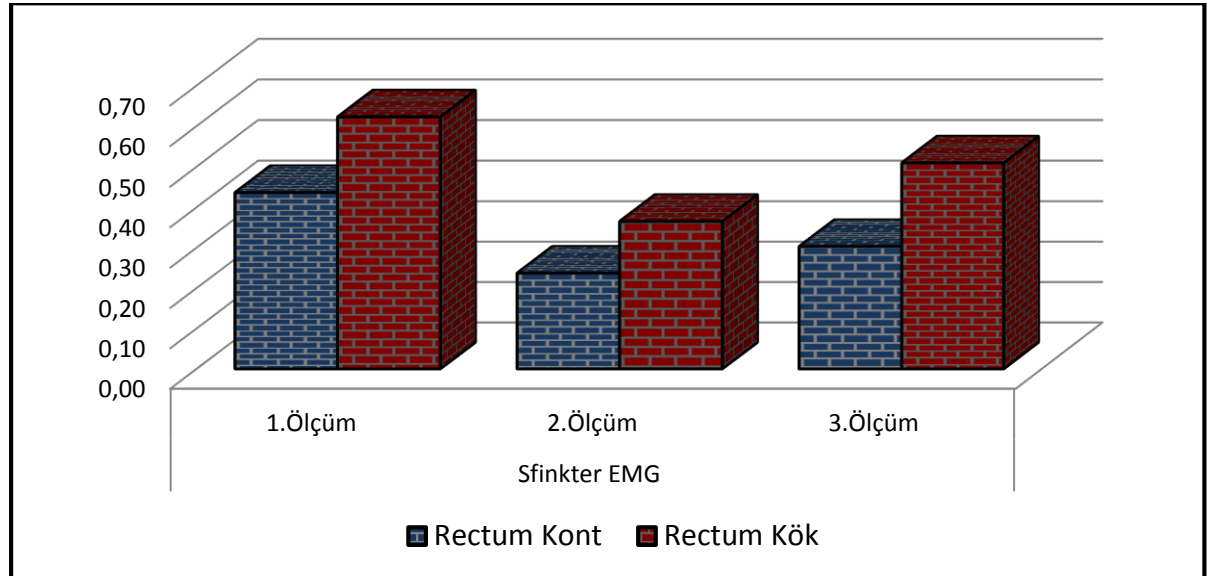
Rectum Kont ve Rectum Kök grubunda 1.ölçüm, 2. ölçüm, 3.ölçüm Sfinkter EMG değerleri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Rectum Kont grubunda 2. ölçüm, 3.ölçüm Sfinkter EMG değerleri 1.ölçüme göre anlamlı ($p < 0.05$) düşüş göstermiştir. Rectum Kök grubunda 2. ölçüm, 3.ölçüm Sfinkter EMG değerleri 1.ölçüme göre anlamlı ($p < 0.05$) düşüş

göstermiştir. 1.ölçüme göre, 2. Ölçüm ve 3.ölçüm Sfinkter EMG düşüşü iki grup arasında anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. (Tablo 3,Şekil 1)

	Rectum Kont		Rectum Kök		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
Sfinkter EMG					
1.Ölçüm	0.44 ± 0.28	0.37	0.62 ± 0.25	0.72	0.145 ^m
2.Ölçüm	0.24 ± 0.20	0.20	0.37 ± 0.26	0.35	0.354 ^m
3.Ölçüm	0.30 ± 0.25	0.19	0.51 ± 0.24	0.60	0.058 ^m
1./2. Ölçüm arası Fark	0.20 ± 0.11	0.18	0.26 ± 0.21	0.33	0.691 ^m
Grup İçi değişim p	0.008^w		0.011^w		
1./3. Ölçüm arası Fark	0.13 ± 0.06	0.15	0.11 ± 0.14	0.11	0.200 ^m
Grup İçi değişim p	0.008^w		0.021^w		

^m Mann-whitney u test / ^w Wilcoxon test

Tablo 3:EMG İstatistik Değerlendirmeleri



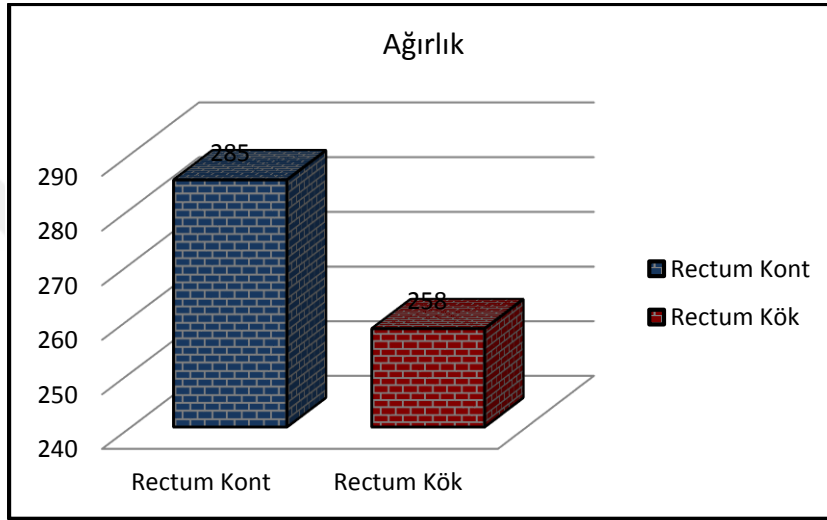
Şekil 1:Haftalara Göre EMG Değişikleri

Rectum kontrol ve kök hücre grubunun ortalama ağırlıkları karşılaştırıldığında kök hücre grubunda anlamlı bir düşme($p < 0.05$) gözlenmiştir.(Tablo 4,Şekil 2)

	Rectum Kont		Rectum Kök		p
	Ort.±s.s.	Medyan	Ort.±s.s.	Medyan	
Ağırlık	285.2 ± 19.7	287.9	258.0 ± 14.1	255.5	0.009 ^m

^m Mann-whitney u test

Tablo 4: Hayvan Ağırlık Değişiklik İstatistikleri



Şekil 2: Hayvan Ağırlık Değişikliği

5. TARTIŞMA

Fekal inkontinens, özellikle kanser nedeni ile uygulanan low anterior rezeksiyon operasyonu sonrası olguların hayat kalitesini önemli derecede etkileyen konulardan birisidir. Kontinensin sağlanması, sindirim sisteminden su ve elektrolit emilimine, gaita yoğunluğuna, rektal rezervuar fonksiyonuna ve en nihayetinde sfinkter fonksiyonlarına bağlıdır. LARS, kolon boyunun kısalması, rektal rezervuar kaybı, cerrahi sırasında olan sfinkter ve sinir hasarı, radyoterapiye bağlı olarak sinir ulak yollarının zedelenmesi nedeniyle gelişebilmektedir. Konservatif tedavilerden (yaşam tarzı değişikliği gibi) veya medikal tedavilerden cerrahi olarak dışkıının saptırılmasına kadar pekçok tedavi şekli denenmiştir.(69-71) Günümüzde, neoadjuvan

tedavi protokolleri daha yaygın kullanılmakta ve cerrahi onkoloji prensiplerine uygun operasyonlar artık rutin bir şekilde yapılmaktadır. Bu tedaviler de onkolojik olarak daha uzun sağkalımı getirmekte ve dolayısıyla kaliteli yaşam taleplerini arttırmaktadır. TME yapılır iken artık çok dikkatli diseksiyonlar yapılmakta, çoğu vakada hypogastrik sinir görünerek korunmasına ve sfinkter zedelenmemesine rağmen hastada fekal ve üriner inkontinans impotans geçici ya da çoğunlukla kalıcı olarak yinede görülmektedir. Biz burada LARS oluşumuna dominant etkisi olduğuna inandığımız sinir hasarı üzerine kök hücre etkisi şeklinde bir çalışma yürüttük. Süperior hypogastrik plexustan, hypogastrik sinir yoluyla gelen sempatikler ve sacral flexustan(nervi erigentes) gelen parasempatiklerin oluşturduğu inferior hypogastrik plexus(pelvic plexus), rektum, mesane ve retrodüktil organlara sekonder sinirler göndermekte ve innerve etmektedir. Örneğin, bu plexusdan çıkan N.rektalis medius, m.sphincter internus'u innerve ederek internal sphincter'in istirahat kontraksiyonunu ve rectum duvar relaksasyonunu sağlar.Aynı zamanda ağrı duyusunu taşıyan efferent lifler sempatik ve parasempatik liflerle beraber seyrederek.Bu durum LAR sonrası hastaların gaitayı hissetmeme ve gaz gaita ayrımı yapamama şikayetlerini açıklar. Defakasyonda parasempatik lifler, sempatik liflere göre daha aktiftir daha aktiftir.(72) Rektum kanseri nedeni ile mezorektal eksizyon yapılmış ve çeşitli anastomoz protokolleri uygulanmış birçok hastada %30 'lara kadar çıkan low anterior rezeksiyon sendromu görülmektedir.(73,74). Bizde çalışmamızda mezorektumunu pelvik tabanı görene kadar çepe çevre künt ve keskin diseksiyonlarla eksize etmiş olup ratlara ek bir morbidite eklememek için rezeksiyon ve anastomoz yapmadık. Rezeksiyon anastomoz sonrası neorektumun yeterli rezervuar alan sağlamaması inkontinansın önemli nedenleri arasında gösterilmektedir. Yalnız bizim çalışmamızda inkontinans değerlendirilmesi direkt sfinkter kontraktilesinin EEG ile ölçülmesine dayandığından bu kararın çalışma üzerine olumsuz yönde bir etkisi olmayacağına karar vererek bu işlemi yapmadık. Kontrol ve Kök Hücre grubuna aynı operasyon yapmış olup kontrol grubuna herhangi madde vermeden batını kapatıp diğer gruba kök hücre nakli yaptık. Pelvik plexus pelvisdeki bütün organların innervasyonundan sorumlu olduğu için pelvisde rektum çevresine, mesane posteriorüne, sacral bölgeye kök hücre enjeksiyonları yaparak işlemi sonlandırdık.

Kök hücre teknolojisinin gelişimiyle beraber araştırmalar, kök hücrelerinin farklı hücrelere farklılaşma yeteneklerinden faydalanarak, bu hücreleri doku rejenerasyonunda kullanmak yönünde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmaların bir çoğunda, kök hücrelerin özellikle iskemik kalp kası dokusunda rejenerasyon yapıcı etkisi incelenmiş ve bu yöntem klinik uygulamada büyük popülarite kazanmıştır (75-77).Elde edilen sonuçlar yüz güldürücü, olsa da araştırmacılar, sonuçların doz bağımlı olduğu gerçeğinden yola çıkarak kemik iliği gibi oldukça sınırlı bir kaynak dışında miktar olarak ve elde edilme kolaylığı yönünden avantajlı bir doku bulma yoluna gitmişlerdir. Bu aşamada yağ dokusundan kök hücre ve büyüme faktörleri yönünden zengin stromal vasküler fraksiyon(SVF) adı ile bilinen kök hücre elde edilmesinin keşfi ile kök hücre çalışmaları hız kazanmıştır. Bizde çalışmamızda yağ hücre kaynaklı SVF kullanılmış olup, aynı günde ratların inguinal bölge ve retroperitoneal bölgelerinden elde ettiğimiz yağ dokularını laboratuarda 3-4 saat gibi kısa bir sürede SVF olarak geri kazanmış olduk. Ve aynı gün uygulamayı yaptık. SVF'den türeyen mezenkimal progenitör kök hücreler, in vitro kolayca genişleyebilir ve farklı hücre dizileri yaratma potansiyeline sahiptir.(78) İnsanlarda da liposuction aspiratları veya subkütan yağ dokusu fragmanlarından kolayca elde edilebilirler ve in vitro olarak genişletilebilirler. Adipoz dokudan türetilen kök hücreler, diğer kök hücre kaynaklarına kıyasla daha yüksek verim gösterirler. ADSC'ler multipotenttir ve adipositleri (79-80), osteoblastları, kondrositleri miyositleri ve nöronal hücreleri (81) ayırt edebilir ki bizim çalışmamızda amacı nöronal kök hücreye farklılaşması ve sinir onarımıydı. Bir çalışmada, MKH'lerin SVF'de kemik iliğinden 500 kat daha fazla bulunduğu bildirilmiştir.(82) Ayrıca, SVF'nin yağ dokusundan kolaylıkla elde edilebilmesi, kemik iliği kökenli MKH'lere alternatif olarak düşünölmelerini sağlamıştır. Behfar ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada, SVF'nin kemik iliği kaynaklı MKH'lere alternatif olarak kullanılabileceği, tendon yaralanmalarında gösterilmiştir.(83) Kim ve arkadaşları, SVF içeren MKH'lerin enjeksiyon sonrası etkinliğini ayak bileğinin osterokondral lezyonlarında incelemiş ve kırık onarımının derecesini manyetik rezonans (MR) görüntöleme ile belirlemiştir. Standart liposuction yöntemiyle elde edilen yağ dokusundan izole edilen SVF, %1-4 oranında MKH içerir. SVF hücreleri, klinikte taze olarak çoğaltmaya ihtiyaç duyulmadan kullanılabilir. Taze olarak kullanılabilen hücreler, ex vivo bir işlemde geçirilmediğinden, MKH'lere göre daha avantajlıdır. (84)

Fekal kontinansdan daha öncede belirtildiği gibi internal ve external anal sfinkter sorumludur. İnternal anal sfinkter pelvik plexustan gelen parasempatik ve sempatik sinirlerle innerve edilirken, eksternal sfinkter pudental sinir ile innerve edilir. Yaptığımız total mezorektal eksizyon sırasında pudental siniri yaralama durumumuz ekstra bir komplikasyon olmadığı sürece olmaz. Normal geçen bir operasyon sırasında sfinkterde de muskuler bir hasar olmadığı halde meydana gelen fekal inkontinans internal anal sfinkterin istirahat basıncını kaybetmesine ve rectum duvarı ve sfinkterlerinin intraluminal basınç duyusunu kaybetmesine bağlıdır. Bu hasarı en iyi elektromyografi(EMG) ile değerlendirebiliriz. Internal sfinkter istirahat halinde iken bile sürekli sempatik uyarıya bağlı olarak kontraksiyon halindedir. EMG sfinkterin aldığı uyarı amplitütünü ölçmektedir. Biz çalışmamızda ratların operasyondan hemen önce(kontrol:0.44±0.28, kök hücre:0.62±0.25), postop. 7. Gün (kontrol:0.24±0.20, kök hücre:0.37±0.26), ve 14. Günlerde (kontrol:0.30±0.25, kök hücre:0.51±0.24) EMG ölçümlerini aldık. Her iki grupta bir rat çalışmada kaybedilmiş olup çalışma, 9 kontrol, 9 kök hücre grubu üzerinden yürütülmüştür. Ölçümlerde 1. ölçüme göre 2. Ölçümlerde ciddi düşüş gözlenmiş olup(kontrol p:0,008, kök hücre p:0,011), 3. ölçümlerde kök hücre grubunda daha fazla olmak üzere iyileşme gözlenmiş(kontrol p:0,008, kök hücre p:0.021) yalnız ilk ölçüme göre anlamlı düşük değerler devam etmiştir. Ancak iki grup karşılaştırıldığında kök hücre grubunda, kontrol grubuna göre istatistiğe yansıyan anlamlı iyileşme görülmemiştir(p>0.05). Çalışmada EMG ölçümlerinde istatistiksel anlamda bir fark çıkmamakla birlikte kök hücre verilen grup önemli kilo kaybetmiştir. Daha önce ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada; ratlara yüksek miktarda kök hücre enjeksiyonu yapılmış olup 13 haftalık takip sonucunda en yüksek kök hücre enjeksiyon dozunda bile ratların yaşadığı ve herhangi bir yan etki görülmediği belirtilmiştir.(85) Bu çalışmada SVF kullanılmamış kültür ortamında genişletilen kök hücreler kullanılmıştır. Bahsedilen çalışmayla karşılaştırıldığında bizim SVF’imizde kök hücre haricinde bol miktarda proinflamatuvar hücreler, büyüme faktörleri ve TNF- α gibi sitokinler bulunmaktadır. Kök hücre uygulanan hayvanlar genel durum olarak kontrol grubundan çok farklı olmamasına rağmen neredeyse hepsi kaşeksiye gitmiştir. (Gözlemsel Bulgu) Çalışmaya ağırlıkları 280-300 gr olan ratlarla başlanmış, çalışma bitiminde kök hücre grubunda ciddi kaşeksi gözlenmesi üzerine hayvanlar tekrar tartılmıştır. Çalışma bitiminde bir adet kök hücre, bir adet de kontrol grubun-

dan hayvan kaybedilmiş olup, kilo değerlendirilmesi 8'er hayvan üzerinden yapılmıştır. Kontrol grubunun ortalama ağırlığı 285.2 ± 19.7 , kök hücre grubunun ortalama ağırlığı 258 ± 14.1 olup istatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı ($p < 0.05$) fark bulunmuştur. Genel olarak kontrol grubunda gözle görülür ve ölçümlerde de gözle görüldüğü gibi kilo kaybı olmamış ve gayet sağlıklı şekilde çalışmayı tamamlamışlardır. Kök hücre grubu ise gayet hareketli olmalarına rağmen kilo kaybı görüntülerine yansımış, tüyleri ve cilt altı dokuları hissedilir şekilde azalmıştır. Her hayvan başına 2.5 ml SVF verilmiş olup, her ml de %75-95 arasında canlı hücre mevcut olup 1 ml'de 10-15 milyon hücre bulunmaktadır. Bu hücrelerin %1-3'ünü kök hücreler oluşturmaktadır olup geriye kalan kısım granüositler, lenfositler, fibroblastlar, adipoz doku hücreleridir. Geriye kalan fraksiyonda büyüme faktörleri ve sitokinler oluşturmaktadır. Ratlarda meydana gelen aşırı kilo kaybı fraksiyonda bulunan kaşektik sitokinlerin ve enflamatuar hücrelerin sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, perirectal derin insizyon yapılarak oluşturulan LARS modelinde, bu sendromun üzerine kök hücre uygulamasının etkisi incelenmiştir. Kök hücre verilen grup ile kök hücre verilmeyen grup EMG ölçümleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Kök hücre grubundaki hayvanlarda anlamlı kilo kaybı gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005 Mar-Apr; 55(2):74-108.
2. Piscatelli N, Hyman N, Osler T. Localizing colorectal cancer by colonoscopy. *Arch Surg* 2005 Oct; 140(10): 932-5. DOI: 10.1001/archsurg.140.10.932
3. Goligher JC, with the collaboration of Duthie HL, Nixon HH. *Surgery of the anus, rectum and colon.* London: Bailliere Tindall; 1975.
4. Di Betta E, D'Hoore A, Filez L, Penninckx F. Sphincter saving rectum resection is the standard procedure for low rectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* 2003 Nov; 18(6): 463-9. DOI: 10.1007/s00384-002-0474-8
5. Skandalakis LJ, Skandalakis JE, Skandalakis PN. *Surgical anatomy and Technique.* 3rd ed. New York: Springer; 2009.
6. Nagtegaal ID, van de Velde CJ, Marijnen CA, van Krieken JH, Quirke P; Dutch Colorectal Cancer Group; Pathology Review Committee. Low rectal cancer: a call for a change of approach in abdominoperineal resection. *J Clin Oncol* 2005 Dec; 23(36):9257-64.
7. Romolo JL. Embryology and anatomy of the colon. In: Zuidema GD, Yeo CJ, editors. *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract*, 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002. p.3-16.
8. Ulusoy AN, translation editor. Townsend MC. *Modern Cerrahi Pratiğin Biyolojik Temelleri.* 17th ed. Ankara: Nobel; 2010. Chapter 12. p. 1401-83.
9. Skandalakis JE. Colon and rectum. In: Skandalakis JE, editor. *Surgical anatomy and technique.* New York: Hamilton; 1995. p.401-70.
10. Skandalakis JE, Kingsnorth AN, Colborn GL, Weidman TA, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Land intestine and anorectum. In: Skandalakis JE, Colborn GL, Wiedman TA, editors. *Skandalakis' Surgical Anatomy.* McGraw-Hill's Access Surgery; 2004. p.861-1002.

11. Rosai J, editor. *Ackerman's Surgical Pathology*. 8th ed. St Louis: Mosby; 1996. p.729-99.
12. Speights VO, Johnson MW, Stoltenberg PH, Rappaport ES, Helbert B, Riggs M. Colorectal cancer: Current trends in initial clinical manifestations. *South Med J* 1991 May; 84(5):575-8.
13. Steinberg SM, Barkin JS, Kaplan RS, Stablein DM. Prognostic indicators of colon tumors. The Gastrointestinal Tumor Study Group experience. *Cancer* 1986 May; 57(9):1866-70.
14. Ford AC, Veldhuyzen van Zanten SJ, Rodgers CC, Talley NJ, Vakil NB, Moayyedi P. Diagnostic utility of alarm features for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. *Gut* 2008 Nov; 57(11):1545-53. doi: 10.1136/gut.2008.159723
15. Polissar L, Sim D, Francis A. Survival of colorectal cancer patients in relation to duration of symptoms and other prognostic factors. *Dis Colon Rectum* 1981 Jul-Aug; 24(5):364-9.
16. Rich T, Gunderson LL, Lew R, Galdibini JJ, Cohen AM, Donaldson G. Patterns of recurrence of rectal cancer after potentially curative surgery. *Cancer* 1983 Oct; 52:1317-29.
17. Willett CG, Lewandrowski K, Donnelly S, Shellito PC, Convery K, Eliseo R et al. Are there patients with stage I rectal carcinoma at risk for failure after abdominoperineal resection? *Cancer* 1992 Apr; 69(7):1651-5.
18. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR. Prognostic factors in colorectal cancer: College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000 Jul; 124(7):979-94. DOI: 10.1043/0003-9985(2000)124<0979:PFICC>2.0.CO;2
19. Tepper JE, O'Connell MJ, Niedzwicki D, Hollis D, Compton C, Benson AB 3rd, et al. Impact of number of nodes retrieved on outcome in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 2001 Jan; 19(1):157-63 DOI: 10.1200/JCO.2001.19.1.157

20. Wolmark N, Fisher B. An analysis of survival and treatment failure following abdominoperineal and sphincter-saving resection in Dukes' B and C rectal carcinoma. A report of the NSABP clinical trials. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. *Ann Surg* 1986 Oct; 204(4):480-9.
21. Vernava AM 3rd, Moran M, Rothenberger DA, Wong WD. A prospective evaluation of distal margins in carcinoma of the rectum. *Surg Gynecol Obstet* 1992 Oct; 175:333-6.
22. Williams NS, Dixon MF, Johnston D. Reappraisal of the 5 centimetre rule of distal excision for carcinoma of the rectum; a study of distal intramural spread and of patients' survival. *Br J Surg* 1983 Mar; 70(3):150-4.
doi:10.1002/bjs.1800700305
23. Kim KH, Yu CS, Yoon YS, Yoon SN, Lim SB, Kim JC. Ectiveness of biofeedback therapy in the treatment of anterior resection syndrome after rectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum* 2011 Sep; 54(9):1107-13. doi: 10.1097/DCR.0b013e318221a934.
24. Gruman MM, Noack EM, Hoffmann IA, Schlag PM. Comparison of quality of life in patients undergoing abdominoperineal extirpation or anterior resection for rectal cancer. *Ann Surg* 2001 Feb; 233(2):149-56
25. Lee WY, Takahashi T, Pappas T, Mantyh CR, Ludwig KA. Surgical autonomic denervation results in altered colonic motility: an explanation for low anterior resection syndrome? *Surgery* 2008 Jun; 143(6):778-83. doi: 10.1016/j.surg.2008.03.014
26. Karaöz E, Ovalı E. *Kök Hücreler*. 1st ed. Trabzon: ATİ Teknoloji AŞ; 2004.
27. Sale GE, Storb R. Bilateral diffuse pulmonary ectopic ossification after marrow allograft in a dog. Evidence for allotransplantation of hemopoietic and mesenchymal stem cells. *Exp Hematol* 1983 Nov; 11(10):961-6.
28. Trucco M. Regeneration of the pancreatic beta cell. *J Clin Invest*. 2005 Jan; 115(1):5-12 DOI: 10.1172/JCI23935

29. Can A, Karahüseyinoğlu S, Çınar Ö, Erdemli E, Özdağ H. İnsan kök hücrelerinin çoğalma ve farklılaşma aşamalarında yapısal protein dinamiğinin belirlenmesi. TÜBİTAK, Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu: 2008. Project no: 3314106S036.
30. Ural AU. Embriyonel ve mezodermal kök hücreler. Ankara. 2006. Lecture Notes.
31. Karaöz E. Nedir bu kök hücreler? Türkiye kök hücre araştırmalarının neresinde Cumhuriyet Bilim ve Teknik Dergisi 2004; 18(884):2-14.
32. Şahin F, Saydam G, Omay SB. Kök hücre plastisitesi ve klinik pratikte kök hücre tedavisi. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi 2005; 1(15):48-56.
33. Bunnell BA, Flaat M, Gagliardi C, Patell B, Ripoll C. Adipose-derived stem cells: Isolation, expansion and differentiation. Methods 2008; 45:115-20. doi: 10.1016/j.ymeth.2008.03.006.
34. Çamurdanoğlu BZ, Kansu E. Erişkin ve hematopoetik kök hücreler. In: Kansu E, editor. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi 2009; 41-51.
35. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. Exp Hematol 1976; 4(5):267-74.
36. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng 2001; 7:211- 28.
37. Rodriguez AM, Elabd C, Amri EZ, Ailhaud G, Dani C. The human adipose tissue is a source of multipotent cells. Biochimie 2005; 87:125-8.
38. Lendenckel S, Jödicke A, Christophis P, Heidinger K, Wolff J, Fraser JK, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. J Craniomaxillofac Surg 2004; 32:370-3.
39. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 2009; 284:143-7.

40. Çetinkaya DU. Mezenkimal kök hücreler. In: Kansu E, editor. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi 2009; 53-62.
41. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulson R, Wright NA. The new stem cell biology: something for everyone. *Mol Pathol* 2003; 56:86-96.
42. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: Nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001; 19(3):180-92.
43. Hawley RG, Sobieski DA. Stem cell bouillabaisse-potpourri. *Stem Cells* 2002; 20:360-3.
44. Karaoz E, Aksoy A, Ayhan S, Sariboyaci AE, Kaymaz F, Kasap M. Characterization of mesenchymal stem cells from rat bone marrow: Ultrastructural properties, differentiation potential and immunophenotypic markers. *Histochem Cell Biol* 2009 Now; 132(5):533-46. doi:10.1007/s00418-009-0629-6.
45. Karaoz E, Ayhan S, Gacar G, Aksoy A, Duruksu G, Okçu A, et al. Isolation and characterization of stem cells from pancreatic islet: pluripotency, differentiation potential and ultrastructural characteristics. *Cytherapy* 2010; 12(3):288-302. doi: 10.3109/14653240903580296.
46. Zheng Y, Yi C, Xia W, Ding T, Zhou Z, Han Y, et al. Mesenchymal stem cells transduced by vascular endothelial growth factor gene for ischemic random skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 2008 Jan; 121(1):59-69. doi: 10.1097/01.prs.0000293877.84531.5a.
47. Simman R, Craft C, McKinney B. Improved survival of ischemic random skin flaps through the use of bone marrow nonhematopoietic stem cells and angiogenic growth factors. *Ann Plast Surg* 2005; 54(5):546-52.
48. Beksaç M. Kök hücre kaynağı olarak kordon kanı. In: Kansu E, editor. Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi. 2009; 29-39.
49. Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (Lond)* 2005; 26(7):2-8.

50. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells, *Circulation*, Vol. 13, Issue 1. 2002; 4279-95.
51. Ailhaud G, Grimaldi P, Negrel R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Ann. Rev Nutr* 1992 ; 12:209-13.
52. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 75:1035
53. Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004 Mar; 16;109(10):1292-8.
54. Strauer BE, Schannwell CM, Brehm M. Therapeutic potentials of stem cells in cardiac diseases. *Minerva Cardioangiol* 2009; 57(2):249-67.
55. Yoshioka T, Ageyama N, Shibata H, Yasu T, Misawa Y, Takeuchi K. et al. Repair of infarcted myocardium mediated by transplanted bone marrow-derived CD34+ stem cells in a nonhuman primate model. *Stem Cells* 2005; 23(3):355-64.
56. Graham-Rowe D. Fetal tissue graft restores lost sight. *New Sci* 2004; 184(2471):16-17.
57. Vastag B. Stem cells step closer to the clinic: paralysis partially reversed in rats with ALS-like disease. *JAMA* 2001; 285(13):1691-93.
58. Karaoz E, Okcu A, Saglam O, Genc ZS, Ayhan S, Kasap M. Pancreatic islet derived stem cells can express co-stimulatory molecules of antigen-presenting cells. *Transplant Proc* 2010; Now;42(9):3663-70.
59. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275(5302):964- 7.
60. Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, Yamaguchi JI, Uchida S, Masuda H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation* 2001 Feb; 103(5):634-7.

61. Heindel-Green A, Radke PW, Munkonge FM, Frass O, Zhu J, Vincent K et al. The efficacy of a 'master switch gene' HIF-1alpha in a porcine model of chronic myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 2005; 26: 1327-32.
62. Madeddu P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration. *Exp Physiol* 2005 May;90(3):315-26.
63. Ichioka S, Kudo S, Shibata M, Ando J, Sekiya N, Nakatsuka T. Bone marrow cell implantation improves flap viability after ischemia-reperfusion injury. *Ann Plast Surg* 2004; 52(4):414-8.
64. Zheng Y, Yi C, Xia W, Ding T, Zhou Z, Han Y. Mesenchymal stem cells transduced by vascular endothelial growth factor gene for ischemic random skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 2008; 121(1):59-69.
65. Uysal AC, Mizuno H, Tobita M, Ogawa R, Hyakusoku H. The effect of adipose derived stem cells on ischemia-reperfusion injury: immunohistochemical and ultrastructural evaluation. *Plast Reconstr Surg* 2009; 124(3):804-15.
66. Poznanski WJ, Waheed I, Van R. Human fat cell precursors. Morphologic and metabolic differentiation in culture. *Lab Invest* 1973; 29(5):570-6.
67. Strem BM, Hicok KC, Zhu M. Multipotential differentiation of adipose tissue derived stem cells. *Keio J Med* 2005; 54(3):132-41.
68. Aust L, Devlin B, Foster SJ, Halvorsen YD, Hicok K, du Laney T. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 2004; 6(1):7-14.
69. Kim KH, Yu CS, Yoon YS, Yoon SN, Lim SB, Kim JC. Effectiveness of biofeedback therapy in the treatment of anterior resection syndrome after rectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum* 2011 Sep; 54(9):1107-13. doi: 10.1097/DCR.0b013e318221a934.
70. Sunić-Omejc M, Mihanović M, Bilić A, Jurčić D, Restek-Petrović B, Marić N, et al. Efficiency of biofeedback therapy for chronic constipation in children. *Coll Antropol* 2002 Dec;26:93-101.

71. Asoglu O, Balik E, Kunduz E, Yamaner S, Akyuz A, Gulluoglu M, et al. Laparoscopic surgery for rectal cancer: outcomes in 513 patients. *World J Surg* 2013 Apr; 37(4):883-92. doi: 10.1007/s00268-013-1927-7.
72. Laurie Kelly McCorry. Physiology of the Autonomic Nervous System. *Am J Pharm Educ*. 2007 Aug 15; 71(4): 78.
73. Murata A, Brown Cj, Raval M, Phang Pt. Impact Of Short-Course Radiotherapy And Low Anterior Resection On Quality Of Life And Bowel Function In Primary Rectal Cancer. *Am J Surg* 2008 May; 195(5):611-5 Doi: 10.1016/J.Amjsurg.2007.12.034.
74. Fazio VW, Zutshi M, Remzi FH, Parc Y, Ruppert R, Fürst A, et al. A Randomized Multicenter Trial to Compare Long-Term Functional Outcome, Quality of Life, and Complications of Surgical Procedures for Low Rectal Cancers. *Ann Surg* 2007 Sep; 246(3):481-90 doi:10.1097/SLA.0b013e3181485617
75. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. *Science* 1997 Feb 14; 275(5302):964-7.
76. Kawamoto A, Murayama T, Kusano K, Ii M, Tkebuchava T, Shintani S, et al. Synergistic effect of bone marrow mobilization and vascular endothelial growth factor-2 gene therapy in myocardial ischemia. *Circulation*. 2004 Sep; 110(11):1398-405. doi:10.1161/01.CIR.0000141563.71410.64
77. Heintz-Green A, Radke PW, Munkonge FM, Frass O, Zhu J, Vincent K, et al. The efficacy of a 'master switch gene' HIF-1 α in a porcine model of chronic myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 2005 Jul; 26(13): 1327-32.
78. Han S, Kim SW, Sun HM, Hwang KC. Kim Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells: Update on Clinical Utility and Efficacy. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2015; 25(2):145-52.
79. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001 Apr; 7(2):211-28 doi: 10.1089/107632701300062859.

80. De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Zhu M, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs* 2003; 174:101–9. doi:10.1159/000071150
81. Cardozo AJ, Gómez DE, Argibay PF. Neurogenic differentiation of human adipose-derived stem cells: relevance of different signaling molecules, transcription factors, and key marker genes. *Gene* 2012 Dec;511(2):427–36. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.038.
82. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol* 2006 Apr; 24(4):150–4. doi: 10.1016/j.tibtech.2006.01.010
83. Behfar M, Javanmardi S, Sarrafzadeh-Rezaei F. Comparative study on functional effects of allotransplantation of bone marrow stromal cells and adipose derived stromal vascular fraction on tendon repair: a biomechanical study in rabbits. *Cell J* 2014; 16(3):263–70.
84. Jang Y, Koh YG, Choi YJ, Kim SH, Yoon DS, Lee M, et al. Characterization of adipose tissue-derived stromal vascular fraction for clinical application to cartilage regeneration. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2015 Feb; 51(2):142–50. doi: 10.1007/s11626-014- 9814-6
85. Ra JC1, Shin IS, Kim SH, Kang SK, Kang BC, Lee HY, Kim YJ, Jo JY, Yoon EJ, Choi HJ, Kwon E. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem Cells Dev.* 2011 Aug;20(8):1297-308. doi: 10.1089/scd.2010.0466.