157029

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Yrd. Doç. Dr. Mustafa İNAN

RATLARDA OLUŞTURULAN KOLONİK REZEKSİYON-ANASTOMOZ MODELİNDE METİLEN MAVİSİNİN DOKU İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Bünyamin DÜNDAR

EDİRNE- 2004

TEŞEKKÜR

Sayın Hocam Prof. Dr. Mehmet PUL, Yrd. Doç. Dr. Ü. Nusret BAŞARAN ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa İNAN'a, patoloji değerlendirmelerinde yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Kemal KUTLU, Uzm. Dr. Fulya ÖZ PUYAN'a, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı araştırma görevlileri, hemşireleri ve personeline teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

GİRİŞ ve AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 2

KALIN BAĞIRSAĞIN EMBRİYOLOJİ, ANATOMİ ve HİSTOLOJİSİ. 2

REZEKSİYON-ANASTOMOZ İŞLEMİ 4

YARA İYİLEŞMESİ 6

METİLEN MAVİSİ 14

GEREÇ ve YÖNTEMLER 17

MEKANİK ÇALIŞMA 18

BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA 18

HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA 21

İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA 21

BULGULAR 23

TARTIŞMA 31

SONUÇLAR 35

TÜRKÇE ÖZET 36

İNGİLİZCE ÖZET.....38

KAYNAKLAR 40

EKLER 46

SİMGE VE KISALTMALAR

A : Arter
b-FBF : bazik-Fibroblast Büyüme Faktörü
DBF-β : Doku Büyüme Faktörü-β
EBF : Epidermal Büyüme Faktörü
ELYM-1 : Endotel Lökosit Yapışma Molekülü-1
eNOS : endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GTP : Guanozin Tri Phosphate
HAYM-1: Hücrelerarası Yapışma Molekülü-1
İNF-γ : İnterferon-γ
IL-I : İnterlökin-I
MM : Metilen Mavisi
NO : Nitrik oksit
NOS : Nitrik Oksit Sentaz
NEK : Nekrotizan Enterokolit
RA : Rezeksiyon-Anastomoz
RAM : Rezeksiyon-Anastomoz-Metilen Mavisi
rER : ribozomal Endoplazmik Retikulum
cGMP : cyclic Guanosin Monophospate
SNP : Sodyum Nitroprussid
TTBF : Trombositten Türeyen Büyüme Faktörü
TEBF-β : Transforme Edici Büyüme Faktörü-β
TNF-α : Tümör Nekroz Faktör-α

VHYM-1: Vasküler Hücre Yapışma Molekülü-1

V : Ven

GİRİŞ VE AMAÇ

Çocukluk çağında, sindirim sisteminde yapılan çeşitli ameliyatlar esnasında rezeksiyon-anastomoz (RA) işlemi sıklıkla uygulanmaktadır. Bu işlemin iyileşme süreci hastanın yaşamsal fonksiyonlarını doğrudan etkileyecek niteliktedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda RA işlemi çeşitli boyutlarıyla ele alınmış, gerek endikasyonları gerekse ameliyat tekniğiyle ilgili birçok konu açıklığa kavuşmuştur. Ancak iyileşme süreci ile ilgili bilgilerimizde halen eksiklikler ve tartışmaya açık konular bulunmaktadır (1–4).

Birçok yazar bağırsaklarda yapılan RA işleminin iyileşme sürecini primer yara iyileşmesi olarak kabul etmektedir. Bu süreçte ortaya çıkan anastomoz kaçağı, sepsis, fistül, karın içi yapışıklıklar ve bağırsak tıkanıklığı gibi komplikasyonların genellikle primer yara iyileşmesindeki yetersizlikten kaynaklandığı ifade edilmektedir. Hayatı tehdit eden bu komplikasyonları önlemek için çeşitli görüşler ortaya atılmış, bunların bir kısmı deneysel çalışma aşamasında kalırken bir kısmı da klinik olarak kabul görmüştür. RA uygulanan bağırsak segmentindeki doku iyileşme sürecini kalitatif ve kantitatif olarak hızlandırmak amacıyla neurotensin, difenhidramin, steroid, 5-fluorourasil, hyalüronik asit türevleri, seprafilm, tamoksifen, doksisiklin, paklitaksel, nitrik oksit sentaz inhibitörleri, büyüme faktörleri gibi maddeler denenmiş, ancak metilen mavisi (MM) hiç kullanılmamıştır (1–7).

Bu çalışmanın amacı; deneysel olarak kalın bağırsak RA modeli oluşturulmuş sıçanlarda, MM'nin doku iyileşmesindeki rolünü mekanik, histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirmektir.

GENEL BİLGİLER

Sindirim sisteminin son kısmını oluşturan kalın bağırsağın temel işlevi feçesin depolanması ve suyun geri emilimidir. Ayrıca florasını oluşturan bakteriler, K ve B vitaminlerinin bazılarının üretilmesinde rol oynar (8).

KALIN BAĞIRSAĞIN EMBRİYOLOJİ, ANATOMİ ve HİSTOLOJİSİ

İntrauterin hayatta embriyonun sefalokaudal ve lateral yönlerden katlanmasıyla primitif bağırsak oluşmaya başlar. Fötal sindirim sisteminin bukkofaringeal membrandan trakeobronşial divertiküle kadar uzanan kısmı faringeal bağırsağı oluşturur. Faringeal tüp ve ceplerin altından karaciğer tomurcuğuna kadar uzanan kısım ön bağırsak, karaciğer tomurcuğunun altından başlayıp yetişkinde transvers kolonun 2/3 proksimal ve 1/3 distal parçasının birleşim noktasına kadar devam eden kısım orta bağırsak, transvers kolonun 1/3 distalinden kloakal membrana kadar uzanan kısım ise son bağırsak olarak adlandırılır.

Orta bağırsak embriyoda karın arka duvarına kısa bir mezenterle tutunur. Yolk kesesiyle vitellin kanal aracılığıyla bağlantılıdır. Erişkin insanda orta bağırsak koledok kanalının duodenuma açıldığı noktadan başlar ve transvers kolonun 2/3 proksimal ve 1/3 distal parçalarının birleşim yerine kadar devam eder. Orta bağırsağın gelişimi sırasında bağırsak ve mezenterinin hızla uzaması primer bağırsak halkasını oluşturur. Bu halkanın sefalik parçasından, duodenumun distali, jejenum ve ileumun proksimali gelişir. Kaudal parçasından ise distal ileum, çekum, apendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3

proksimal parçası oluşur. Gelişimin daha sonraki evrelerinde allantois ve son bağırsak arasındaki açıdan ürorektal septum gelişir. Bu septum sonra kloakayı önde primitif ürogenital sinüs ve anorektal kanala ayırır. Dokuzuncu haftada anal membran yırtılır ve rektum dışarı açılır. Ürorektal septumdaki sapmalar rektal atrezi veya rektumla mesane, vajen ve üretra arasında fistüllerin oluşmasına yol açar. Gastrointestinal kanal gelişimi sırasında geçici bir dönem solid halde kalır, sonradan rekanalizasyon ile lümeni yeniden açılır. Rekanalizasyon sırasında izole boşluklar ana lümenle tam anlamıyla birleşemediği takdirde duplikasyon, atrezi veya kistler meydana gelir.

Kalın bağırsak anatomik olarak çekum, kolon, rektum ve anal kanal olarak dört bölümde incelenebilir. Üzerinde longitudinal kas liflerinin yoğunlaşması ile oluşan Tenia mezokolika, omentalis ve libera adı verilen şeritler bulunur. Bu şeritler kalın bağırsağı büzerek haustra koli denilen keselenmeleri meydana getirir. Tenia koliler takip edilerek çekumun posteromedial duvarında bulunan apendiks vermiformise ulaşılabilir. İleumun distal ucu, çekum ile çıkan kolonun sınırında, bağırsağın iç-arka tarafında kalın bağırsağa açılır. Bu açılma yerine ostium valva ilealis denir. Bu kapakçık sfinkter gibi çalışarak ileumdan çekuma geçişi kontrol eder.

Çıkan kolon, arka yüzü hariç peritonla örtülüdür. Transvers kolonun ise arka yüzü duodenumun ikinci parçası ve kaput pankreatis ile komşudur. Bu segmentin mezokolon transversum adı verilen mezosu vardır. Sağ ucunun arka yüzü, peritonsuzdur. Kaput pankreatisten fleksura koli sinistraya kadar olan bölümü tamamen peritonla örtülmüştür. İnen kolon arka yüzü hariç tamamen peritonla örtülüdür. Kolon sigmoideum intraperitonealdir. Mezosunun altından sol üreter geçer.

Çekum'un arterleri a. mezenterika superior'un dalı olan a. ileokolika'dır. Bu arterden ayrılan a. appendikularis, apendiks vermiformisi besler. Venleri v. mezenterika superior'a dökülür. Lenfatik drenajı superior mezenterik lenf düğümlerine olur.

Çıkan kolon'un arterleri a. mezenterika superior'un dalı olan a. ileokolika ve a. kolika dekstra'dır. Venleri aynı isimlidir. Lenfatikleri superior mezenterik lenf düğümlerine drene olur.

Transvers kolon'un arterleri a. kolika dekstra, medium ve sinistradan dallar alır. Venleri aynı isimlidir. Lenfatik drenajı superior mezenterik lenf düğümlerine olur.

İnen kolon'un arterleri a. kolika sinistradan beslenir. Venleri arterlerini takip eder. Lenfatik drenajı inferior mezenterik lenf düğümlerine olur.

Sigmoid kolon'un arterleri a. mezenterika inferiorun dalı olan aa. sigmoideadır. Venleri arterlerle aynı isimlidir. Lenfatik drenajı inferior mezenterik lenf düğümlerine olur.

Çekum, apendiks vermiformis, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3 sağ kısmının parasempatik uyarısı n. vagustan, sempatik uyarısı ise çölyak ve superior mezenterik gangliyonlardan (T_{11}-L_1) gelir. Transvers kolonun 1/3 sol kısmı, inen kolon, sigmoid kolon, rektum ve anal kanalın üst kısmı parasempatik uyarısını nn. splankniki pelviki'den, sempatik uyarısını da lomber splanknik sinirlerden (L_{1-2}) alır (1,8-13).

Histolojik olarak incelendiğinde kalın bağırsağın duvarları içten dışa doğru mukoza, muskülaris mukoza, submukoza ve muskülaris eksterna tabakalarından oluşur. Kalın bağırsak mukozasının epitel yüzeyi tek katlı olup sekiz günde bir yenilenir. Bu tabaka epitel ve lamina propriayı içerir (8,11). Kalın bağırsak mukozasında tam kat yayılım gösteren çok sayıda uzun tübüler glandlar olan Lierberkühn kriptleri vardır. Bu kriptler basit kolumnar epitelle döşelidir. Lierberkühn kriptlerinden birçok Goblet hücreleri farklılaşır. Bu hücrelerden salınan mukus feçesi kayganlaştırır ve epiteli luminal içerikten korur. Lamina propria, bölgedeki kriptler arasında bulunan az sayıda lenfatik nodül içerebilir. Muskülaris mukoza içte sirküler veya helikal, dışta longitudinal kas tabakası içerir. Bağırsağın submukozal tabakası özellikle kollajen ve elastin fibrillerinden zengin olması nedeniyle diğer tabakalarından daha fazla doku gerginliğine sahiptir (13). Kalın bağırsağın muskülaris eksternası içte sirküler dışta longitudinal kas lifleri içerir. Kalın bağırsakta yüzeyel submukozal tabakada Meisner pleksusu, derin submukozal tabakada Henle pleksusu ve musküler tabakada da Auerbach pleksusu bulunur. Bu pleksuslar otonom sinir sistemi iletilerini kalın bağırsak dokusuna ulaştırırlar (8,12).

REZEKSİYON ANASTOMOZ İŞLEMİ

Çocuk cerrahisinde kalın bağırsak RA işlemi fonksiyonel sorunları gidermek amacıyla aşağıda belirtilen hastalıkların cerrahi tedavisinde uygulanabilir.

1-Malrotasyon (14)

2-Hirschsprung hastalığı (15)

3-Nekrotizan enterokolit (16,17)

4-İnvajinasyon (18)

5-Kalın bağırsak atrezisi (19)

6-Mekonyum ileusu (20)

7-Meckel divertikülü (20)

8-Volvulus (20)

9-Mekonyum plak sendromu (20)

10-Mekonyum peritoniti (21)

11-Rektal perforasyon (21)

12-Kolonun tam duplikasyonu (22)

13-Mezenterik ve omental kistler (23)

14-Kalın bağırsağın konjenital segmental dilatasyonu (24)

15-Kısa bağırsak sendromu (25)

Primer RA işlemi, durumları stabil ve rezeksiyon sonrası geri kalan bağırsağında doku perfüzyonu iyi olan hastaların cerrahi tedavisinde uygulanır. Primer anastomoz eğer yenidoğanın durumu stabil değilse, bağırsakların perfüzyonu zayıfsa veya bağırsağın diğer bölgeleri iskemi, nekroz veya pnömotozis bulguları içeriyorsa yapılmamalıdır (26). Böyle durumlarda enterostomi yöntemlerinden herhangi birisi tercih edilebilir.

RA yapılacak bağırsakların etrafı batın gazıyla feçesin periton boşluğuna dökülmesini engelleyecek şekilde sarılır. Bağırsak, kesilme noktasının birkaç cm. proksimal ve distalindeki mezenterik kenarından geçirilen kauçuk bandla çevrelenip tutulur. Eğer proksimal ve distal segmenti arasında çap farkı varsa ameliyat sonrası yeterli fonksiyonu sağlamak amacıyla geniş olan uç, damarları korunarak düşey hatta kesilir. Çapı küçük olan uç ise diğer uca çapı uygun gelecek şekilde oblik olarak kesilir. Kesilme noktalarındaki kan desteği mükemmel olmalıdır. Kesilen bağırsak uçlarının mezenterik köşeleri 4/0, 5/0 veya 6/0 polypropylene ya da polydioxanone dikiş materyali ile "inverting mattress" dikişlerle birleştirilir. Antimezenterik köşelere tam yaklaştırmayı kolaylaştırmak amacıyla askı dikişleri konur. Mezenterik ve antimezenterik köşelerden askıya alınan bağırsakların önce arka duvarı aralıklı tek tek veya "inverting connell" dikişlerle mukozal yüzeyde düğümlenir. Daha sonra anterior kenarlar benzer şekildeki dikişlerle serozal yüzeyde düğümlenir. Alternatif olarak "Gambee" veya "Lembert "dikişler de kullanılabilir. Anastomoz uç-uca çok sıkı olmayacak şekilde tamamlandıktan sonra dikiş hattında kaçak olup olmadığını anlamak için test edilir. Gerektiğinde destek amaçlı seroza-serozal Lembert dikişleri konabilir. Bu esnada anastomozun king yapmamasına özen gösterilir. Takiben mezenter defekti tek tek dikişlerle kapatılır. Bağırsaklar ılık serum fizyolojik ile yıkanıp peritoneal boşluğa gönderilir. Postoperatif dönemde bağırsak fonksiyonları başlayana kadar gastrik dekompresyon yapılır (27).

RA yapılan kalın bağırsak segmentinin iyileşme sürecinde oluşabilecek komplikasyonlar sıklıkla anastomoz kaçağı, peritonit, sepsis, darlık, obstrüksiyon, invajinasyon, fistül ve yapışıklık oluşması şeklindedir (4). Ameliyatlardan sonraki ilk dört hafta içinde ortaya çıkan komplikasyonlar genellikle teknik hatalar veya enfeksiyonla oluşur

(28). Hirschsprung hastalığının cerrahi tedavilerinden sonra 439 vakalık 16 merkezli bir uluslararası çalışmada vakaların %7'sinde anastomoz kaçağı, %15'inde anastomoz darlığı ve yapışıklığı, %11'inde yara enfeksiyonu gözlenmiştir. Anastomoz kaçağı genellikle anastomozda yapışıklıkla sonuçlanır (28,29). Göğüs ve batını ilgilendiren ameliyatları gizli invajinasyonlar izleyebilir. Operasyon sonrası invajinasyonların çoğu ilk işlemden sonraki ortalama bir ay içinde yaklaşık onuncu gün civarında oluşur (16,30). İleus ve yapışıklığın oluşturduğu obstrüksiyon barsak tıkanıklığının bir sebebi olarak daima akla gelmelidir. RA yapılan bağırsak segmentinde iyileşme primer yara iyileşmesi şeklinde olmaktadır. Bu nedenle eğer yara iyileşmesinin bütün ayrıntıları net bir şekilde ortaya konabilirse, yukarıda sayılan komplikasyonların en aza indirgenmesi mümkün olacaktır.

YARA İYİLEŞMESİ

Yara iyileşmesi, hasara yanıt olarak gelişen doku tamiri ve yeniden şekillenme sürecidir. Hücrelerin uyarılması, bölünerek çoğalması, kemotaksis, göç ve birçok hücreye farklılaşma olayları koordinasyon içinde gerçekleşmektedir. Bağırsakların RA'sında primer yara iyileşmesi şeklinde olan yara iyileşme süreci üç bölümde incelenebilir:

Hemostaz ve enflamasyon

Proliferasyon

Maturasyon ve yeniden şekillenme

Bu süreçlerden birinde uzama veya yetersizlik, iyileşmenin gecikmesi veya yaranın kapanmamasıyla sonuçlanır (31).

Hemostaz ve Enflamasyon

Yaralanmada yara yerine ilk önce kan ve serum dolar. Damarların kopmasıyla subendotelyal kollajen açığa çıkar. Yabancı cisim olarak algılanan kollajen yüzeyine trombositler kümelenir ve koagülasyon kaskatının intrinsek yolu uyarılır. Koagülasyon kaskatının uyarılmasıyla oluşan trombin ile ortamda bulunan fibronektin ve tombositlerin α granüllerinden; sitokinler, trombositten türeyen büyüme faktörü (TTBF), transforme edici büyüme faktörü–β (TEBF-β), trombosit uyarıcı faktör (TUF) ve serotonin gibi faktörler salınır (Tablo 1). Ayrıca makrofaj ve monositlerden interlökin-1 (IL-1), tümör nekroz faktör-α (TNF-α) salınır. Lokal olarak oluşan fibrin pıhtısı ise nötrofiller, monositler, fibroblastlar ve endotelyal hücreler için bir yapı iskeleti oluşturur. Bu faktörler, bakteriyel ürünler, damarsal

geçirgenlikte artma buraya nötrofil göçünü uyarır. Dolaşımdan yaraya hücrelerin kemotaksisi olur. Yetersiz pıhtı oluşumunda ve F XIII (fibrin stabilleştirici faktör) eksikliğinde görüldüğü gibi ya hasarlaşan bölgede hücrelerin yapışması ya da kemotaksisin azalmasına bağlı olarak yara iyileşmesi gecikir. Endotel hücre yüzeyindeki reseptörler olan selektinler nötrofillere endotele yapışması için yardım ederler. Nötrofil hücre yüzeyindeki integrin reseptörleri ise bunların ekstraselüler matrikse bağlanmasına yardım ederler.

Hücrelerin bir kimyasal uyarıya karşı cevabı hücre yüzey reseptörleriyle düzenlenir. Hücreler yalnız özgül reseptör cevabı verirler. Örneğin TTBF-β, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için oldukça kuvvetli bir kimyasal uyarıcıdır. Fakat endotelyal, epitelyal hücreler ve lökositlerin kemotaksisi TTBF-β'nın uyarısından etkilenmez. Sitokinler ve büyüme faktörlerinin hücrelere olan etkisi daha özgüldür. Birçok faktör doz bağımlı olarak hem kemotaksisi hem de proliferasyonu uyarır. Örneğin doku büyüme faktörü-β (DBF-β) femtomolar dozda monositlere karşı kimyasal uyarıcı olarak etkili iken, fibroblastlardaki kollajen sentezini artırmak için nanomolar düzeyinde dozları gereklidir. Yine TTBF'ü 100 kez düşük konsantrasyonda fibroblastlara kimyasal uyarıcı olarak etkiliyken, onların çoğalmasını uyarmak için daha yüksek konsantrasyonu gereklidir. Yara sıvısında inaktif şekilde salgılanmış olan birçok büyüme faktörleri vardır (Tablo 1) (32). Ortamdaki tüm hücrelere etki ederek onların kimyasal olarak uyarılması ve çoğalmasına sebep olurlar.

Yara iyileşmesinde rol oynayan sitokinler dolaşımdaki hücrelerin, enflamatuar ve immun yanıtın gelişimi ile düzenlenmesinde aracılık eden peptid veya glikoprotein yapıdaki, kimyasal ileti moleküleridir. Sitokinler membrandaki reseptörleri veya çözünebilen reseptörleri aracılığıyla etki göstermektedir. Esas olarak T hücreleri ve makrofajlarda üretilen sitokinler yara sıvısında inaktif halde bulunan büyüme faktörlerini uyarırlar. Ayrıca monosit, B hücreleri ve doğal öldürücü hücreler gibi immun sistem hücreleri yanında fibroblastlar, kuppfer hücreleri, endotel hücreleri, sertoli hücreleri, mast hücreleri ve düz kas hücreleri gibi immun sistem dışı hücrelerce de salgılanır. Örneğin yaralanma sonrasında makrofaj ve monositlerden salınan IL-1, TTBF'nin salınımını artırarak fibroblastların çoğalmasını uyarır.

Tablo 1. Yara iyileşmesindeki hemostatik, trombositten türeyen ve diğer faktörler

Trombositten türeyen faktörler	**Fonksiyonu**
Sitokinler, büyüme faktörleri	Kimyasal uyarı, mitogenez ve fibroplazinin düzenlenmesi
Trombosit uyarıcı faktör	Trombosit agregasyonu
Tromboksan A_2	Vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu, kemotaksis
Trombosit faktör IV	Fibroblast ve monositler için kimyasal uyarıcı, heparin aktivitesi düzenleyicisi, kollajenaz inhibitörü
Serotonin	Vasküler geçirgenliği artırır, nötrofiller için kimyasal uyarıcı
Adenosin dinükleotid	Hücre çoğalması ve göçünün uyarılması, trombosit agregasyonu oluşturulması
Trombositten türeyen büyüme faktörü	Proliferasyon, kemotaksis, matriks sentezi
Fibroblast büyüme faktörü	Anjiogenezis ve proliferasyonun uyarılması
Transforme edici büyüme faktörü-β	Matriks sentezi ve proliferasyonun artırılması
Hemostatik faktörler	**Fonksiyonu**
Fibrin, plazma fibronektini	Koagülasyon, kimyasal uyarıcı, adezyon, göç eden hücreler için yapı iskeleti oluşturma
Faktör XIII (fibrin stabilizan faktör)	Kimyasal uyarı ve adezyonun başlatılması
Dolaşan büyüme faktörleri	Kimyasal uyarı, mitogenez ve fibroplazinin düzenlenmesi
Kompleman	Antimikrobial aktivite, kimyasal uyarı oluşturma
Diğer faktörler	**Fonksiyonu**
Fibronektin	Trombosit agregasyonu için ligand, matriks öncüsü
Vasküler endotelyal büyüme faktörü	Anjiogenezis, vasküler permeabilite artışı
Epidermal büyüme faktörü	Epitelizasyon ve proliferasyonun uyarılması

Ayrıca fibroblastlardaki kollajenaz sentezi yanında kollajeni de uyarır. Net etki ise matriks döngüsündeki artıştır. Yine yara onarımı sırasında endotelyal hücreleri, anjiogenezis ve hemostazisi etkileyerek prostaglandin-E_2 (PGE_2) gibi vazodilatatör etkili olan faktörlerin sentezini de uyarır. TNF-α aktivitesi enflamasyonun erken safhasında görülür ve yaralanmadan 3 gün sonra pik yapar. Sonra hızla azalır. TNF-α'nın fibroblastlarda kollajen

üretimi etkileri tek yönlü değildir. Kültür şartlarında fibroblastlarda kollajen sentezini hem artırdığı hem de azalttığı gösterilmiştir. Kollajenaz aktivitesi TNF-α ile azaltılırken fibroblastların çoğalması ve anjiogenezis hızlanır.

Kimyasal uyarıyla hücrelerin yara yerine gidişi, hedef hücrede oluşturduğu fonksiyonel uyarılarıyla izlenir. Uyarılma yeni hücre yüzey antijen salınımını başlatıp sitotoksisiteyi, sitokinlerin salınımı ile üretimini ve diğer fenotipik değişiklikleri artırır. Yara iyileşmesi için tüm hücrelerin başarılı bir şekilde uyarılması gerekmektedir.

Makrofajlar, lenfositler ve nötrofiller enflamasyon sırasındaki esas hücreler olmasına rağmen bakteriyel bulaşın eşlik etmediği yara iyileşmesinde makrofaj ve lenfositler, nötrofillerden daha önemli rol oynarlar. Uyarılan makrofajlar debridman, matriks sentezi ve anjiogenezis gibi yara iyileşmesinin birçok basamağında temel rol oynar. Makrofajların uyarılması anjiogenezis ve fibroplaziyi uyaran sitokin salınımı yanında antimikrobial özellikleri içeren ve birçok fonksiyonları olan nitrik oksit (NO) sentezine de neden olur. Endotelyal hücreler, fibroblastlar, monositler ve lenfositler gibi yara iyileşmesinde rol alan diğer birçok hücreler in vitro uyarıldıklarında NO oluşturmada rol alırlar. Son çalışmalar kötü yara iyileşmesinde NO sentezinin azaldığını, in vivo nitrik oksit sentaz'ın (NOS) inhibisyonunun da yara iyileşmesini bozduğunu göstermiştir. Uyarılan makrofajlardan salınan sitokinlerle aktif hale gelen lenfositler de interferon-γ (INF-γ) daha sonra TNF-α ve IL-1 gibi diğer sitokinlerin salınımına neden olur.

Fibroblastların fenotipik değişiklikleri esas olarak makrofajlardan türeyen sitokinlerce oluşturulur. Miyofibroblastik fenotipin DBF-β_1'ce oluşturulduğu gösterilmiştir. Örneğin ekstraselüler matriks molekülü olan fibronektinin senteziyle desteklenen hücre yapışması, myofibroblastlarda fenotipik değişikliklerle sonuçlanır (31-33).

Proliferasyon

Bu aşamada rol oynayan temel hücreler fibroblastlar ve endotelyal hücrelerdir. Makrofajlar ise otokrin ve parakrin mekanizmayla sitokin ve büyüme faktörlerini oluştururlar. Büyüme faktörleri ve sitokinler esas olarak trombositler ve uyarılmış makrofajlardan türeyen fibroblastlar ile endotelyal hücrelerinin çoğalmasından sorumludur. Çevre dokularda durağan halde bulunan fibroblastlar TTBF ve epidermal büyüme faktörü (EBF) gibi birçok faktörlerce uyarılıp çoğalırlar. Yara iyileşmesi sürecinde fibroblastlar çevre dokulardan yaraya doğru hareket ederken zedelenmemiş venüllerden de endotelyal hücreler yeni damar oluşturmak ve yarayı kapatmak için çoğalırlar. Bunun yanında proliferatif aşamanın durdurulması sinyalinin

nasıl olduğu da tam bilinmemektedir. Fenotipik değişiklikler oluştuktan kısa bir süre sonra bu aşama durmaktadır. Negatif feedback mekanizmasının rolü olabileceği bildirilmiştir (31).

Maturasyon ve Yeniden Şekillenme

Maturasyon aşamasının esas özelliği yarada kollajen depolanmasıdır. Klinik olarak bakıldığında iyileşmenin en önemli aşaması budur. Çünkü hız, kalite ve matriks birikiminin toplam miktarı skarın gerginliğini belirler. Birçok iyileşme bozukluğu zayıf kollajen depolanması nedeniyle gelişir.

Zedelenmede dört hücre içi sistem yaralanır:

a) Membran bütünlüğü
b) Aerobik solunum
c) Protein sentezi
d) Genetik yapı

RA uygulanan bağırsak segmenti örneklemesinde olduğu gibi yara iyileşmesi sırasında hücre içi ortamında gelişen bu olaylar ve hücre büyümesindeki moleküler değişiklikler şu şekilde özetlenebilir: Serumda dolaşan polipeptid büyüme faktörleri protoonkojen olarak adlandırılan normal büyüme kontrol yollarını etkileyen gen ekspresyonlarıyla hücre çoğalma ve büyümesini uyarır. Hücre büyümesi, hem hücre yüzeyi hem de hücre içindeki spesifik reseptörlere büyüme faktörlerinin bağlanması ile başlar. Reseptör aktivasyonu ile uyarılan fosfoproteinler sekonder effektör moleküllerine bağlanarak sinyal iletimi yaparlar. Uyarılan reseptörler GTP-bağlayan proteinler, fosfolipaz-c, fosfotidilbiofosfat, inositoltrifosfat ve diaçilgliserol gibi sekonder sinyal molekül reseptör proteinlerini katalizler. Bu ikinci uyarılar kaskadı büyüme sinyallerini çekirdeğe taşıyarak büyüme düzenleme genlerinin büyük kısmını uyarırlar. Hücre siklusuna hücrelerin girmesi ve ilerlemesi ise siklin denen bir grup proteinin hücre içi yoğunluğu ve aktivitesi ile kontrol edilir. Kinaz kaskadı sonuçta nükleer transkripsiyonun uyarılması ile DNA sentezi ve hücre bölünmesini başlatır.

RA uygulanan bağırsak segmentindeki hücredışı ortamı, yapısı ve hücre matriks etkileşimi: Hücredışı ortamı proteoglikanlar ve glikozaminoglikan jel içinde bulunan kollajen ve elastinden oluşan fibröz yapısal proteinler ile hücreler arası ortamın bileşiminden oluşur. Yaşayan hücrelerin yapışmaları, büyümeleri, hareketleri ve farklılaşması hücre dışı ortamı tarafından düzenlenir. Hücre dışı ortamının üç esas bileşeni vardır:

1-Yapışıklık oluşturan glikoproteinler: Görevleri hücre dışı ortam bileşenlerini ve hücreleri birbirine bağlamaktır.

a-Fibronektin: Disülfit bağları ile bağlı fibroblastlar, monositler, endotel hücreleri gibi değişik tipte hücrelerde sentezlenen heterodimerlerdir. Fibronektin kollajen, fibrin, heparin, proteoglikanlar gibi hücre dışı ortamı proteinlerine ve hücre integrinlerine bağlanan özgül maddeler içerir. Fibronektin plazmada çözünür şekilde bulunur. Jelatin kaplı yüzeylere hücrelerin yapışmasını sağlar. Yaraların erken iyileşme evrelerinde çoğunluğu plazmadan köken alan büyük miktarlardaki fibronektin hücre dışı ortamda birikir ve fibroblast ile endotelin büyümesini başlatır.

b-Elastin: Dokuların genişleme ve kasılmasını sağlar.

c-Laminin: Büyük yapıştırıcı glikoprotein molekülüdür. Hücreleri Tip IV kollajen ve heparan sülfat ile bağlar.

d-İntegrinler: α ve β subünitleri olan transmembran hücre yüzey reseptörleridirler. α_1 β_1 integrinler esas olarak mezankimal hücrelerce salgılanırlar ve kollajen bağımlı yapışıklık, migrasyon, jel kontraksiyonu ile yara iyileşmesinin tüm ana özelliklerini düzenlerler.

e-Hücre yüzeyinde sentezlenen diğer önemli yapışma molekülleri arasında endotelyal lökosit yapışma molekülü (ELYM), hücreler arası yapışma molekülü-1 (HAYM-1) ve vasküler hücre yapışma molekülü-1 (VHYM-1) bulunmaktadır. ELYM-1 yalnız endotelde, HAYM-1 ve VHYM-1 aynı zamanda monosit, lenfosit ve hepatositlerde sentezlenmektedir.

f-Hücresel yapışma molekülleri arasında yer alan ve kalsiyuma bağlı proteinler olan selektinler, lökosit ve uyarılmış endotel hücreleri yüzeyinden salınırlar. Enfeksiyon sırasında lökositlerin endotele bağlanması, lökositlerin endotel boyunca yavaş ve geriye dönüşümlü yuvarlanmaları selektin ailesi (L-, P-, ve E-selektinler) tarafından yönlendirilmektedir.

2-Proteoglikanlar: Dermatan sülfat ve heparan sülfat gibi glikozaminoglikanlardan oluşan bu moleküller, hücre dışı ortamı yapı ve permeabilitesinin düzenlenmesine yardım ederler (31-33).

3-Kollajen: Tüm vücut proteininin %30, toplam vücut ağırlığının ise %6'sını oluşturan kollajen, insan vücudunda en yaygın olarak bulunan proteindir. Kollajen, çok hücreli canlılarda vücudu şekillendiren ve vücudun iskeletini oluşturan bir protein olup bağ dokusunun başlıca makro molekülüdür. Tüm dokularda değişik oranlarda bulunur. Tanımlanan en önemli beş tipi mevcuttur (Tablo 2) (32). Kollajen moleküllerinin en belirgin özellikleri üçlü zincir ve sarmal yapıda olmalarıdır. Her üçlü sarmal 280x1.5 nanometre boyutundadır. Kollajen molekülünün diğer bir özelliği de tüm zincirlerinin glisin içermesidir. Kollajen zincirlerinde glisin temel aminoasittir ve buna bağlı iki α_1 ve bir α_2 zincir ile yapı tamamlanır. Memelilerde α_1 zinciri 100 kadar prolin, 100 kadar 4-hidroksiprolin içerir. Bu rijit aminoasitler polipeptid iskeletin rotasyonunu kısıtlar ve üçlü sarmalın kararlılığını artırır.

Hidroksiprolin intramoleküler hidrojen bağları yaparak kararlılığı daha da artırır. Matür kollajen o-glikozidik bağ ile sakkaridlerin hidroksilizine bağlanması ile oluşan bir glikoproteindir. Kollajen hücre dışı bir glikoprotein olmasına karşın hücre içinde granüllü endoplazmik retikulumda sentezlenir. İlk öncül preprokollajen 100 aminoasitlik bir zincirdir. Ribozomlarda sentezini takiben endoplazmik retikulumun veziküler yüzüne atılır. Burada prokollajene dönüşür. Hücre sitoplazmasında prolin ve lizinin bir kısmı, prolin ve lizin hidroksilazın indüklemesi ve ortamda oksijen, demir, askorbik asit ve alfa-keto-glutarat varlığında hidroksillenir. Üçlü sarmalın oluşmasından sonra prolin ve lizin hidroksilasyonu artarak devam etmez. Prolin hidroksillenmezse alfa zincir bozulur ve kollajen sentezi durur. Moleküllerde hidroksilize glikozu veya galaktozu bağlayan glikozil transferaz aktivitesi için zincirin henüz sarmal halini almamış olması gerekir. Hücre içi gerçekleşen bu işlemi takiben glikozillenmiş prokollajen molekülü golgi aygıtı yolu ile hücre dışına ulaşır. Hücre dışına çıkan prokollajenler sıra ile amino ve karboksi terminallerini atarlar. Yeni şekillenen kollajen molekülü her zincirde 1000 amino asit içeren yapı kazanır ve kollajen molekülünü oluşturur. Bu zincirler henüz gerilme direncine sahip değillerdir. Aralarında karşılıklı kovalent bağların oluşumu ile gerilme direnci kazanırlar. Kollajenin yapısında yoğun olarak bulunan hidroksiprolin, glutamat amino asitlerindendir. Prolinden oluşur. 3-hidroksiprolin ve 4-hidroksiprolin olarak da memelilerde bulunur. En yaygın olarak kollajen yapısında bulunan 4-hidroksiprolindir. Kollajen, 1/3 glisin, 1/3 prolin ve 1/3 oranlarındaki hidroksiprolinden oluşur. Diyetle alınan prolin, hidroksiprolinin öncülüdür. Prolin ve lizin hidroksilasyonu; mikrozomal enzimlerle deri, akciğer, karaciğer, kalp kası, iskelet kası ve yara yüzeylerinde prolin hidroksilaz ve lizin hidroksilaz ile sağlanır (31–34). Hidroksiprolin vertebralıların dokularında kollajen içinde yaklaşık %14 oranında bulunur. Hidroksiprolinin kollajen içindeki bu dağılımı, bu aminoasidi kollajen metabolizması çalışmaları için tercih edilecek bir marker yapar. Bağırsağın submukozal tabakası özellikle kollajen ve elastin fibrillerinden zengindir. Bu özelliğiyle barsak duvarının diğer tabakalarından daha fazla doku gerginliği olan dayanıklı ve fibröz bir tabaka konumundadır. Bu nedenle submukoza tabakası RA'nın iyileşmesi aşamasında temel destek katmanı niteliğindedir (35-37).

Yara iyileşmesinde rol alan bir diğer temel yapı endotel dokusudur. Endotel kan ile damar duvarını oluşturan düz kaslar arasına lokalize olmuş, mezoderm kaynaklı, damar iç yüzeyini örten ve tek katlı yassı epitel yapısındadır. Yüzeyinde çok sayıda reseptör taşımaktadır. Çevre faktörlerine yanıt olarak endotelin ürettiği birçok damar uyarıcı maddeler şu şekilde sıralanabilir:

a-Vazodilatörler: Prostasiklin, NO. NO; L-Argininin sitrülline dönüşümünde oluşan ve eşleşmemiş elektronu bulunan iki atomlu gazdır. Endotel kaynaklı düz kas gevşemesi ve trombosit agregasyonunun inhibisyonu başta olmak üzere nörotransmisyon, sitotoksisite gibi birçok fizyolojik olayda işlev görmektedir. Düz kas hücrelerindeki çözünebilen guanil siklazı aktifleyen NO, protein kinaz G relaksasyonu sağlamaktadır.

b-Vazokonstriktörler: Endotelin I, Anjiotensin II, Tromboksan A_2, Anjiotensin konverting enzim (ACE).

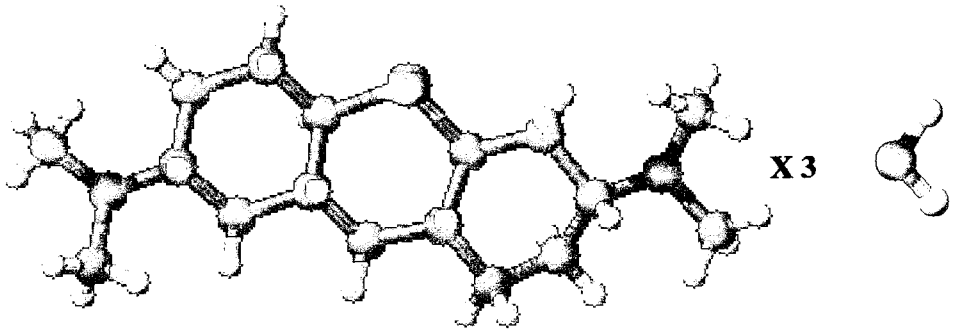
c-Hücresel yapışma molekülleri: VHYM-I, HAYM-I, ELYM.

d-Büyüme molekülleri: Vasküler endotel büyüme faktörü, Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü, Bazik fibroblast büyüme faktörü, İnsülin benzeri büyüme faktörü, TEBF-β, FVIII, Doku plazminojen uyarıcısı, Trombomodülin, Antioksidan enzimler, IL8, Sitokinler, Heparansülfat proteoglikan, Trombosit uyarıcı faktör (38).

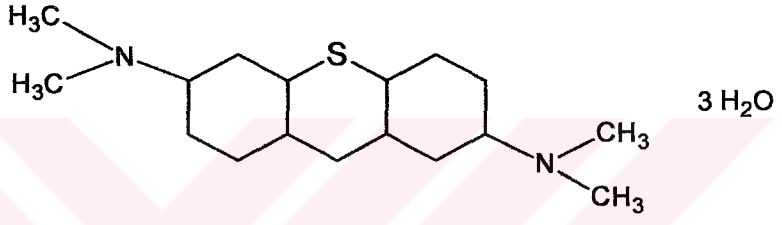
Tablo 2. Önemli kollajen tipleri (32)

Tip	Kompozisyon	Lokalizasyon	Fonksiyonları
I	$[\alpha 1(\text{I})]^2\ \alpha 2(\text{I})$	Deri, kemik, tendon, ligament, dentin, sklera, fasya ve organ kapsülleri	Gerilme direnci Sağlar
II	$[\alpha 1(\text{II})]^3$	Hyalin ve elastik kıkırdak, notokord ve intervertebral disk	Şekil ve deformasyona direnç oluşturur
III	$[\alpha 1(\text{III})]^3$	Uterus, karaciğer, dalak, böbrek, akciğer gibi organlar, düz kas, endoneurium, kan damarları ve fötal deri	Yapısal destek elastisite sağlar
IV	$[\alpha 1(\text{IV})]^3$ veya $[\alpha 2(\text{IV})]^3$	Epitelyal ve endotelyal hücrelerin bazal laminası, böbrek glomerülü ve lens kapsülü	Destek ve filtrasyon bariyeri sağlar
V	$[\alpha 1(\text{V})]^2\ \alpha 2(\text{V})$	Düz ve çizgili kas hücrelerinin bazal laminası, Schwann ve glial hücreler, plasental epitel	Destek sağlar

METİLEN MAVİSİ



•Azot ○Karbon ○Kükürt ○Hidrojen Oksijen



Şekil 1. Metilen mavisinin moleküler formülü

Metilen mavisi koyu yeşil renkli, kokusuz, kristal tozdur. Su, alkol ve kloroformda erir. Moleküler formülü $C_{16}H_{18}ClN_3S.3H_2O$'dur (Şekil 1). Moleküler ağırlığı 373,9 gr/moldur.

MM oral alınışını takiben %74 oranında lökometilen mavisi şeklinde idarla atılır. Küçük bir miktarı değişmeden idrarla, kalan kısmı da safra yoluyla atılır (39,40).

MM'nin bilinen etki mekanizmaları şöyledir: Ksantin'in ürik asite dönüşümünde ksantin oksidazın Fe-S merkezindeki moleküler oksijenle yarışarak süper oksit ve hidroksil radikali üretimini inhibe eder (41–44). Salaris ve ark.(44) MM'nin etkisinin, lökometilen mavisi oluşturmak için elektron akımının normal yönünü keserek bir parazitik elektron toplatıcısı olduğunu göstermişlerdir. Böylece serbest oksijen radikallerinin üretimi basamağı atlanmaktadır. MM doku oksidazları için alternatif elektron kabul edici olarak, moleküler oksijenin süperoksite indirgenmesini yarışmalı olarak inhibe eden yeni bir antioksidan ilaç olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir. Ayrıca MM'nin primer olarak ksantin oksidaz gibi flavo enzimlerden elektron transferi için oksijenle yarışarak süper oksit gibi oksijen radikallerinin üretimini inhibe ettiği bilinmektedir. MM serbest oksijen radikal oluşumunu inhibe eder (41,42,45,46). Hücrede guanozin monofosfat'ın siklik guanozin monofosfat (cGMP)'a dönüşümünü sağlayan guanilat siklaz enzimini inhibe eder. Çeşitli durumlardaki

hipotansif hastalıklarda tek doz MM'nin kullanıldığı çalışmaların hepsinde, guanilat siklazın ve endotelyal nitrik oksit sentazın inhibisyonu gösterilmiştir (47). MM ferrik demirin ferros şekline indirgenmesini uyararak methemoglobinemi oluşturmak için pyridine nükleotidleri olan NADPH ve NATPH'ı indirgeyerek elektron transferinde bir elektron kabul edici olarak etki eder (44–48). Düşük moleküler ağırlıklı, özellikle yağda eriyebilen ve vital boya olan MM guanilat siklaz inhibitörü olarak da bilinir. MM guanilat siklaz'ın NO bağlayıcı reseptörünü bloke ederek aktive olmasını engeller. Böylece nitrik oksidin düz kas gevşetici etkisinin oluşmasını engeller (42).

MM insanlarda tıbbi amaçlarla kullanılan ve toksik olmayan bir maddedir. İlaç reperfüzyonda doku hasarlanmasını azaltmada rol oynayabilir (44,47). Üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde bir üriner antiseptik olarak kullanılan bu madde mavi boyama özelliği nedeniyle bir tanı koydurucu ajan olarak da kullanılır (49). Paratiroit bezinin intraoperatif belirlenmesinde boyama amacıyla 5 mg/kg MM, 500 ml serum fizyolojik veya %5 dekstroz içinde 1 saatlik sürede infüze edilir (50). Barret özefagusu ve çöliak hastalığının endoskopik cerrahisi sırasında çıkarılacak segmentin işaretlenmesi (tatuaj) amacıyla MM kullanılır. MM normal özefagus yassı epitelince alınmaz. Ancak kardiada kolumnar epitel metaplazisi gelişmişse, bu değişime uğrayan hücreler MM'sini tutar. Böylece Barret özefagusunda metaplazik epitelin sınırları belli olur ve uygun yerden biyopsi yapılabilir. Çöliak şupru hastalarında duodenumdaki mozaik patern benzeri epitelial değişikliklerin tanısı yapılabilir (51). Methemoglobineminin tedavisi amacıyla MM verildikten sonra difosfopiridin nükleotid koenzimiyle bir lökobazına dönüşür. Lökometilen mavisi H^+'i H_2O_2'ye indirger. Oluşan H_2O_2 başlangıçta hekzosmonofosfat şantıyla detoksifiye edilir. Şantın kapasitesi aşılırsa biriken H_2O_2 membran lipitlerini ve hemoglobini oksitler. Lipit membranlar hasarlanır ve oluşan heinz cisimleri de hemoliz yapar (48,52). İdiopatik methemoglobinemide %1'lik solüsyonundan 1-2 mg/kg İV olarak birkaç dakikada verilebilir. Ayrıca fistül araştırılması gibi tanı koydurucu işlemlerde boya olarak kullanılır (50).

MM'nin yan etkileri; cilt altına enjekte edildiğinde nekrotik apse, yeşil-mavi renge boyama, iskemik ülserasyon, nekroz, submukozada eozinofilik infiltrasyon ve damar duvarında fibrinoid nekroz, bulantı, diyare, olabilir (44,49). MM Glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz eksikliği olanlarda hemolitik anemi oluşturur (53,54). MM intraperitoneal verilişinden 7 gün sonrasında laparotomide gözle görülmez hale gelir. Yalnızca mikroskobik olarak makrofajlarda partiküller halinde kalır. MM septik şoklu hastalarda gaz değişimi ve hemodinamiyi etkilemesini değerlendirmek amacıyla 3 mg/kg'a kadar dozda kullanılmış,

ancak daha yüksek dozlarda arteryel oksijenasyonda kötüleşme gözlenmiştir (47). İV MM'nin yarılanma ömrünün 5–6,5 saat arasında olduğu David ve ark. (55) tarafından rapor edilmiştir.

MM'nin kontrendikasyonları; ilaca karşı bilinen duyarlılık, ciddi renal yetmezlikli hastalar, glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz eksikliği olan hastalar, klorat veya siyanür zehirlenmesi nedeniyle olan methemoglobinemi, intratekal ve cilt altı infüzyon, gebelik olarak bildirilmiştir (50,53).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuarı'nda yerel etik komiteden 22.05.2003 tarihinde izin alındıktan sonra yapıldı (Ek 1). Düzenli olarak 12 saat ışık-karanlık ve 21^0C'lik ısı ortamındaki laboratuvarda, erkek Wistar Albino sıçanlar (n: 30) kullanıldı. Standart sıçan yemi ve şebeke suyu ile "ad libitum" beslenen, ağırlığı 287–360 gr. arasındaki denekler rasgele seçilip üç gruba ayrıldı.

Grup I; (Sham, n=10), Grup II; Rezeksiyon-Anastomoz (RA; n=10), Grup III; Rezeksiyon-Anastomoz Metilen Mavisi (RAM; n=10) olarak adlandırıldı. Denekler çalışma öncesi 8 saat süre ile aç bırakıldı, yalnızca su almalarına izin verildi. Genel anestezi %2'lik Xylazine 10mg/kg (Rompun, Bayer, İstanbul) İM ve Ketamin HCI 50 mg/kg (Ketamin, Eczacıbaşı, İstanbul) İM verilerek oluşturuldu.

Grup I (Sham grubu): Steril şartlar altında orta hat insizyonuyla laparotomi yapıldı ve insizyon iki tabaka olarak 4/0 polyglycolic asit ile dikilerek kapatıldı.

Grup II (RA grubu): Steril şartlar altında laparatomi yapılıp, peritonsal defleksiyonun yaklaşık 2 cm. proksimalinde kalın bağırsak rezeksiyonu ve 6/0 atravmatik polyglycolic asit ile tek kat uç-uca dikilerek anastomoz yapıldı.

Grup III (RAM grubu): Grup II'nin işlemlerine ek olarak %1'lik metilen mavisi (c.1.52015 Merck, Germany) 1 mg/kg dozunda tek doz intraperitoneal olarak verildi.

Anastomoz iyileşmesi; mekanik göstergesi olan patlama basıncı, biyokimyasal göstergesi olan hidroksiprolin düzeyi ve anastomoz yapılan dokunun histopatolojik İncelenmesiyle değerlendirildi (37,56).

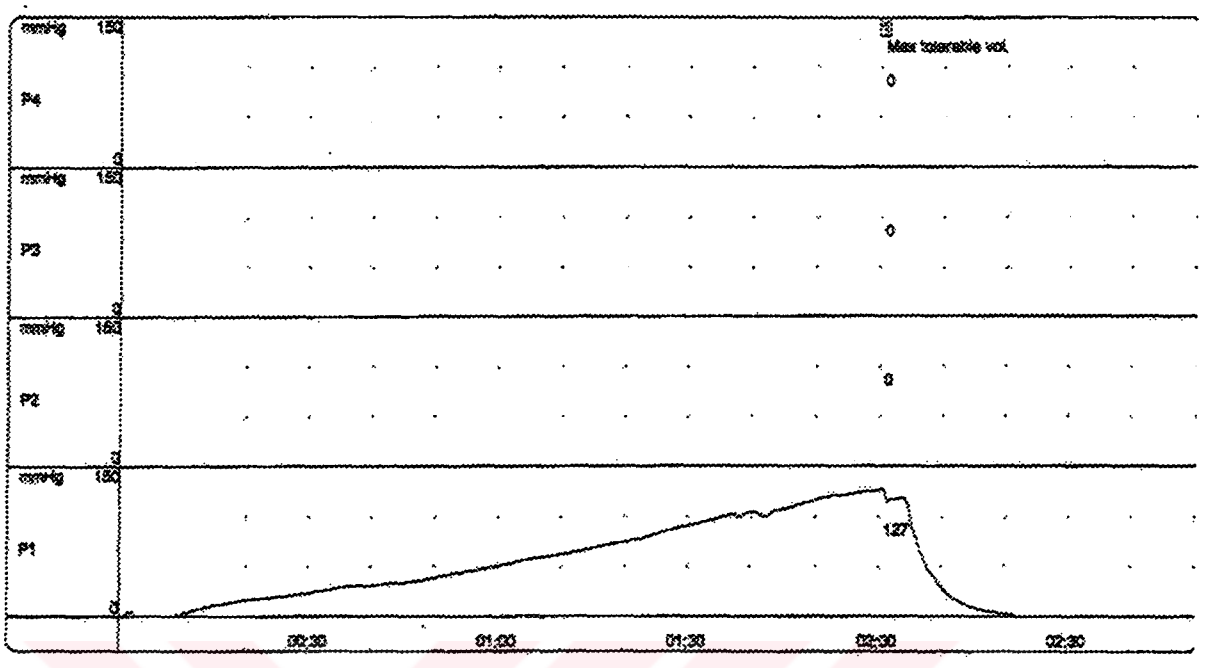
MEKANİK ÇALIŞMA

Bağırsak anastomozu yapıldıktan sekiz gün sonra yoğun eter ortamında geri dönüşümsüz uyutulan deneklerin kalın bağırsağındaki anastomoz bölgesini içeren segmentin patlama basıncı kliniğimizdeki, manometre cihazıyla (Mui Scientific Mississauga, Ontario, Canada) değerlendirildi. Çalışmanın 8. günü deneklerden alınan kalın bağırsağın RA bölgesini içeren 5 cm.'lik segmenti içine yerleştirilen anal manometre probu proksimal ve distalden 2/0 ipekle bağlanıp, verilen sıvı basıncının dokuda patlamanın oluşturduğu an (Resim 1, 2, 3) dijital olarak ekranda Q_{max} değerinin görülmesiyle saptandı. Q_{max} değeri yazıcıdan grafiksel ve sayısal (mmHg) olarak alındı (Grafik 1). Patlama basıncı ölçümünden sonra anastomozun birer cm.lik proksimal ve distalini içeren kalın bağırsak segmenti, uzun ekseni boyunca kesilerek ikiye ayrıldı. Örneklerden birinin kurutma kağıdıyla nemi alındı. Hidroksiprolin incelemesi için alüminyum folyoya sarıldı ve -70^{0}C'de saklandı. Diğer parça da histopatolojik inceleme için %10'luk formolde tespit edildi (13,35,36,57).

BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA

Çalışma gününe kadar doku örnekleri -70^{0}C de saklandı. Çalışma günü çözülen doku örneklerindeki dikiş materyali uzaklaştırılarak yüzeylerindeki nem kurutma kağıdı ile alındı. Örnekler elektronik terazi ile tartıldıktan sonra, serum fizyolojik ile Potter tipi cam homojenizatör (Heidolph-RZR 2021) kullanılarak %20 (20gr/ml)'lik homojenatlar hazırlandı. Homojenatlar daha sonra 1500 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. İşlem elde edilen süpernatantlara eşit hacim HCl katılarak 16–18 saat hidroliz edilerek Kivirikko ve ark. (58,59) tanımladığı prensibe dayanan hidroksiprolin kiti (Hypronosticon, Organon Teknika B.V., Boxtel, Holland) ile sürdürüldü. Oluşan renkli bileşiğin absorbansı 560 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Doku hidroksiprolin miktarı µg/mg yaş doku olarak hesaplandı. Kollajen konsantrasyonu her 1 mg yaş dokuda µg hidroksiprolin olarak ölçüldü.

Grafik 1. Patlama basıncı grafiği

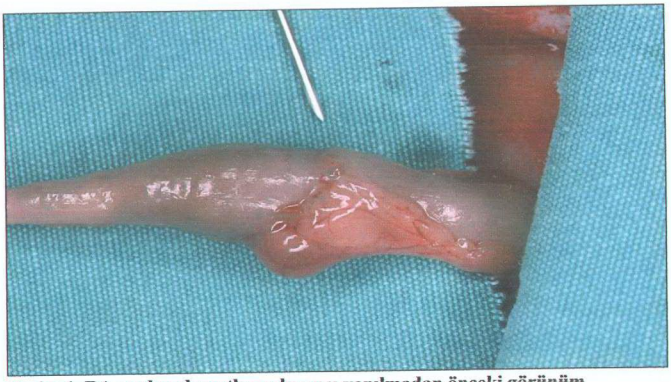


Marker overview

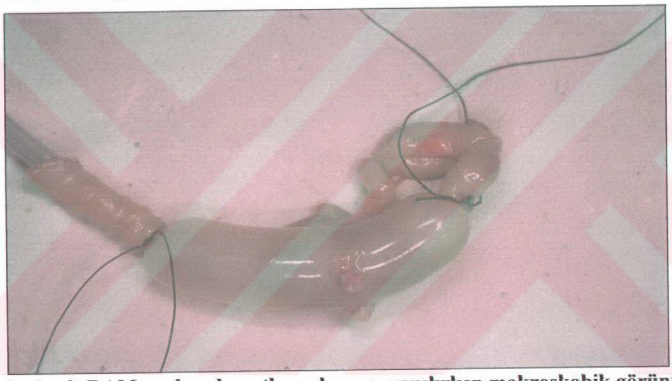
Marker name	Zaman	P1	P2	P3	Vin
Max tolerable vol.	0:02:01	127	0	0	0

Marker overview

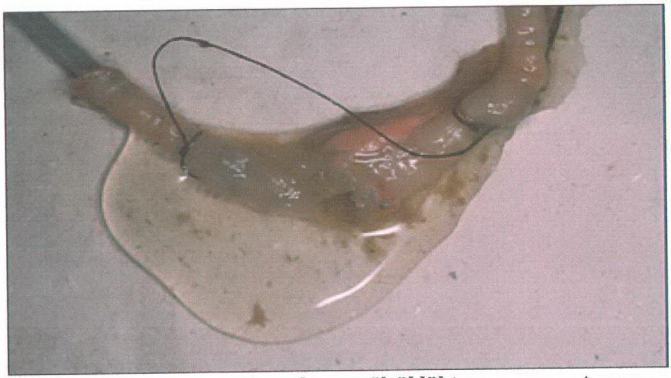
Marker name	Marker comment
Max tolerable vol.	Patlama basıncı s1 127mmHg



Resim 1. RA grubunda patlama basıncı yapılmadan önceki görünüm



Resim 2. RAM grubunda patlama basıncı yapılırken makroskobik görünüm



Resim 3. RA grubunda patlama basıncı ölçüldükten sonra anastomoz hattındaki açılma

HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA

Doku gerginliği ölçümünden sonra %10'luk formolde tespit edilen dokuların daha sonra parafine gömülmesiyle hazırlanan bloklardan 5 mikronluk kesitler hazırlandı. Kesitler Hematoksilen Eozin (HE) ve Trichrom-Masson (TM) ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Kalın bağırsağın tüm tabakalarındaki vaskülarizasyon, fibroblast artışı, enflamatuar reaksiyonu incelendi. Mukoza hasarı içerdiği bez epiteli ve ara gevşek bağ dokusu açısından değerlendirildi. Muskülaris mukozanın içte sirküler, dışta longitudinal kas tabakası ve çevresindeki kollajen depolanması incelendi. Submukozadaki bağ dokusu sempatik sinirlerinin Meissner postganglionik fiberleri ile parasempatik sinirlerin ganglionik-postganglionik fiberleriyle değerlendirildi. Muskülaris eksternadaki içte sirküler dışta longitudinal kas lifleri ve myenterik Auerbach sempatik postganglionik fiberler ile pre ve post ganglionik parasempatik liflerin oluşumu ve kollajen kalınlığı milimetrik oküler mikroskop kullanılarak incelendi. Kalın bağırsak duvarı katmanları "mukoza hasarı, muskülaris mukoza ile eksternada kollajen depolanması ve submukozal kollajen artışı"; "0 (yok), +1 (orta), +2 (belirgin)" şeklinde oluşturulan skorlama ile değerlendirme skalası oluşturuldu (Tablo 3). Kalın bağırsak duvarı katları oluşturduğumuz değerlendirme skalası grafiğinden aldığı puanlamaya göre değerlendirildi. Bağırsak duvarının muskülaris mukoza ve submukozal kalınlığı milimetrik oküler mikroskop kullanılarak ölçüldü. Kalın bağırsak tabakalarındaki kollajen depolanması düz kas lifleri etrafındaki kollajen artışı ile değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA

İstatistiksel çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem merkezinde bulunan 50064 Minitab Release B programı (Lisans no: WCP1331.00197) kullanılarak bilgisayar ortamında gerçekleştirildi. Biyokimyasal değerler ve doku gerginliğinin değerlendirilmesi "Anova", histopatolojik değerlendirmeler "Ki-kare" testiyle istatistiksel olarak analiz edildi. Tüm verilerin ortalamaları ve ortalamaların standart hataları hesaplandı. $p<0.05$ olduğunda fark anlamlı olarak kabul edildi.

Tablo 3. Histopatolojik değerlendirme skalası ve puanları

Mukoza hasarı	**Skor**
Yok :	0
Orta : Bez epitelinde kısmi hasar ve gevşek bağ dokusunda oluşan kollajen muskülaris mukoza kalınlığının en fazla iki katı	+1
Belirgin: Epitel ve ince gevşek bağ dokusu yerini sert bağ dokusu almış. oluşan kollajen muskülaris mukoza kalınlığının iki katından fazla	+2
Müskülaris mukozada kollajen depolanması	**Skor**
Yok :	0
Orta : Düz kas lifleri etrafında kollajen depolanması	+1
Belirgin : Orta ile aynı, bazı liflerin yerini almış kollajen depolanması	+2
Submukozal kollajen artışı	**Skor**
Yok :	0
Orta : Submukozal kollajen muskülaris mukoza kalınlığının en fazla iki Katı	+1
Belirgin: Submukozal kollajen muskülaris mukoza kalınlığının iki katından Fazla	+2
Müskülaris eksternada kollajen depolanması	**Skor**
Yok :	0
Orta : Düz kas lifleri etrafında kollajen depolanması	+1
Belirgin: Orta ile aynı, bazı liflerin yerini almış kollajen depolanması	+2

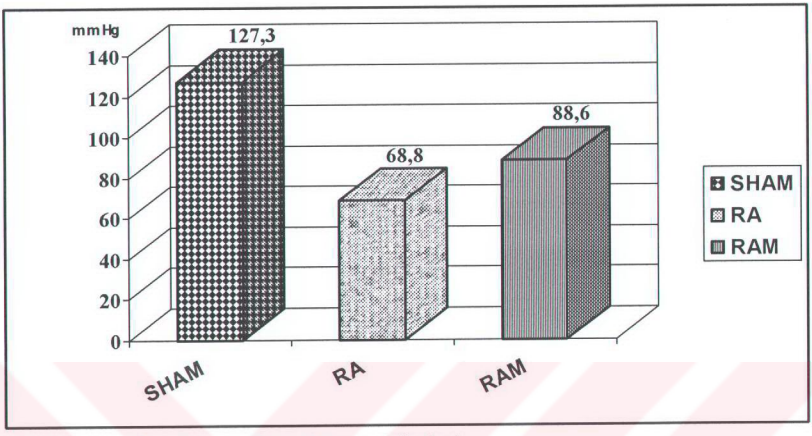
BULGULAR

Çalışmaya ağırlıkları 287-360 gr arasında değişen 30 erkek Wistar Albino sıçan alındı. Denekler her biri 10 sıçan içeren üç grupta incelendi. (Grup I: Sham, Grup II: RA, Grup III: RAM) Gruplara göre ortalama patlama basıncı Sham'da: 127,3 ± 4,4 mmHg, RA'da: 68,8 ± 2,6 mmHg ve RAM'da 88,6 ± 2,7 mmHg olarak bulundu. Doku gerginliğinin patlama basıncı ölçümleriyle elde edilen değerler toplu olarak Tablo 4'de sunulmuştur:

Tablo 4. Gruplara göre patlama basıncı değerleri mm/Hg

Denekler	Sham grubu	RA grubu	RAM grubu
1	127	68	85
2	122	71	87
3	137	65	85
4	126	67	86
5	124	70	90
6	126	66	89
7	126	72	91
8	133	73	93
9	126	68	90
10	126	68	90
Ort.+standart sapma	127,3 ± 4,4	68,8 ± 2,6	88,6 ± 2,7

Patlama basıncı değerleri RAM grubunda RA grubuna göre daha yüksek bulundu (Grafik 2).



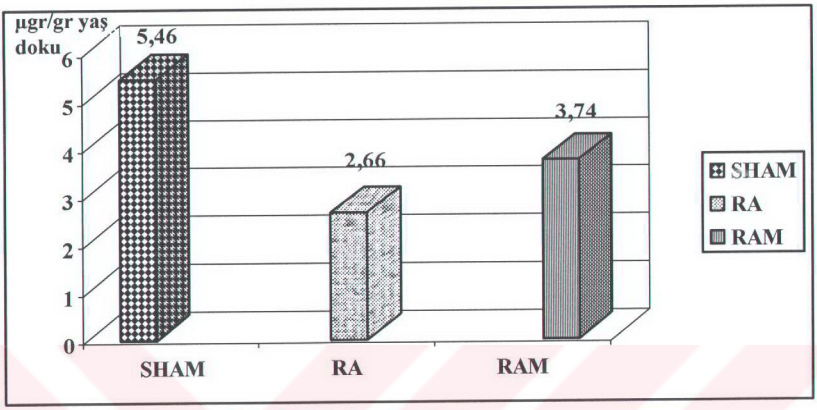
Grafik 2. Gruplara göre patlama basıncı değerleri

Anastomoz hattını içeren kalın bağırsak dokusundan alınan doku örneklerinde ölçülen hidroksiprolin değerleri Sham grubunda 5,5 ± 0,2 µg/1 mg yaş doku, RA grubunda 2,7 ± 0,2 µg/1 mg yaş doku ve RAM grubunda 3,7 ± 0,2 µg/1mg yaş doku olarak bulundu (Tablo 5).

Tablo 5. Hidroksiprolin miktarları

Hidroksiprolin (µg/1mg yaş doku)	**Sham**	**RA**	**RAM**
1	5,6	2,4	3,9
2	5,3	2,8	3,7
3	5,5	2,7	3,8
4	5,7	2,6	3,4
5	5,8	2,7	3,7
6	5,3	2,3	3,8
7	5,4	2,6	3,8
8	5,3	3,1	3,3
9	5,3	2,7	3,9
10	5,4	2,7	4,1
Ortalama + Standart sapma	5,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2	3,7 ± 0,2

Hidroksiprolin değerleri RAM grubunda RA grubuna göre daha yüksek bulundu (Grafik 3).



Grafik 3. Gruplara göre hidroksiprolin miktarları

Kalın bağırsağın anastomoz hattını içeren segmentte yapılan patlama basıncı ve doku hidroksiprolin ölçüm ortalama ve p değerleri ayrıca Tablo 6'da gösterilmiştir. Patlama basıncı RAM grubunda 88,6 ± 2,7 mmHg'ydi ve RA grubundan 68,8 ± 2,6 mmHg olarak daha yüksekti. Doku hidroksiprolin değerleri ise RAM grubunda 3,7 ± 0,2 µg/mg yaş doku olarak, RA grubundaki 2,7 ± 0,2 µg/mg yaş doku miktarından daha yüksekti. Veriler istatistiksel olarak incelendiğinde tüm gruplar arasında $p<0,05$ olarak bulundu ve bu değerler anlamlı kabul edildi (Tablo 6).

Tablo 6. Patlama basıncı ve hidroksiprolin sonuçlarının p değerleri

	Sham (Grup 1)	RA (Grup 2)	RAM (Grup 3)	p
Patlama basıncı mmHg	127,3 ± 4,4	68,8 ± 2,6	88,6 ± 2,7	1-2 $p<0,05$ 1-3 $p<0,05$ 2-3 $p<0,05$
Hidroksiprolin µg/mg yaş doku	5,5 ± 0,2	2,7 ± 0,2	3,7 ± 0,2	1-2 $p<0,05$ 1-3 $p<0,05$ 2-3 $p<0,05$

Tablo 3 ve 7'de sunulan sonuçlara göre yapılan histopatolojik değerlendirmede;

Mukoza hasarı: RA grubundaki deneklerden alınan örneklerin tümünde belirgin mukoza hasarı görülürken, RAM grubundaki örneklerin 3'ünde orta derecede, 4'ünde belirgin derecede mukoza hasarı görülüp, 3'ünde de mukozal hasar görülmedi. RAM grubuyla RA grubu arasındaki puan farkları istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$).

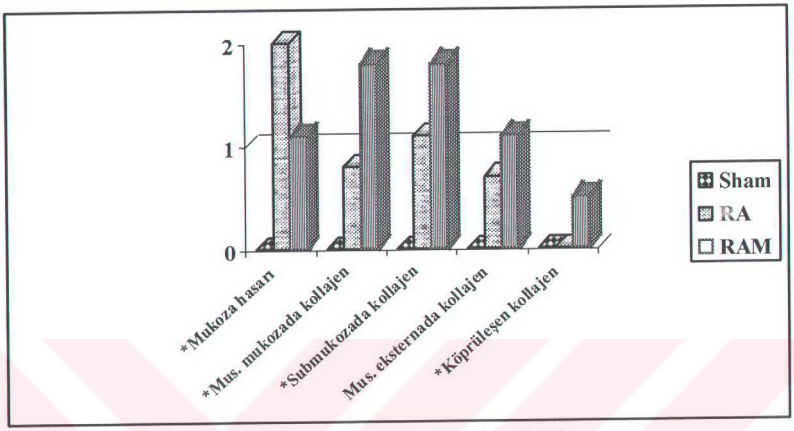
Muskülaris mukozada kollajen depolanması: RA grubundaki deneklerden alınan örneklerin 3'ünde muskülaris mukozasında kollajene rastlanmadı. 6'sında orta ve birinde belirgin derecede, RAM grubunda ise örneklerden 2'sinde orta ve 8'inde belirgin derecede kollajen depolanması görüldü. RAM grubuyla RA grubu arasındaki puan farkları istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$).

Submukozal kollajen: RA grubundaki deneklerden alınan örneklerin 9'unda orta ve birinde ise belirgin derecede kollajen artışı görülürken, RAM grubundaki örneklerin 2'sinde orta derecede, 8'inde ise belirgin derecede kollajen artışı görüldü. RAM grubuyla RA grubu arasındaki puan farkları istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$).

Muskülaris eksternada kollajen depolanması: Tunika muskülariste RA grubundaki deneklerden alınan örneklerde kollajen depolanması 4'ünde görülmedi. 5'inde orta ve birinde belirgin derecede kollajen depolanması tespit edildi. RAM grubunda ise 2'sinde görülmedi. 5'inde orta derecede ve 3'ünde belirgin derecede kollajen depolanması tespit edildi. Ancak RAM grubuyla RA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

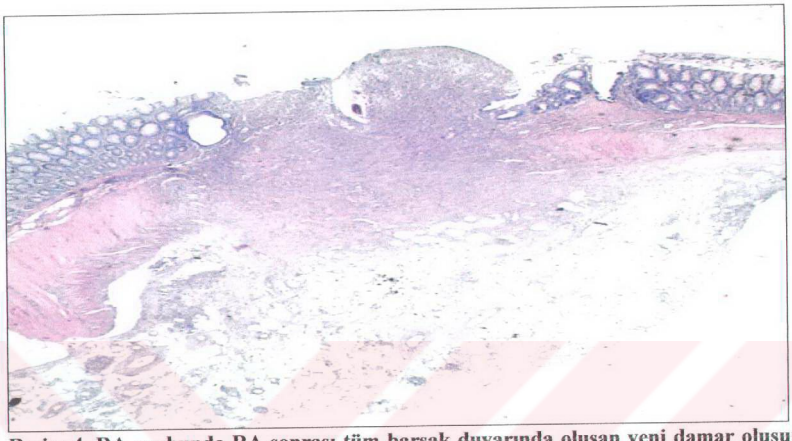
Tablo 7'de ise tüm gruplarda elde edilen verilerin toplu sonuçları verilmiştir. Ayrıca doku gerginliğinde esas rol oynayan köprü yapmış kollajen demetleri RA grubundan alınan örneklerde hiç görülmemiş olup, RAM grubunda 5 olguda görüldü. Farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,05$). Histopatolojik çalışmaların toplu sonuçları histopatolojik değerlendirme skalası olan Tablo 3 ile Tablo 7'deki verilere göre yapılarak Grafik 4'de sunulmuştur.

Resim 4'de RA grubundan hazırlanan bir kalın bağırsak anastomoz bölgesi kesitinin 1.25 büyütmedeki mikroskobik görüntüsü sunulmuştur. Burada mukozanın belirgin derecede hasarlandığı, epitel ve ince gevşek bağ dokusunun yerini sert bağ dokusunun aldığı, oluşan kollajenin muskülaris mukoza kalınlığının iki katından fazla olduğu izlendi. Ayrıca muskülaris mukozada az miktardaki düz kas lifleri etrafında kollajen depolanması ve submukozada muskülaris mukoza kalınlığının iki katından fazla kollajen artışı görüldü. RA grubunda muskülaris eksternanın olması gereken alanda fibrozis görülmekte, fibrozis içinde az sayıda normalden daha küçük çapta kas lifleri izlendi. RA grubundan hazırlanan ve aynı yerden alınan kesitin TM ile boyanma sonrası mikroskobik incelemesinde köprüleşen kollajen yapısının yok denecek kadar az olduğu görüldü (Resim 5).



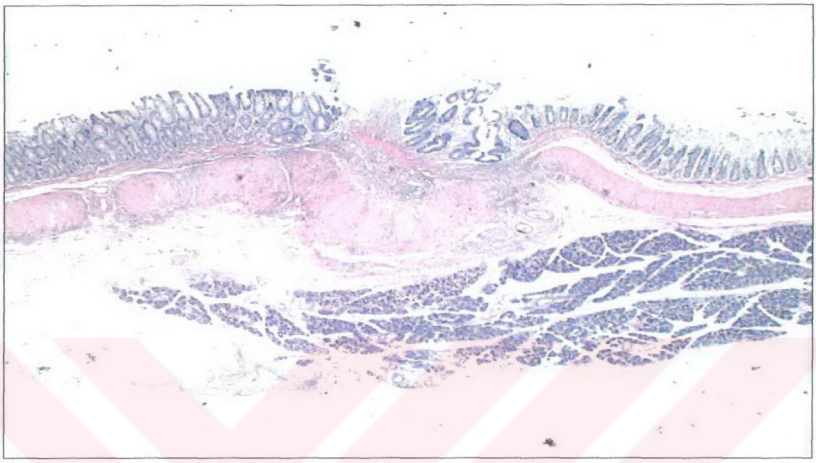
Grafik 4. Histopatolojik çalışmaların toplu sonuçları (*p<0,05)

RAM grubundan alınan örnekte submukozal kollajen artışı ve muskülaris mukoza ile muskülaris eksternadaki kollajen depolanmasının RA grubundakilere göre belirgin derecede fazla olduğu ve kas liflerinin düzenli olduğu tespit edildi (Resim 6). Bu grupta mukozal epitelin daha iyi proliferasyon gösterdiği, bez yapısının daha iyi korunduğu ve kalınlığının belirgin derecede artttığı izlendi. Muskülaris mukozadaki kollajen artımı belirgin derecede olurken, muskülaris eksternada ise daha çok orta derecede kollajen artımı ve çevre kas liflerinin korunmuş olduğu görüldü. Muskülaris eksternada kollajen depolanmasının RA grubuna göre daha fazla olduğu, düz kas lifleri etrafında kollajen depolanmasının olduğu tespit edildi. Fibroblastik aktivitenin daha fazla olduğu ve katlar arasındaki köprüleşen kollajenin RAM grubunda %50 oranında daha fazla olduğu izlendi (Resim 7).

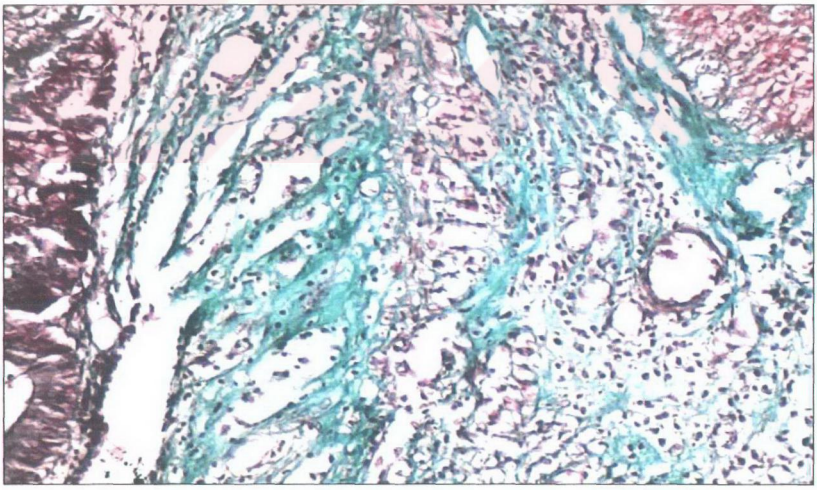


Resim 4. RA grubunda RA sonrası tüm barsak duvarında oluşan yeni damar oluşumu ile karakterli granülasyon dokusu gelişimi (HE, X 1.25)

Resim 5. RA grubunda yeni oluşmaya başlamış köprüleşmiş kollajen yapımı (TM, X 5)



Resim 6. RAM grubunda RA sonrası barsak duvarında belirgin iyileşme, granülasyon dokusu gelişimi ve barsak duvarına komşu alanda izlenen pankreas dokusu (HE, X 1.25)



Resim 7. RAM grubunda granülasyon dokusu içinde paralel demetler ve köprüler oluşturan kollajen yapımı (TM, X 5)

Tablo 7. Tüm gruplarda elde edilen verilerin toplu sunumu

Denek no	Grup	HP	PB	MH	MMKD	SMKA	MEKD	V	E	KK
1	1	5,60	127,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
2	1	5,30	122,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
3	1	5,50	137,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
4	1	5,70	126,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
5	1	5,80	124,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
6	1	5,30	126,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
7	1	5,40	126,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
8	1	5,30	133,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
9	1	5,30	126,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
10	1	5,40	126,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00	,00
11	2	2,40	68,00	2,00	1,00	1,00	,00	1,00	1,00	,00
12	2	2,80	71,00	2,00	,00	1,00	2,00	1,00	2,00	,00
13	2	2,70	65,00	2,00	,00	1,00	,00	1,00	2,00	,00
14	2	2,60	67,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	,00
15	2	2,70	70,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	,00
16	2	2,30	66,00	2,00	1,00	2,00	1,00	1,00	2,00	,00
17	2	2,60	72,00	2,00	1,00	1,00	,00	1,00	2,00	,00
18	2	3,10	73,00	2,00	,00	1,00	1,00	1,00	2,00	,00
19	2	2,70	68,00	2,00	1,00	1,00	,00	1,00	2,00	,00
20	2	2,70	68,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	,00
21	3	3,90	85,00	1,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
22	3	3,70	87,00	1,00	2,00	2,00	1,00	1,00	2,00	1,00
23	3	3,80	85,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	,00
24	3	3,40	86,00	,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
25	3	3,70	90,00	,00	2,00	2,00	2,00	1,00	2,00	,00
26	3	3,80	89,00	2,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
27	3	3,80	91,00	1,00	2,00	2,00	1,00	1,00	1,00	1,00
28	3	3,30	93,00	2,00	2,00	2,00	2,00	1,00	2,00	,00
29	3	3,90	90,00	2,00	2,00	2,00	,00	1,00	2,00	,00
30	3	4,10	90,00	,00	1,00	1,00	,00	1,00	1,00	,00

HP=Hidroksiprolin µg/1mg yaş doku, PB=Patlama basıncı mmHg, MH=Mukoza hasarı, MMKD=Muskülaris mukozada kollajen depolanması, SMKA=Submukozal kollajen artışı, MEKD=Muskülaris eksternada kollajen depolanması, KK=Köprüleşme yapan kollajen, V=Vaskülarizasyon (Yok=0-Var=1), 1=Sham, 2=RA, 3=RAM grubu

TARTIŞMA

Yara iyileşmesinde öncelikle yaralanma bölgesindeki kopan damarlardan çevreye kan ve serum dolar. Damarsal geçirgenliğin artmasıyla yara yerine sızan serum ve kan miktarı daha da artar. Bu arada damarların büzüşmesiyle oluşan ilk yanıttan sonra açığa çıkan damarların subendotelyal kollajeni, yabancı cisim olarak algılanır. İntrinsek koagülasyon yolu uyarılır. Trombosit agregasyonu olur. Kan pıhtılaşması ve hemostaz gerçekleşir. RA yapılan bağırsak segmentinin dikilerek dokuların birbirine yaklaştırılmaları bu aktivitelere yardımcı olur. Ortama göç etmiş hücrelerce salgılanan büyüme faktörleri ve sitokinlerce enfeksiyona direnç sağlanırken, diğer yandan yeni damar oluşumu, hücre çoğalması ve epitelizasyon da gerçekleşir. Oluşan hücre dışı ortamı, yeni doku yapımı ile yarayı kapatır.

Anastomoz iyileşmesini değerlendirmek esas olarak mekanik parametrelere bağlıdır ve özellikle patlama basıncı bu amaçla kullanılan önemli bir değerlendirme yöntemidir (37,60–62). Patlama basıncı anastomoz hattındaki iyileşmenin ilk 3 veya 4. günlerinde düşüktür ve ölçülmesi kolaydır. Daha sonraki dönemde anastomoz hattındaki kollajen seviyesi artacağı için doku yırtılması anastomozun dışındaki bir bölgeden olur (37,60,63–65). Sıçanlara uygulanan inen kolon rezeksiyon-anastomozu iyileşmesinin erken döneminde anastomoz çevresinde bağırsak duvarının kollajen konsantrasyonunda belirgin bir azalma olduğu farklı araştırıcılar tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmalarda kalın bağırsak anastomozlarında kollajen sentezi artarken ilk üç günde kollajendeki hidroksiprolin konsantrasyonunda azalma olduğu gözlenmiştir (66-68). Cronin ve ark. (67) kalın bağırsaklarında anastomoz yapılan sıçanlarda hidroksiprolin seviyelerinin önce geçici olarak düştüğünü, ameliyattan iki

ile dört gün sonra anastomoz hattındaki hidroksiprolin yoğunluğunun arttığını göstermişlerdir. Çalışmamızda 8. günde kalın bağırsak anastomoz bölgesindeki hidroksiprolin değerleri RA ve RAM gruplarında sham grubuna göre düşük bulunmuştur. RAM grubunda ise RA grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Benzer şekilde patlama basınçları da RA ve RAM grubunda sham grubuna göre düşük bulunmuştur. Ancak RA grubuyla karşılaştırıldığında, RAM grubunda patlama basıncının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Erken dönemde anastomoz direncinin az olması bağırsak duvarındaki kollajenolizis ile ilgili olabilir. Kollajenolizis yara yerine ilk göç eden nötrofillerden salınan proteinazların aktif hale geçmesiyle oluşur. Dört kollajenolitik proteinaz bilinmektedir; serin proteinazlar (Elastaz, Katepsin G, Nötral proteinaz) ve metalloproteinaz (gerçek kollajenaz). Hogstrom ve ark. (69) serin proteaz ve metalloproteinaz inhibitörlerinin deneysel kalın bağırsak anastomozunun iyileşmesinde yararlı etkilerinin olduğunu göstermişlerdir.

Önceki çalışmalarda araştırmacılar anastomoz hattındaki patlama basıncını hava veya sıvıyla ölçmüşlerdir. Su içindeki bağırsak segmentinde patlamanın olduğu anda çıkan hava kabarcığı izlenmiş ve manometredeki basınç göstergesi cmH_2O veya mmHg olarak alınmıştır (60). Diğer bir yöntem de RA yapılan bağırsağın proksimal ve distalinden çekilmek suretiyle dokunun kopma gerginliğinin ölçülmesidir (37). Çalışmamızda kullandığımız manometri cihazı ile patlamanın olduğu anın bilgisayar ortamında ve grafiksel olarak gösterilmesi patlama basıncı değerini net olarak vermiştir. Bu metot görsel olarak yorumlanan diğer metodlardaki zamanlama sorununu ortadan kaldırmaktadır.

Hücre dışı ortamının yeniden şekillenme aşamasında kollajen depolanması temel ölçüt olarak değerlendirilmektedir. Hücre dışı ortamını oluşturan diğer yapısal elementler kollajene göre daha az oranda bulunmaktadır. Kollajenin memeli dokularında hidroksiprolin komponentinin daha fazla olması ve doku gerginliğinden asıl sorumlu olan amino asit niteliği taşıması nedeniyle diğer tüm araştırıcılar da sadece hidroksiprolin değerlerini ölçmüşlerdir (37,56).

MM'nin guanilat siklaz inhibisyonu yapması nedeniyle, kollajen üretimindeki etkisi araştırıcılarla incelenmiştir (68). Bu amaçla Chu ve Prasad (70) kültür ortamında çoğaltılan deri fibroblastlarında TEBF'ce kollajen üretiminin artırılması için NO uyarılarının engellenmesinin gerektiğini bildirmişlerdir. Çünkü NO'nun cGMP'ı uyarması kollajen üretimini azaltmaktadır. DBF-β_1'de NO/cGMP sinyalleşmesini NO üretimini azaltarak inhibe edip, deri fibroblastlarındaki kollajen üretimini de artırmaktadır. cGMP'ın olaya karıştığının göstergesi DBF-β_1 tedavisinden sonra cGMP seviyesinin azaldığının gözlenmesinden

anlaşılmaktadır. Chu ve Prasad araştırmasında DBF-β_1'in NO üretiminde düşüşe neden olduğunu, SNP'ın kollajen üretiminde inhibitör rol aldığını, SNP-MM birlikteliğinde kısmen olumlu rol oynadığını, yalnızca MM'nin oldukça iyi seviyede iyileştirici rol aldığını göstermişlerdir. Chu ve Prasad çalışmasındaki ilk sonuç şudur: "İnsan deri fibroblastlarında kollajen üretiminin DBF-β_1'ce uyarılması için, cGMP sinyali ve NO'nun ise inhibe edilmesi gereklidir" (70). DBF-β_1'in NOS aktivitesini %40 azaltıp NO üretiminde %55 oranında düşüş göstererek kollajen üretimini artırdığı bulunmuştur. Chu ve Prasad'ın elde ettiği veriler, NO ürettiği bilinen interferon γ ve lipopolisakkaritle kollajen üretimini rat mezenjial hücre kültürlerinde azalttığını rapor eden çalışmalarla tutarlılık göstermektedir (35). Çalışmamızda RAM grubunda kollajen sentezinin artmış olması MM ile cGMP oluşumunun inhibe edildiğini, böylelikle de Chu ve Prasad'ın çalışmasındakine benzer sonuç alındığını göstermektedir. Schaffer ve ark. (71) da raporlarında DBF-β_1'in NO sinyalini aşırı kollajen üretimi ile inhibe ettiğini göstermiştir. NO'nun sinyal oluşturma fonksiyonu hücre içinde veya üstündeki protein reseptörlere bağlanmasıyla başlar. Bu bağlanma tarafı ya proteindeki bir metal iyonu veya S atomlarından biridir. Bağlanmayı takiben proteindeki allosterik değişiklikler hücredeki sekonder mesajcı formunu tetikler. NO için en sık hedef protein ikinci haberci cGMP'yi oluşturan guanilat siklaz olarak görülmektedir. NO'nun iyi bilinen vazodilatör etkisinden başka, Mn^{+2}, Cu^{+2}, Fe^{+2} gibi taşıyıcı metallerle kompleks oluşturma ve hedefine uygun biyolojik "HEM" proteinlerini oluşturma yeteneği de vardır. Hücresel solubl guanilat siklaz (sGC) hücrelerdeki biyolojik etkilerin düzenleyici uyarıcısı olan cGMP'ın uyarıcısı olarak bilinmektedir. cGMP gevşeme ve vazodilatasyonla sonuçlanan "Ca efflux artışı" yaparak bir dizi biyolojik etkilerin oluşumuna neden olmaktadır.

NO'nun küçük miktarları mukozal kan akımını artırarak veya antimikrobial özellikleri ile reaktif nitrojen metabolitleri oluşturarak sitoprotektif bir etkisi olabilir. Bununla beraber NO'nun aşırı üretimi barsak bariyer fonksiyon yetersizliğine yol açarak intestinal epitel hasarına yol açabilir. Nadler ve Ford'un (72) yaptığı NO'nun bakteri translokasyonunu düzenlemesi ile ilgili çalışmada, NO'nun düşük miktarları mukozal kan akımını artırarak veya reaktif nitrojen metabolitlerini üreterek sitoprotektif bir etki gösterdiğini, halbuki yüksek dozda bağırsağın bariyer fonksiyonunu bozarak intestinal epiteli hasarlandırabildiğini göstermiştir. İnvitro koşullarda NO'nun dermal fibroblastlarda ve ağız mukoza hücrelerinde kollajen üretimini anlamlı ölçüde inhibe ettiği saptanmıştır. Chu ve Prasad (68) deneylerinde bir NO donörü olan SNP'in kollajen üretiminde büyük oranda gerileme oluşturduğunu göstermiştir.

Cohen ve ark. (73) kültür ortamındaki kıkırdak disklerinin yanına ilave edilen MM'nin ortamda NO seviyesini orta derecede azalttığını ve matriks yıkımını önlediğini göstermişlerdir.

Bu çalışmaların aksine sonuçların olduğu çalışmalar da vardır: Schaffer ve ark. (71) yaptığı çalışmada yarışmalı bir NOS inhibitörü olan MITU (S-methyl isothiouronium)'un sürekli infüzyonunun kollajen birikmesini ve yara kopma gerginliğini azalttığını göstermişlerdir. Yapılan bir çalışmada da metilen mavisinin yapışıklık oluşturduğu ve yüksek konsantrasyonda makrofajları aktive ettiği bulunmuştur (42).

Efron ve ark.'ınca (74) yapılan diğer bir çalışmada özgül iNOS inhibitörü olan L-NIL (L-N-iminoethyl-lysine)'in İV infüzyonunun DBF-β, TNF-α, ve hem iNOS hem de eNOS eksprese eden hücrelerin sayısını artırdığını bulmuşlardır. Bu bilgi bize anastomoz iyileşmesi esnasında normal olarak eksprese edilen büyüme faktörü mRNA ve sitokin profilinin bozulduğunu göstermektedir. Bu anastomoz iyileşmesi esnasında NO'nun gen ekspresyonunu düzenlediğinin kanıtıdır.

Irvin ve Hunt (66) radyoaktif prolinle hayvan deneylerinde kalın bağırsaktaki iyileşmeyi değerlendirmiş ve anastomoz hattından aldığı biyopsilerde iyileşmenin ilk günlerinde hidroksiprolin radyoaktivitesinde azalma, ameliyattan 3 ile 7 gün sonrasında da hidroksiprolin aktivitesi ve total hidroksiprolinde artma tespit etmiştir. Özetle ameliyat sonrası ilk 4 gün kollajen yıkımı ön planda iken 7. günde kollajen miktarındaki artış net olarak görülmektedir. Irvin ve Hunt'un çalışması örnek alınarak diğer bilgilerin de (13,35,36,58) ışığında çalışmamız 8 günle sınırlandırılmıştır. Ayrıca daha erken günlerde yapılan çalışmalar bu esnada kollajen metabolizmasında büyük değişmeler olduğunu göstermiştir ki bu da sağlıklı sonuçlar alınmasını engelleyebilir.

Doku gerginliğinin belirlenmesinde sadece kollajenin kitlesi değil aynı zamanda fibrillerin kalitesi de önemlidir. Kollajen liflerinin çapraz bağlanmaları kollajen ağının oluşturacağı gerilim kuvveti için önemlidir (37,56). Çalışmamızda doku gerginliğinin daha fazla olduğu RAM grubunda çapraz bağlar yapan kollajen liflerinin de bol miktarda bulunması dikkat çekicidir. Bu durum RAM grubundan elde edilen histopatolojik verilerle birlikte değerlendirildiğinde, kalın bağırsakta RA yapılan bölgede darlık oluşturacak şekilde yoğun kollajen birikiminin oluşmadığı ve oluşan yeni dokunun RA grubundakilere göre daha sağlam ve iyi kalitede olduğu sonucuna ulaşılabilir.

SONUÇLAR

Bu çalışmada kalın bağırsak rezeksiyon-anastomozu yapılan sıçanlarda metilen mavisi uygulanmasının, yara iyileşmesinin özellikle maturasyon ve yeniden şekillenme fazını etkilediği sonucuna varılmıştır. Bu etkileme mukoza hasarını azaltma, çapraz bağlar yapmış kollajen liflerinde artma ve yüksek gerilme basıncı oluşturma şeklinde gerçekleşmiştir.

Karşıt bazı çalışmaların olması yara iyileşmesinde gen ekspresyonunda değişiklik oluşması gibi başka mekanizmaların da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Metilen mavisinin doku iyileşmesi üzerine olan etkisini saptamak için NO'nun özellikle gen ekspresyonları yoluyla etki edip etmediğinin açıklığa kavuşturulması için ek araştırmalar yapılması gereklidir.

Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre metilen mavisi bağırsak anastomozlarında kullanılabilecek ve yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyecek bir madde gibi görünmektedir.

ÖZET

Bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan kalın bağırsak rezeksiyon-anastomoz modelinde, metilen mavisinin doku iyileşmesi üzerine etkisini mekanik, biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirmek amaçlandı.

Çalışmamızda her birinde 10'ar adet wistar albino sıçan bulunan üç grup oluşturuldu.

Grup 1 (Sham) : Karın orta hat insizyonu yapılıp kapatıldı.

Grup 2 (RA) : Karına orta hattan girilip, inen kolona rezeksiyon-anastomoz yapıldı.

Grup 3 (RAM) : Grup 2'nin işlemlerine ek olarak intraperitoneal metilen mavisi verildi.

Denekler cerrahi işlemden 8 gün sonra geri dönüşümsüz uyutuldu. Anastomoz hattını içeren barsak segmentlerinin patlama basıncı manometrik olarak ölçüldü. Daha sonra bu bölgedeki doku hidroksiprolin düzeyleri değerlendirildi. Histopatolojik incelemede doku iyileşmesi parametreleri olarak; tüm bağırsak katmanlardaki mukozal hasar, enflamatuar yanıt, kollajen birikimi, vaskülarizasyon ve çapraz bağ yapmış kollajen araştırıldı. İstatistiksel değerlendirmeler Anova ve Ki-kare yöntemiyle yapıldı.

Doku hidroksiprolin değerleri; Sham grubunda 5.46 ± 0.18, RA grubunda 2,66 ± 0,21, RAM grubunda 3,74 ± 0,23µg/mg yaş doku, manometrik olarak patlama basıncı değerleri; Sham grubunda 127,3 ± 4,39, RA grubunda 68,8 ± 2,61, RAM grubunda 88,6 ± 2,71 mm/Hg olarak bulundu. RAM grubunda tespit edilen hidroksiprolin seviyesi ve doku direncindeki artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Histopatolojik incelemede RAM grubunda RA grubuna göre doku iyileşmesinin daha iyi olduğu tespit edildi.

Bu çalışmada RAM grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir direnç artışı ve iyileşme sürecinde de kalite artışı gözlendi. RAM grubunda kolonun tüm katmanlarında demetler

yapan kollajen birikimi, RA grubuna göre belirgin olarak artmıştı. RA grubunda ise oluşan kollajen dokusu düzensiz, miktarı da histopatolojik ve biyokimyasal olarak beklenenden azdı. Metilen mavisinin rezeksiyon-anastomoz yapılan sıçanlarda bağırsakların iyileşme sürecini olumlu yönde etkilediği, doku direncini artırdığı kanısındayız. Metilen mavisi bu işlevini doku oksidazları için elektron kabul etmesi, moleküler oksijenin süper okside indirgenmesini inhibe etmesi ve nitrik oksidin hücre içindeki habercisi solubl cGMP'ın oluşumunu inhibe ederek oluşturmuş olabilir. Bu sonuçlar klinik olarak önemli ve metilen mavisinin lokal-sistemik etkilerinden dolayı olabilir.

Anahtar Kelimeler: Metilen Mavisi; Anastomoz; Yara İyileşmesi

THE EFFECT OF METHYLENE BLUE ON THE WOUND HEALING AT THE COLONIC RESECTION-ANASTOMOSIS MODALITY IN RATS

SUMMARY

The aim of this study is to evaluate mechanical, histopathological and biochemical effects of methylene blue on the wound healing at the colonic resection-anastomosis modality in rats.

In our study, three groups were formed and each group contains 10 Wistar albino rats.

Group 1 (Sham group): Abdominal mid-line incision was performed and the incision was closed.

Group 2 (RA group): After abdominal mid-line incision, resection-anastomosis of descending colon was performed.

Group 3 (RAM group): In addition Group 2, intraperitoneal methylene blue was given in this group. After 8 days of the surgical procedure, all rats were hipnotised irreversible. The burst pressure of colonic segments containing anastomosis line, was measured with manometric method and hydroxyprolin levels at this segments was evaluated. In histopathologycal examination mucosal damage, inflammatory answer, vascularisation and cross-linked collagen tissue of the all-colonic sides, were evaluated as tissue healing parameters. Anova and χ^2 tests were used to compare groups.

Tissue hydroxypyroline levels were found out as follows; in sham group 5,46 ± 0,18, in RA group 2,66 ± 0,21, in RAM group 3,74 ± 0,23µg/1mg wet tissue. The burst pressure of

derived from manometer were found oat as follows: in sham group 127,3 ± 4,39, in RA group 68,8 ± 2,61, in RAM group 88,6 ± 2,71 mmHg. Tissue hydroxypyroline and burst pressure was statistically higher in RAM group than RA group ($p<0,05$). On hystopathologycal evaluation was found that tissue healing in RAM group was better than RA group.

We think that methylene blue positively affect colonic tissue healing enhanced tissue resistance in rats which were performed colonic resection and anastomosis. Cross linked collagen fibrills were increased all colonic layers of RAM group towards RA group. Collagen tissue at RA group were irreguler and lower unexpected as hystopathologycal and biochemical. Methylene blue may work in tissue healing by these ways as follows; receive electron for tissue oxidase, block molecular oxygen to superoxide reaction, block soluble cGMP formation that is messenger of nitric oxide. These results important as clinical and may become local-systemic effect due to methylene blue.

Keywords: Methylene Blue; Anastomoses; Wound Healing

KAYNAKLAR

1. Avşar AF, Avşar FM, Sahin M, Topaloğlu S, Vatansev H, Belviranlı M. Diphenhydramine and hyaluronic acid derivates reduce adnexal adhesions and prevent tubal obstructions in rats. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003; 106:50–4.
2. Bozdağ Z, Çetinkaya Z, Caboğlu S, Bülbüller N, Doğru O, Akkuş MA. The effects of tamoxifen on the wound healing in rats. T Klin J Med Res 1999; 17:150-4.
3. Gürleyik G, Gürleyik E, Yılmazcan A, Özcan A, Onaran I, Ünalmiser S. Effects of neurotensin on the healing of experimental anastomosis of the colon. Acta Chir Belg 2002; 102:33-6.
4. Siemonsma MA, Hingh IH, Man BM, Lome RM, Verhofstad AA, Hendriks T. Doxycycline improves wound strength after intestinal anastomosis in the rat. Surg 2003; 133:268-76.
5. Naycı A, Çakmak M, Renda N, Aksoyek S, Yücesan S. Effects of electromagnetic fields and early postoperatif 5-fluorouracil on the healing of colonic anastomoses. Int J Colorectal Dis 2003; 18:136-41.
6. Yücetar S, Ertürk S, Temiz M, Doğusoy G, Özgüroğlu M, Cengiz A. The effect of intraperitoneal paclitaxel on the healing of colonic anastomoses. Çağdaş Cerr Derg 2000; 14:200-5.
7. Gottrup F, Oxlund H. Healing of incisional wound in stomach and duodenum: The effect of long term cortisol treatment. J Surg Res 1981; 31:165-71.
8. Ross MH, Romrel LJ. Histology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989: 430–42.

9. Sadler TW (Çeviri: C. Başaklar). Langmans Tıbbi Embriyoloji. 6. baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 1993: 224–45.
10. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 2. baskı. Ankara: Güneş Kitapevi Ltd. Şti., 1997:316–30.
11. Ceylan İ, Uysal S, Törüner A, Baksan S, Akgül H, Aydıntuğ S. Cerrahi. Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi, 1996: 126–40.
12. Kessel RG. Basic Medical Histology. Iowa: Oxford University Press, 1996: 399–403.
13. Yeşilkaya Y, Soyhan N, Bengisu N, Şen M, Aritas Y. The effects of different suture techniques on collagen metabolism in experimental distal colonic anastomoses. Br J Surg 1985; 72:987–9.
14. Spitz L. Malrotation. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.298–302.
15. Pena A. Anorectal anomalies. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.379–394.
16. Holschneider A, Ure BM. Hırschsprung's disease. In: Ashcraft KW, Sharp RJ, Siagelt DL, Synder CL (Eds.). Pediatric Surgery. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Sounders Company; 2000. p.453–72.
17. Kosloske AM. Necrotizing enterocolitis. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.354–62.
18. Beasley SW. Intussusception. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.404–7.
19. Dewan PA. Colonic atresia. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.318–23.
20. Kiely EM. Meconyum ileus. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.324–27.
21. Boix-Ochoa J. Meconium peritonitis. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.328–33.
22. Puri P, Quinn F. Duplications of the alimentary tract. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.334–41.
23. Mollitt DL. Mesenteric and omental cysts. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.342–9.
24. Takehara H, Komi N. Congenital segmental dilatation of the intestine. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.399–403.

25. Höllwart H. Short bowel syndrome and surgial techniques for the baby with short intestines. In: Puri P (Ed.). Newborn Surgery. Dublin: Butterworth-Heinemann; 1996. p.414–20.
26. Pokorny WJ. Necrotizing enterocolitis. In: Spitz L, Coran AG (Eds.). Pediatric Surgery. 5th ed. Glasgow: Chapman & Hall Medial; 1995. p.411–22.
27. Cywes S. Congenital atresia and stenosis of the small intestine. In: Spitz L, Coran AG (Eds.). Pediatric Surgery. 5th ed. Glasgow: Chapman & Hall Medial; 1995. p.348–58.
28. Holschneider AM. Complication after surgical treatment of Hirschsprung's disease. In: Heberer G (Ed.). Anglo-German Coloproctology Meeting: 1981; Berlin, Heidelberg. New York: Springer, 1981, p.110–5.
29. Holschneider AM. Hirschsprung's Disease. New York: Theime Stratton, 1982: 221–41.
30. Holcomb GW, Ross AJ, O'Neill JA. Postoperative intussusception: Increasing frequency or increasing awareness? South Med J 1991; 84:1334–9.
31. Witte MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Cl North Am 1997; 77:509–28.
32. Onat T, Kaya EM, Sözmen YE. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002: 548–602.
33. Kumar V, Cotran RS, Robbıns SL. Basic Pathology. 6th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2000: 48–59.
34. Grant ME, Prockop DJ. The Biosentezis of collagen. N Engl J Med 1972; 286:194–9.
35. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. Am J Surg 1978; 135:333–40.
36. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. Am J Surg 1980; 139:398–405.
37. Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses. parameters for repair. Dis Colon Rectum 1990; 33:891–901.
38. Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. Br J Surg 1995; 82:1598–610.
39. Disanto AR, Wagner JG. Pharmacokinetics of highly ionized drugs II. methylene blue absorption, metabolism and excretion in man and dog after oral administration. J Pharmaceutical Sciencer 1992; 11:1086–90.
40. Peter C, Hongwan D, Kupfer A, Lauterburg BH. Pharmacokinetics and organ distribution of IV and oral methylene blue. Eur J Clin Pharmacol 2000; 56:247–50.

41. Kelner MJ, Bagnel R, Hale B, Alxsander NM. Methylene blue competes with paraquat for reduction by flavo-enzymes resulting in decreased superoxide production in the presence of heme proteins. Arch Biochem Biophys 1998; 262:422–6.
42. Galili Y, Abraham RB, Rabau M, Klausner J, Kluger Y. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by methylene blue. Am J Surg 1998; 175:30–2.
43. Kelner MJ, Bagnel R, Hale B, Alxsander NM. Potential of methylene blue to block oxygen radical generation in reperfusion injury. Basic Life Sci 1988; 49:895–8.
44. Salaris SC, Babbs CF, Voorhees WD. Methylene blue as an inhibitör of superoxide generation by xanthine oxydase. A potential new drug for the attenuation of ischemia reperfusion injury. Biochem Pharmacol 1991; 42:499–506.
45. Rezzani R, Rodella L, Corsetti G, Bianchi R. Does methylene blue protect the kidney tissues from damage induced by ciclosporin a treatment? Nephron 2001; 89:329–60.
46. Galili Y, Ben-Abraham R, Weinbroum A, Marmur S, Iaina A, Olman Y, et al. Methylene blue prevents pulmonary injury after intestinal ischemia-reperfusion. J Trauma 1998; 45:222–5.
47. Gachot B, Bedos JP, Veber B, Wolff M, Regnier B. Short-term effects of methylene blue on hemodynamics and gas exchange in humans with septic shock. Intensive Care Med 1995; 21:1027–31.
48. Gennaro AR. Remington's Pharmaceutical Sciences. 7th ed. Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Co., 1985:842–3.
49. http://www.pesonalmd.com/drgdb/7086.htm
50. http://www.Medsafe.Gout.nz/Profs/Datashect/M/MethyleneBlueinj.htm.
51. Sharma P, Tpoalowski M, Mayo MS, Weston AP. Methylene blue chromoendoscopy for detection of segment barret's oesophagus. Gastrointest Endosc 2001; 54:289–93.
52. Kırsch IR, Cohen HS. Heinz body hemolytic anemia from the use of mecylene blue in neonates. J Pediatr 1980; 96:276–8.
53. Thienes CH, Halley TJ. Clin Toxicol 5th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1972: 237–9.
54. Perry PM, Meinhard E. Necrotic subcutaneus abscesses following injections of methylene blue. Br J Clin Pract 1974; 28:289–91.
55. David AG, Axel F. Methylene blue improves the hepatopulmonary syndrome. Ann Intern Med 2001; 135:380–1.
56. Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. J Surg Res 1990; 48:504–15.

57. Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Collagen metabolism in small intestinal anastomosis. Am J Surg 1987; 154:288–91.
58. Kıvırikko KI, Laitinen O, Prockop DJ. Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine. Anal Biochem 1967; 2:249–55.
59. Swietzer BR. Determination of hydroxyproline in tissue. J Nutr Biochem 1991; 2:229–331.
60. Altan A, Çakır E, Kayapınar R, Gega F. Effect of collateral circulation on healing of small ıntestinal anastomoses in rabbits. Hepato-Gastroenterology 1997; 44:1046–50.
61. Paksoy M, Hamzaoğlu I, Çubukcu A, Uzun H, Ağca B, Polat E. The influence of omentectomy on the inflammatory phase of anastomotic healing. Hepatogastroenterology 2001; 48:1359–63.
62. Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Breaking strength of small ıntestinal anastomoses. Am J Surg 1983; 145:800–3.
63. Hamzaoğlu I, Karahasanoğlu T, Aydın S, Şahin DA, Carkman S, Sarıyar M, et al. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. Am J Surg 1998; 176:458–61.
64. Irvin TT, Hunt TK. Effect of malnutrition on colonic healing. Ann Surg 1994; 180:765–71.
65. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses IV: The effect of sture technical on collagen concentration in the colonic wall. Am J Surg 1980; 139:406–13.
66. Irvin TT, Hunt TK. Reappraisal of the healing process of anastomosis of the colon. Surg Gynecol Obstet 1974; 138:741–6.
67. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. Surg Gynecol Obstet 1968; 126:747–53.
68. Chu AJ, Prasad JK. Up-regulation by human recombinant transforming growth factor β1 of collagen production in cultured dermal fibroblasts is mediated by the inhibition of nitric oxide signaling. The american collage of surgeon 83rd annual clinical congress; 1998 October 2; Chicago USA. Detroit: Elsevier; 1997, p.271–80.
69. Hogstrom H, Haglund U, Zederfeldt B. Beneficial effect of proteinase inhibitors on early breaking strength of intestinal anastomoses. Acta Chir. Scand. 1975; 151:529.
70. Chu AJ, Prasad JK. TGFβ-1 inhibited NO/cGMP signaling to ensure its stimulatory effect on collagen production in the dermal fibroblasts. J Am Coll Surg 1999; 188:271–80.

71. Schaffer MR, Tantry U, Gross SS, Wasserkrug HL, Barbul A. Nitric oxide regulates wound healing. J Surg Res 1996; 63:237–40.

72. Nadler EP, Ford HR. Regulation of bacterial translocation by nitric oxide. Ped Surg Int 2000; 16:165–8.

73. Cohen N, Robinon D, Ben-Ezzer J, Hemo Y, Hasharoni A, Wolmann Y, et al. Reduced NO accumulation in arthrotic cartilage by exposure to methylene blue. Acta Orthop Scand 2000; 71(6):630–6.

74. Efron DT, Most D, Shi HP, Tantry US, Barbul A. Modulation of growth factor and cytokine expression by nitric oxide during rat colon anastomotic healing. Forty-First annual meeting of the society for surgery of the alimentary tract: 2000 May 21-24; San Diego, USA. California: Elsevier; 2000.

Ek 1. Yerel etik kurul kararı

T.C
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı : 09

Karar Tarihi : 22.05.2003

9- Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 22.05.2003 tarihinde "Ratlarda Kolonik Rezeksiyon-Anastomaz Modelinde Metilen Mavisinin Doku İyileşmesi Üzerine Etkisi" adlı TÜTFEK-2003/088 protokol no.lu deneysel çalışmayı incelemek üzere toplandı. Toplantıya Prof Dr.Ahmet TEZEL izinli olması nedeniyle katılmadı. Diğer üyelerin katılımıyla çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonucunda çalışmanın, Fakültemiz Çocuk Cerrahisi, Patoloji ve Biyokimya Anabilim Dallarında yapılacağı ve sorumlusunun Yrd. Doç. Dr. Mustafa İNAN olduğu; araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılabileceğine oybirliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Ahmet ULUGÖL
BAŞKAN
(Farmakolog)

Prof.Dr.Ahmet TEZEL
Klinisyen Üye
KATILMADI
İç Hastalıkları Uzmanı

Yrd.Doç.Dr.Ümit N.BAŞARAN
Klinisyen Üye
Çocuk Cerrahisi Uzmanı

Yrd.Doç.Dr.Sevgi ESİN OCAK
Üye
Biyokimya Uzmanı

Yrd.Doç.Dr.Şemsi ALTANER
Üye
Patolog

Yrd.Doç.Dr.Cengiz TUĞLU
Klinisyen Üye
Psikiyatri Uzmanı

Uzm.Ecz.İmran OĞUZ
Üye
Eczacı

Posta Adresi :
Trakya Üversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel (0-284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0-284)2357652

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DÖKÜMANTASYON MERKEZİ
TEZ VERİ FORMU

Tez No: Konu Kodu: Üniv. kodu:

Tez yazarının
Soyadı : DÜNDAR Adı: Bünyamin

Tezin Türkçe adı : Ratlarda oluşturulan kolonik rezeksiyon-anastomoz modelinde metilen mavisinin doku iyileşmesi üzerine etkisi

Tezin yabancı adı: The effects of methylene blue on the wound healing at the colonic resection-anastomosis modality in rats

Tezin yapıldığı
Üniversite : Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Enstitü: Yılı:2004
Diğer Kuruluşlar
Tezin Türü :1-Yüksek Lisans Dili :Türkçe
2-Doktora Sayfa sayısı : 46
3-Tıpta Uzmanlık Referans sayısı: 74
4-Sanatta Yeterlilik

Tez Danışmanlarının
Ünvanı : Yard. Doç. Dr. Mustafa İNAN

Türkçe Anahtar Kelimeler:
1. Metilen Mavisi
2. Anastomoz
3. Yara İyileşmesi

İngilizce Anahtar Kelimeler:
1. Methylene Blue
2. Anastomosis
3. Wound Healing

27.07.2004