

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE OLUŞTURULAN
İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE DÜŞÜK MOLEKÜL
AĞIRLIKLIL HEPARİN'İN (ENOXAPARİN) ETKİLERİ**

Dr. Toygar SARI

**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hilmi KOCAOĞLU**

**ANKARA
2015**

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr. Toygar SARI	Tarih: 29 / 04 / 2015
Anabilim/Bilim Dalı	: Genel Cerrahi	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Hilmi KOCAOĞLU	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER		
Tezin Başlığı: Deneysel Kolon Anastomozu Modelinde Oluşturulan İskemi – Reperfüzyon Hasarı Üzerine Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin'in (Enoxaparin) Etkileri		
Tezin Niteliği:	<input checked="" type="checkbox"/> Ana Dal Uzmanlık Tezi	<input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	<input type="checkbox"/> 1	<input checked="" type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
<input checked="" type="checkbox"/> Kabulüne	<input type="checkbox"/> Reddine
<input type="checkbox"/> Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
<u>oy birliği</u> / oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Nezih ERVERDİ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof.Dr.Hilmi KOCAOĞLU

Cerrahi Onkoloji Bilim Dalı

Jüri Üyesi

Prof.Dr.Bülent ERKEK

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

TEŞEKKÜR

Kliniğimizi her zaman daha güzel ve daha verimli hale getirmeyi kendine görev edinen, her konuda ilgi ve desteğini gördüğüm, her zaman bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, değerli hocam Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nezih Erverdi'ye;

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin gerçekleşmesinde büyük yardım ve katkıları olan, akademik ve insani yönleri ile örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. Hilmi Kocaoğlu'na;

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan büyük gurur duyduğum, her konuda bilgi ve deneyimlerine başvurduğum değerli hocalarım, kliniğimiz emekli öğretim üyeleri Prof. Dr. Ercüment Kuterdem, Prof. Dr. Semih Baskan, Prof. Dr. Erdal Anadol'a;

Asistanlık eğitimim boyunca, bu aile içine katıldığım ilk andan itibaren her konuda yardımlarını gördüğüm, insani ve mesleki yönlerini her zaman örnek aldığım ve iyi bir cerrah olarak yetişmemde büyük katkıları olan, her zaman minnet ve şükranla anacağım Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli hocalarıma, uzman ve başasistan ağabeylerime;

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

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

Deneyle ve yazım aşaması sırasında yardımlarını esirgemeyen Op. Dr. Salim İlksen Başçeken, Op. Dr. Tevfik Eker, Op. Dr. Can Konca ve Hasan Ferah'a;

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

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

Sonsuz şükran ve teşekkürlerimle

Dr. Toygar SARI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. KOLON ANATOMİSİ.....	3
2.1.1. Çekum.....	4
2.1.2. Çıkan Kolon	4
2.1.3. Transvers Kolon	4
2.1.4. İnen Kolon.....	5
2.1.5. Sigmoid Kolon.....	5
2.1.6. Rektum	6
2.1.7. Kolonun Arterleri Ve Venleri.....	6
2.1.8. Kolonun Lenfatikleri.....	7
2.1.9. İnnervasyon.....	8
2.2. YARA İYİLEŞMESİ.....	9
2.2.1. Hemostaz ve İnflamasyon	9
2.2.2. Proliferasyon	12
2.2.3. Remodeling.....	13
2.3. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİ	13

2.4. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER	15
2.5. İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI	18
2.5.1. Serbest Radikaller	20
2.5.2. Polimorfonükleer Lökositler (PMNL)	21
2.5.3. Komplemanlar	23
2.5.4. Endotel Hücreleri	24
2.6. ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ İNCELEME VE DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ	25
2.6.1. Mekanik İnceleme Yöntemleri	26
2.6.1.1. Anastomoz Patlama Basıncı	26
2.6.1.2. Kopma Direnci (Ayrılma Kuvveti)	26
2.6.2. Biyokimyasal Yöntemler	27
2.6.3. Histopatolojik Değerlendirme	27
2.6.4. Diğer Yöntemler	27
2.7. DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL HEPARİN (DMAH) – ENOKSAPARİN	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. DENEY HAYVANLARI VE ORTAM	30
3.2. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI	30
3.3. AMELİYAT PROSEDÜRÜ	31
3.4. ANASTOMOZ PATLAMA BASINCI ÖLÇÜMÜ	33
3.5. DOKU HİDROKSİPROLİN DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ	34
3.6. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	34
4. BULGULAR	38
4.1. ANASTOMOZ PATLAMA BASINÇLARI	38
4.2. HİDROKSİPROLİN DÜZEYLERİ	38

4.3. GRUPLARIN İSTATİSTİKSEL KARŞILAŞTIRMASI	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	40
6. ÖZET	43
7. ABSTRACT	45
8. KAYNAKLAR	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
C	: Kompleman
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DMAH	: Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ET	: Endotelin
Fe⁺²	: Demir
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
G- CSF	: Granülosit koloni stimüle edici faktör
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
gr	: Gram
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
ICAM	: İnterselüler adezyon molekülü
IFN	: İnterferon
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin

İMA	: İnferior mezenterik arter
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İ/R	: İskemi-reperfüzyon
KDH	: Ksantin dehidrogenaz
KO	: Ksantin oksidaz
LT	: Lenfokin
mcg/mg	: Mikrogram/miligram
MIP	: Makrofaj inflamatuvar protein
ml	: Mililitre
NADPH	: Nikotin amid adenin dinucleotit fosfat
NF-kB	: Nükleer faktör-kB
NK	: Doğal öldürücü
NO	: Nitrik oksit
NO₃⁻	: Nitrat
O₂	: Oksijen
OH⁻	: Hidroksil radikali
PA	: Protein Aktivatör
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
PECAM	: Trombosit endotel hücresi adezyon molekülü
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
PSGL	: P-selektin glikoprotein
SH	: Standardize Heparin
SMA	: Süperior mezenterik arter
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü

Th	: Yardımcı T hücre
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TxA2	: Tromboksan A2
SOD	: Süperoksit dismutaz enzimi
SOR	: Süperoksit radikalleri
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
Zn²⁺	: Çinko

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. İnflamatuvar Sitokinler.....	11
Tablo 2. Kolon Anastomozunun İyileşmesini Etkileyen Lokal ve Sistemik Faktörler	16
Tablo 3. Deney Gruplarının Oluşturulması	31
Tablo 4. Anastomoz Patlama Basınçlarının Ortanca ve Min-Max Değerleri.....	38
Tablo 5. Hidroksiprolin Düzeylerinin Ortanca ve Min-Max Değerleri.....	39

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Resim 1. Ameliyat öncesi hazırlanan rat	35
Resim 2. Rat kolonu vasküler yapısı	35
Resim 3. Ratın Çekum Ve Sağ Kolonu	35
Resim 4. Çıkan Kolonun Mezosu Ve Kollaterallerinin Klemplenmesi.....	36
Resim 5. Kolon Transeksiyonu.....	36
Resim 6. Anastomoz Yapılmış Çıkan Kolon Segmenti.....	36
Resim 7. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçüm Düzeneği	37
Resim 8. İnfüzyon Pompası	37
Resim 9. Monitör	37

1. GİRİŞ

Günümüzde kolorektal cerrahi operasyonlar; birçok hastalıkta sıklıkla uygulanmaktadır. Bu hastalıklar arasında kolorektal kanserler, inflamatuvar barsak hastalıkları, mekanik bağırsak tıkanıklıkları, travma, divetiküler hastalık ve mezenterik vasküler hastalıklar yer almaktadır (1). Diğer major cerrahilerde olduğu gibi kolorektal cerrahi operasyonlarda da ciddi ve ölümcül komplikasyonlarla karşılaşmaktadır. Komplikasyon görülme insidansı, yapılan çalışmalarda %10-30 arasında değişmektedir (2).

Gastrointestinal sistem cerrahisinde anastomoz kaçağı oluşmasına en müsait bölüm kolondur. Anastomoz kaçakları, kolorektal cerrahinin en önemli komplikasyonlarından biri olmakla beraber yüksek morbidite ve mortalite oranlarıyla seyrederek. Kolonda arterler arasındaki bağlantıların azlığı ve içerdiği zengin bakteri florası, yapılan cerrahi müdahaleler sonrasında kaçak oluşmasını kolaylaştırmaktadır (3,4,5). Anastomoz kaçaklarının olası nedenleri arasında iskemi, cerrahi teknik, anastomoz hattında gerginlik olması, lokalize enfeksiyon ve anastomoz distalinde obstrüksiyon sayılabilir (6). Kolon anastomoz iyileşmesinde doku kanlanması ve oksijenizasyonun çok önemli olduğu ispatlanmıştır (7). Cerrahi teknikteki ilerlemelere rağmen halen kolorektal cerrahi sonrası %5-15 arasında komplikasyon görülmektedir (8). Tüm cerrahi teknik gelişmelere rağmen literatürde anastomoz kaçaklarının mortalitesi halen %10 ile %32 arasında değişmektedir (9,10,11).

İskemi, anastomoz iyileşmesini bozan en önemli faktörlerden biridir. Bilindiği gibi kolon, gastrointestinal sistemde iskekiye en müsait organdır (12). Kolon iskemisi her yaşta görülebilmekle beraber kolon damarlarının yaşa bağlı uzaması ve ateroskleroza nedeniyle genellikle (%90) yaşlı hastalarda görülür. Kolorektal ameliyatların da genellikle ileri yaş hastalara uygulanıyor olması, yapılan anastomozların iskekiye maruz kalma olasılıklarını arttırmaktadır (13).

Anastomozların iskemik koşullarda yapılmasını gerektiren bir diğer durumda mezenter iskemidir. Mezenter iskekiye kliniği arteriyel veya venöz obstrüksiyon

sonucunda ortaya çıkabilir. İskemiye oluşturan neden ortadan kaldırıldıktan sonra yapılan anastomozlar ayrıca reperfüzyon hasarıyla da karşı karşıyadırlar (14).

Arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu bu doku veya organların oksijenden yoksun kalması şeklinde tanımlanan iskemi, hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuya hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar. Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır (15,16).

Çalışmamızda, yaygın klinik kullanımı ile birlikte antiinflamatuvar ve immunmodülatör etkili, FXa inhibisyonu ile yara iyileşmesi basamaklarından koagülasyonu engelleyen bir ilaç olan enoksaparinin iskemik barsak anastomozlarının iyileşmesi üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KOLON ANATOMİSİ

Ana işlevi sıvıların absorbe edilmesi ve dışkının boşaltılması olan kolon, 150-200 cm. uzunluğunda, bölümlerince değişken çaplı, gastrointestinal sistemin ileoçekal valvden anüse kadar uzanan son kısmını oluşturur (17). Başlangıçtan itibaren sırasıyla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur. Çıkan kolon ve inen kolon arka yüzleri, splenik fleksura ve hepatic fleksura retroperitoneal yerleşimlidir.

Kolon histopatolojik olarak 3 tabakadan oluşmuştur. Bunlar; içten dışa tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis ve serozadır. Tunika mukoza bağırsak duvarının iç yüzünü kaplar; lamina epitelialis, lamina propria ve muskularis mukoza olmak üzere üç kısımdan oluşur ve villus içermez. Mukus salgılamak üzere özelleşmiş çok sayıda kripta adı verilen mukozal katlantıları vardır. Tunika submukoza, bol kan damarı, lenfatikler, yer yer yağ hücreleri ve lenfatik nodüller içeren gevşek bağ dokusu yapısındadır (18,19).

Kolon, ince barsaklardan haustra koli denilen boğumlarıyla, appendiks epiploica denen yağ kesecikleriyle ve tenyalarıyla ayrılır. İçte sirküler dışta longitudinal şekilde yer alan muskuler tabakanın dış longitudinal lifleri bir araya gelerek kolon duvarında tenia koli adı verilen bantları meydana getirir. Tenia koliler, apendiks radiksinden rektosigmoid bölgeye kadar uzanan tenia libera, tenia mezokolika, tenia omentalis olmak üzere üç şerit oluşturur. Tenyaların uzunluğu kolonun uzunluğundan kısa olduğundan kolon büzülerek 'haustra' denen kesecikleri oluşturur. Kolon tenyaları distalde rektumun longitudinal kas tabakasıyla birleşerek kaybolurlar. Appendiks epiploicalar ise tenyalara tutunarak karın boşluğuna doğru çıkıntı yapan yağ dokularıdır (20,21,22).

2.1.1. Çekum

Çekum, kolonun ilk parçasıdır ve ortalama çapı 4-8 cm. arasındadır. Kolonun en geniş yeridir. Çıkan kolonun antimezenterik tarafındadır ve mezenteri yoktur. Üzeri tümüyle periton ile örtülmüştür. Terminal ileum, çekumun posteromedialinde kolon içine girerek iki dudaktan oluşan anatomik bir sfinkter olan ileoçekal valvi (Bauchini kapağı) oluşturur. İleoçekal valv mekanizmasıyla ileum içeriğinin kolona hızlı geçişi ve regürjitasyonu önlenmiş olur. Appendix, ileoçekal valvin yaklaşık 3 cm. aşağısından çekumdan çıkan ve kör sonlanan bir yapıdır. Ortalama uzunluğu 6-10 cm. dir. Kolonun tenyaları, appendiks lokalizasyonunda birleşir. Appendiks, distal ucunun yerleşimine göre; retroçekal (%65), pelvik (%31), subçekal (%2.3), preilial (%1) ve retroileal (%0.4) olarak sınıflandırılırlar (21,22,23).

2.1.2. Çıkan Kolon

Çıkan kolon, çekumdan karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanan yaklaşık 15–20 cm'lik kolon segmentidir. Karaciğer alt yüzünde sola doğru dönerek hepatik fleksurayı yapar. Arka yüzü retroperitona yapışıkken lateral ve anterior yüzleri peritonla kaplı retroperitoneal bir yapıdır. Çıkan kolonu besleyen kan damarları kolon duvarının medialinden girerek sağ parakolik mesafe boyunca çıkan kolonun mobilizasyonuna imkan verir. Ön yüzde ince barsaklar, omentum majus, karın ön duvarı ile arkada duodenum ile komşuluğu vardır (21,22,23).

2.1.3. Transvers Kolon

Kolonun hepatik fleksura sonrası 35-50 cm uzunluğundaki, dalağın alt ucu altında aşağıya doğru kıvrılarak splenik fleksurayı oluşturan, en mobil ve en uzun olan bölümüdür. Transvers kolon, transvers mezokolon tarafından karın arka duvarına asılıdır. Transvers kolon sağ ucu, duodenum ikinci kısmı ve pankreas baş kısmına tutunmuştur. Pankreas baş kısmından itibaren tamamen periton ile örtülüdür.

Transvers mezokolona yapışan omentum majusda transvers kolonu önden örter (21,22,23).

2.1.4. İnen Kolon

Kolonun splenik fleksuradan sol iliak fossaya kadar uzanan ortalama 25 cm uzunluğunda olan kısmıdır. Küçük pelvis girişinde sigmoid kolonla sonlanır. Arka yüzü gevşek bağ dokusu ile karın arka duvarına yapışıktır. Yan ve ön yüzleri peritonla örtülmüştür. İnen kolonu besleyen kan damarları kolon duvarının medialinden girerek sol parakolik mesafe boyunca inen kolonun mobilizasyonuna imkan verir. Sol testiküler (ovaryan) arter ve sinir, sol eksternal iliak arter ve lomber arter, inen kolonu arkadan çaprazlar. İnen kolonun medialine sol üreter uzanır. Bu komşulukların bilinmesi sol kolonun serbestlenmesi ve/veya rezeksiyonu esnasında önem taşır (21,22,23).

2.1.5. Sigmoid Kolon

İnen kolon distalde daha kalın ve daha hareketli olan sigmoid kolonla birleşir. Kolonun minör pelvis girişinde psoas major kasının medial kenarından başlayıp üçüncü sakral vertebra hizasında rektumla sonlanan kısmıdır. Sigmoid kolon uzun ve sarkık mezosu üzerinde oldukça mobil bir kolon segmentidir. Ortalama 40 cm uzunluğundadır. Sigmoid kolon, lateralinde eksternal iliak damarlar, obturator sinir, duktus deferens veya overler ile arkada üreter, internal iliak damar ve sakral pleksus ile komşuluk halindedir. Sigmoid kolonun distaline doğru incelmeye başlayan tenia koliler rektuma yakınlaştığında tümüyle kaybolur ve rektumu saran longitudinal kas tabası şeklinde devam eder (21,22,23).

2.1.6. Rektum

Kolonun üçüncü sakral vertebra hizasında sigmoid kolonun bitmesi ile başlayıp anüste pectinate çizgiye (dentate line) kadar uzanan son kısmını oluşturur. Ortalama 12 cm uzunluğundadır. Rektum ve sigmoid kolon beraber fekal rezervuar olarak görev yaparlar. Rektumun haustralrı, epiploik çıkıntılarını ve teniaları yoktur. Rektum pelviste sakrum konkavitesine oturmuştur ve tamamen ekstraperitonealdır. Rektumun proksimal 1/3 kısmının ön yüzü visceral peritonla örtülüdür. Öndeki bu peritonla kaplı alana 'Douglas çıkması' adı verilir. Bu bölge karın içi tümörlerin dökülme yeri olması nedeniyle önemlidir. Bu peritoneal metastazların rektal muayene ile hissedilmesine 'Bloomer rafı bulgusu' adı verilir. Peritoneal refleksiyon anal kanaldan erkeklerde 7-9 cm, kadınlarda 5-8 cm mesafededir. Anal kanal pelvik diyafragmada başlar ve anal vergede sonlanır. 4 cm uzunluğundadır. Anatomik anal kanal anodermden dentate çizgisine kadardır. Cerrahi anal kanal ise bunun 1,5 cm proksimalinde anorektal halkaya kadar olan kısımdır. Anal verge anoderm ve perianal derinin birleşim yeridir. Sinirlerden zengin deri eklerinden yoksundur. Dentate çizgisi, anodermin skuamoz epitelinin önce kübik sonra kolumnar epitele dönüştüğü gerçek bir geçiş zonudur. Anal vergeden 1-1,5 cm mesafededir (20,21,22,23).

2.1.7. Kolonun Arterleri Ve Venleri

Kolon abdominal aorta dalları olan süperior mezenterik arter (SMA) ve inferior mezenterik arter (İMA) tarafından beslenir.

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

Sol kolonun ve transvers kolonun 1/3 distalinin arteryel beslenmesini inferior mezenterik arter (İMA) sağlar. İMA aort bifurkasyonunun 2-4 cm proksimalinden, L2-L3 hizasından, aortun ön yüzünden çıkar. Sol kolik arter, sigmoidal arterler ve superior rektal arter İMA'nın dallarıdır. Splenik fleksura ve inen kolona İMA'nın dalı olan sol kolik arter, sigmoid kolona sigmoidal arterler, rektuma da superior rektal arter dallar verir. Superior rektal arter, İMA'nın son dalıdır ve rektosigmoid bölgeyi besler. Orta ve inferior rektal arterler, ve abdominal aorta bifurkasyon noktasından çıkan a.sacralis media, superior rektal arterle beraber rektumun ve anal kanalın beslenmesinden sorumludurlar. Orta rektal arter internal iliak arterin inferior rektal arter ise internal iliak arterin dalı olan pudental arterin dalıdır.

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

Kolonun venleri arterleri izler, superior ve inferior mezenterik venlere dökülürler. Rektumun ve anal kanalın çevresindeki ven pleksusundan çıkan dalların bir kısmı, superior rektal ven vasıtasıyla inferior mezenterik vene, bir kısmı da medial ve inferior rektal venler vasıtasıyla internal iliak vene dökülürler (21,22,23).

2.1.8. Kolonun Lenfatikleri

Kolon submukoza ve muskularis mukozada lokalize lenfatik kanallarla çevrilidir. Sirküler dizimli lenfatikler annüler lezyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle tümörler barsakları genellikle çepeçevre sarma eğilimindedirler. Bu segmental mimari yapı tümörlerin longitudinal intramural yayılımını sınırlar. Submukozal ve serozal zonlara dairesel ilerlemeler, annüler lezyonlarla sonuçlanır. Kolonun lenfatik akımı da arteryel anatomiye izler.

1. Epikolik lenf bezleri; Küçüktür ve hemen kolon duvar üzerinde seröz membranın altında yerleşimlidir.
2. Parakolik lenf bezleri; Barsak duvar ile marjinal arter arter arasında bulunurlar.
3. Mezokolik (intermezenterik) lenf bezleri; Kolonun esas damarları SMA, İMA boyunca uzanırlar.
4. 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, biride altında olmak üzere iki duvarda plexus oluşturur. Üst plexus, arka rektum düğümlerinden süperior rektal arter boyunca bir düğüm zincirine ve İMA boyunca aortik ganglionlara drene olur. Orta ve inferior rektal arteri takip eden lenf ganglionları ise hipogastrik ganglionlara ve pelvis yan duvarlarında iliaka interna lenf ganglionlarına drene olur. Rektum alt, anal kanal ve perineal derinin lenfatik drenaj her iki taraf inguinal lenf bezleri ve A.iliaca interna etrafındaki lenf bezlerine doğru olmaktadır (22).

2.1.9. İnnervasyon

Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun sağ tarafı sempatiklerini çöliak plexustan (T6-12), parasempatiklerini nervus vagustan alırlar. Transvers kolonun sol kısmı, inen kolon, sigmoid kolon, rektum ve anal kanalın üst kısımları sempatiklerini, lumbal splanknik plexustan (L1-3) ve superior hipogastrik plexustan, parasempatiklerini pelvik splahnik sinirlerden, inferior hipogastrik plexustan alırlar (22,23)

2.2. YARA İYİLEŞMESİ

Yara, dokunun farklı nedenlerle anatomik veya fonksiyonel olarak bütünlüğünün bozulması veya kaybı olarak tanımlanabilir. Yaranın iyileşmesi ise, bu bütünlüğün düzeltilmesidir. Yara iyileşmesi, yaralanma anında başlayan, günler, aylar ve yıllarca sürebilen, birbirini takip eden ve iç içe geçmiş 3 evrede incelenir (24,25,26). Bu mekanizmanın açıkça anlaşılabilmesi, cerrahi uygulamalarda yol gösterici olması bakımından oldukça önemlidir (27).

Yara iyileşmesinin evreleri şöyle sıralanabilir;

- Hemostaz ve İnflamasyon (0-6 gün)
- Proliferasyon (3-14 gün)
- Remodeling, Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma (14-300 gün)

2.2.1. Hemostaz ve İnflamasyon

Yaralanma, kan damarlarının hasarlanmasına ve eritrositler ile diğer intravasküler öğelerin ekstravazasyonuna neden olur. Yaralanma sonucu kan damarlarının bu hasarı sonucunda zedelene damarda lokal cevap olarak tromboksan ve prostaglandin 2- α 'nın da etkisi ile vazokonstrüksiyon ve daha sonra prostaglandinlerin etkisi ile vazodilatasyon oluşur ve koagülasyon kaskadı başlar. Oluşan endotel hasarı ile yara bölgesinde lokal olarak bulunan trombin ve açığa çıkan fibriler kollogen ile plateletler aktive olur. Yaralanmadan hemen sonraki en önemli hücre platelettir. Plateletlerin bu aktivasyonunu adezyon ve agregasyon izler. Kollajende bulunan prolin ve hidroksprolin aminoasitleri platelet aktivasyonunun başlangıcında en önemli faktörler olarak görev alır (25). Aktive olan plateletler, granüllerinde bulunan birçok mediatörü serbestleştirir. Bu mediatörler arasında adozin difosfat (ADP), von Willebrand faktör, tromboksan A2, alfa granülleri 5-hidroksitriptofan, fibrinojen, fibronektin ve trombospondin yer alır (28). Von Willebrand faktörü, plateletin fibriler kollajene adezyonunu sağlarken fibrinojen, fibronektin ve trombospondin gib mediatörler platelet agregasyonunda görev alır.

Tüm bu mediatörlerce aktive olan kompleman ve kinin yolakları sonucunda birçok vazoaaktif ve kemotaktik faktör açığa çıkar ve takiben tüm bu olaylar trombosit tıkaçı ve pıhtı oluşumu ile sonlanır (25). Oluşan bu pıhtının içerdiği kollajen, trombosit, trombin ve fibronektin birçok büyüme faktörü ve sitokinin salınımına neden olur (Tablo1) (26,29).

Dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulması ile oluşan doku hasarı ile birlikte kan damarlarından açığa çıkan plazma ve diğer kan elemanları, intrinsek ve ekstrinsek yollar aracılığıyla pıhtılaşmayı başlatır ve her iki yol da fibrinojeni fibrine dönüştürerek kan pıhtılaşmasına yol açan trombin enziminin oluşumunu sağlar (26).

Hemostaz sonrası ilk gelişen olay, lökositlerin hasarlı dokuya akımı ile karakterize olan inflamasyondur. Nötrofiller, koagülasyon yolları sonucunda oluşan bir takım kemotaktik faktörlerin etkisiyle yaralanma bölgesine ilk ulaşan hücrelerdir. Yaralanmayı takiben 6 saat içinde yaralanma bölgesinde görülürler ve maksimum seviyeye 1-2. günlerde ulaşırlar (25). İnflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği kompleman faktörleri, IL-1, TNF- α , TNF- β gibi kemotaktik maddeler nötrofil kemotaksisini uyarır (30,31). Nötrofillerin asıl görevi; hasarlı olan bölgede ölü dokuların temizlenmesi ve enfeksiyonun önlenmesidir. Bunun birlikte kollogenaz ve elastaz salgılayarak hücresel elemanların damar duvarından geçmesini kolaylaştırırlar. Daha sonra monositler ve doku makrofajları, nötrofilleri takip eden süreçte hasarlı bölgeye göç ederek bu dokuda baskın hücre halini alırlar. (48-72 saat). Makrofajlar yara iyileşmesinde fagositoz ve bir antimikrobiyal faktör olarak bulunurken aynı zamanda büyüme faktörlerinin ana kaynağını oluşturarak hücre dışı matriks yapımı, fibroblast proliferasyonu ve endotel hücre proliferasyonunda da görev alırlar (26). Makrofajlar yaralanmanın erken döneminde nitrik oksidi sentezler. Deneysel çalışmalarda nitrik oksit (NO) sentezinin engellenmesinin yara iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir (3).

Tablo 1. İnflamatuvar Sitokinler (26)

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

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

2.2.2. Proliferasyon

Yara iyileşmesi, hemostaz ve inflamasyonu takiben epitelizasyon, anjiogenezis, granülizasyon ve kollajen birikimi ile birlikte olan proliferasyon fazı ile devam eder. Bu fazda yara bölgesine çevre dokulardan gelen fibroblastlar ve yara kenarındaki sağlam venüllerden veya anjiogenezis sonucu yeni oluşan kapillerden ortaya çıkan endotel hücreleri etkinken yaralarda sıvı kaybını engelleyen ve enfeksiyona karşı koyan epitelyal hücre artışı görülür. Yara gerilme gücünde belirgin artış meydana gelir. Endotelyal hücreler ve fibroblastların proliferasyonundan trombosit ve aktive edici makrofajlardan salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri sorumludur (32,33). Trombositler ve makrofajlardan sentezlenen trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) ve EGF fibroblastlar için ana uyaranlardır. Bazal membran sağlamsa epitelizasyon normal şartlarda olduğu gibi yukarı doğru olur. Epitelyal progenitör hücreler epidermisi 2-3 gün içerisinde yeniden oluştururlar. Ancak bazal membran hasarlanmış ise yara dudaklarındaki epitel hücreleri proliferasyon olarak ve çıkıntılar oluşturarak biraraya gelmeye ve koruyucu bir bariyer oluşturmaya çalışırlar (34,35). Yaralanmadan birkaç gün sonra yara kenarındaki veya sağlam bölgedeki epitel yara içine doğru proliferasyon olur (3). Cerrahiden sonraki ilk 24 saat içinde fibroblastlar anastomoz kenarında görülürler ve 3.-5. günde en yüksek düzeye ulaşırlar (36). Bunlar bağ dokusunun ana maddeleri olan kollajen, proteoglikan ve elastini üretirlerken miyofibroblastlara dönüşerek yara kontraksiyonuna da katkıda bulunurlar (37,38).

Kollajen vücuttaki tüm dokularda gücü ve dokuların bütünlüğünü sağlar. Temel olarak 3 aminoasitten – glisin, prolin, lizin- oluşur. Prolin ve lizin hidroksilaz enzimi ile hidroksiproline dönüşür. Bu olayda moleküler oksijen, demir (Fe), alfa ketoglutarat ve C vitamini kofaktör olarak rol oynar. Kollajen fibrilleri arasındaki çapraz bağlar dokunun sağlamlığında önemlidir. Dokularda en sık tip 1 kollajen bulunur ve yıkımı kollajenaz enzimi ile olur (39,40).

2.2.3. Remodeling

Klinik olarak en önemli evreler matürasyonun ve proliferasyonun gerçekleştiği evrelerdir. Bu evrenin en önemli özelliği kollajen birikimi ve organizasyonudur. Kollajen birikimi yaralanmadan itibaren 4-5. haftaya kadar devam eder. Kollajen birikimindeki artış sadece fibroblast sayısındaki artışla değil aynı zamanda hücre başına düşen kollajen üretimi artışıyla da ilişkilidir. Kollajen birikimi yaralanmadan 2-3 hafta sonra en yüksek düzeylere ulaşır. Bütün bu süreçler sırasında kollajen yapımı ve yıkımı dengeli bir biçimde devam eder (41,42).

Gerilme kuvveti kollajen fibrillerinin organize olması ve aralarındaki çapraz bağların sayısının artmasıyla yükselir. Kollajenin gerilim gücü yaralanmadan 3 hafta sonra %30'una ve 3 ay sonra da %80'ine ulaşır. Ancak gerilim gücü yaralanmadan önceki gücün %80'inden fazlasına ulaşamaz (43).

Yara iyileşmesinde bütün bu evrelerle beraber yara kontraksiyonu, epitelizeasyon ve bağ dokusu birikimi olur. Böylelikle yara iyileşmesi tamamlanmış olur (26).

2.3. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİ

Yara, dokunun farklı nedenlerle anatomik veya fonksiyonel olarak bütünlüğünün bozulması veya kaybı olarak tanımlanabilir. Yaranın iyileşmesi ise, birçok mekanizmanın yer aldığı kollajenden yapılmış bir nedbe ile bu bütünlüğün düzeltilmesidir. Yara iyileşmesi esnasında birçok dokuda farklı mekanizmalar görülse de hepsinde ortak ve klasik özellikler mevcuttur. Bununla birlikte yara iyileşmesi esnasında GIS'de bazı farklı özellikler bulunmaktadır. Normal şartlarda dokularda yara iyileşmesi esnasında oluşan gerilme kuvveti, GIS'de daha hızlı oluşmaktadır (44). Diğer dokuların aksine GIS'de fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollogen sentezler.

GIS, duvar yapısı çoklu tabakaya sahip lümenli organlardan oluşmaktadır. Bu tabakalar içten dışa tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis ve

serozadır. Sağlam gastrointestinal sistemde barsak duvarının bütünlüğü ve mekanik gücü ile gerilimini sağlayan ana tabaka, damar ve konektif dokudan zengin ve gevşek bağ dokusu yapısında olan submukoza tabakasıdır. Gastrointestinal sistemdeki kollajenin büyük bir kısmı bu tabakadadır. Ayrıca elastinde içeren submukoza tabakası, yara iyileşmesinde en önemli tabakadır. Aynı şekilde anastomoz yapılmış bağırsakta sütürleri tutan tabaka da submukozadır (4, 45, 46).

Gastrointestinal sistemde anastomoz ve yara iyileşmesi, inflamasyon, proliferasyon ve onarım ile remodelling evreleri olmak üzere 3 evrede incelenebilir (4). GIS'de anastomoz ve yara iyileşmesinde ilk meydana gelen olan yara kenarlarında oluşan vazokonstriksiyondur. Bunu vazoaktif maddelerin salınımı ile kapiller permeabilite artışı ve inflamasyon takip eder. Yaralanmadan 3 saat sonra bölgeye nötrofiller gelir ve 12-24 saat içerisinde maksimum düzeye ulaşırlar. Ardından makrofajlar ve fibroblastlar yara yerine ulaşır. Makrofajlardan salınan sitokinler fibroblastlar ve düz kas hücrelerinde kollajen sentezini ve neovaskülarizasyonu uyarır. 3-4 gün süren bu evrede inflamasyon ve ödem gözlenir. Kollajen sentezinin başlamasıyla proliferasyon evresine geçilir (4, 47, 48). Yaralanmayı takiben dördüncü günden itibaren yara bölgesinde kollogen yapımı ve birikimi belirginleşmeye başlar ve anastomoz kuvvetinde belirgin artış başlar (49) Submukozada sentezlenen kollajen ile yara dudakları arasında köprüler ve çapraz bağlar oluşmaya başlar. İnflamasyon evresinde anastomozu birarada tutan sütürlerin bu dönemde artık bir önemi kalmaz (7.-14. günler) (48).

Remodeling döneminde de granülasyon dokusu azalır ve yerini düzenli hücre gruplarına, düz kas hücrelerine ve normal dokuya bırakır. Bu evre 10-180 gün arası sürebilir. Anastomoz bütünlüğü, kollajen sentez ve yıkımı arasındaki hassas dengeye dayanır (48).

2.4. GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

İyileşme enerji gerektiren bir süreçtir ve bu enerji gereksinimi ATP aracılığıyla giderilir. Başlangıçta ATP gereksinimi anaerobik şartlarda glikoliz ile karşılanabilir. Ancak çok yüksek miktarlarda enerjiye ihtiyaç duyulan proliferasyon fazında ATP'nin primer kaynağı oksidatif fosforilasyondur. Bu da ancak yeterli oksijen ve glukoz sağlayabilen kan akımı varlığında gerçekleşebilir. Hipoksi veya yetersiz glukozun yara iyileşmesini bozduğu gösterilmiştir (50). Bu nedenle anastomoz iyileşmesinde en önemli lokal faktörün yeterli kan akımı olduğu söylenebilir. Bununla beraber birçok lokal ve sistemik faktör anastomoz iyileşmesini etkilemektedir (Tablo 2) (4, 47).

Cerrahi teknikte; anastomoz iyileşmesi için önemli bir faktördür. Kaba cerrahi teknik, aşırı mobilizasyon ve dikiş veya staplerin çok sıkı konulması; anastomoz perfüzyonunu ve yara iyileşmesini bozan faktörlerdir (51). Bununla birlikte yetersiz mobilizasyon da gerginliğe neden olacağı için anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilemektedir. Anastomoz esnasında hemostaz için aşırı koter kullanımı, kontaminasyonun engellenmesi için konulan klempelerin uzun süreli ve sıkı olması, sıkı sütürler ve staplerler kritik damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemi oluşur (51). Ayrıca invert edilmiş anastomozların evert edilmişlere göre daha iyi iyileştiği bilinmektedir (52). Tek tek atılan anastomoz dikişlerinin devamlı olanlara göre daha az lokal iskemi oluşturduğu ve anastomoz kaçığı riskini azalttığı bildirilmiştir (53, 54).

Tablo 2. Kolon Anastomozunun İyileşmesini Etkileyen Lokal ve Sistemik Faktörler
(4, 47)

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

Hipovolemi doku perfüzyonunu azaltarak iyileşmeyi geciktirir (55). Dolaşan kan hacminin ameliyat sırasında %10'luk kaybı durumunda ameliyat sonrası üçüncü günde kolonik ve ileokolik anastomozlarda anlamlı düzeyde kollajen azalması tespit edilmiştir (56). Kan viskozitesinin artışı da anastomoz vasküler dolaşımına zarar verir (27). Yeterli oksijen dağılımı kollajen sentezi sırasında lizin ve prolin hidroksilasyonu, nötrofil ve fibroblast fonksiyonları için gereklidir (57). İskemik dokular; daha zayıf iyileşir ve daha kolay enfekte olurlar (56).

Lokal infeksiyonlar anastomoz kaçaklarının en önemli nedenlerinden biridir. Kolon florasının zengin oluşu ve operasyon sırasında bulaş olması lokal infeksiyonun nedeni olarak gösterilmektedir (58). Enfeksiyon yara dokusunda kollajenaz aktivitesini arttırarak kollajen miktarında azalmaya neden olur (59).

İdeal sütür materyali, anastomotik bütünlük sağlanıncaya kadar gücünü korumalı, minimal doku reaksiyonu oluşturmalı ve infeksiyonu önlemelidir (4, 47).

Kan transfüzyonları immun cevabı baskılar, infeksiyona yatkınlığı arttırır ve intraperitoneal sepsis insidansını arttırarak kolon anastomozu iyileşmesini bozarlar (4).

Kemoterapötikler, fibroblast proliferasyonu inhibe ederek kollajen sentezini azaltır. Ayrıca kemoterapotik ilaçlar yarattıkları ntropeni ile de yara iyileşmesini bozabilir ve yara infeksiyonuna neden olabilirler (4, 47). Kortikosteroidler; antienflamatuar etkileri ile hücre sel fonksiyonları baskılayarak yara iyileşmesini geciktirirler (60). İmmun sistemi baskılanmış insanlarda polimorfonükleer lökositlerin azlığı inflamatuvar fazı bozarak yara iyileşmesini geciktirir (4).

Malnütrisyon ve hipoproteinemi kollajen sentezini bozarak yara iyileşmesini geciktirir (4). Kollajen sentezi için gerekli olan A, B6, C, E vitaminleri, demir (Fe^{+2}), inko (Zn^{-}), selenyum ve bakır eksikliklerinde de iyileşme bozulur (61).

Radyoterapinin yara iyileşmesini kötü etkilediği bilinmektedir. Gastrointestinal sistemde radyoterapinin geç dönem etkileri arasında fibrozis, striktür formasyonu ve endarteritis obliteransa sekonder iskemi sayılabilir (4).

Kolon ameliyatlarından önce, operasyon anında kirlenmenin ve kolon florasının azaltılması için yapılan mekanik barsak temizliğini yapılmasının ve profilaktik antibiyotik kullanımının anastomoz kaçağı riskini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (62).

Sistemik hastalıklar da yara iyileşmesini kötü etkilemektedir. Diabetli hastalarda nötrofil, makrofaj ve lenfosit fonksiyonunun bozulmasına, fibroblast proliferasyonunun azalmasına, mikrovasküler dolaşım bozukluğu yara iyileşmesini kötü etkilemektedir (63). Malign hastalıklar katabolik etkileri nedeniyle iyileşmeyi geciktirirler (64). Karaciğer yetmezliği, sarılık, üremi gibi protein sentezinin bozulduğu hastalıklarda anastomoz iyileşmesi gecikmektedir (65).

Drenlerin bazı durumlarda anastomozu erode edebildiği ve mikroorganizmalar için peritoneal kaviteye retrograd bir yol oluşturdukları bilinmektedir (4). Anastomoz hattında oluşan hematoma da yara iyileşmesini geciktirmektedir (4).

2.5. İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI

İskemi arteriyel ya da venöz kan akımı azalmasına bağlı yetersiz perfüzyon sonucu doku veya organların oksijenden yoksun kalması olarak tanımlanır. Hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücre ölümüne yol açmaktadır. İskemik dokuda hem hücrenin rejenerasyonu, hem de toksik metabolitlerin uzaklaştırılması için yeniden kan akımı gerekir. Ancak, iskemik dokunun reperfüzyonu dokuda paradoksal olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açar (15, 66).

Reperfüzyon hasarında, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücrel yapılar, zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (16).

İskemi, dokulara oksidatif fosforilasyon için gerekli olan oksijen geçişini azaltır. Bunun sonucunda hücre içi adenosin trifosfat (ATP) seviyeleri düşer ve hücrel homeostazis bozulur (67). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na-K-ATPaz pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde sodyum ve kalsiyum iyon konsantrasyonları artar (68). Hücre içinde kalsiyum iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (69). Ayrıca bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış olur. Buna karşın antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız hale getirir. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP (Adenozin monofosfat) ve adenozin oluşur. Adenozin, hızla hücre dışına çıkarak inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu

yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar (66, 70). İskemi devam eder ve toksik maddelerin atılımı sağlanmazsa bu toksik maddeler direkt veya dolaylı olarak dokuda geri dönüşümsüz hasara ve nekroza yol açarlar. Bu nedenle oksidatif fosforilasyonun tekrar başlaması ve toksik maddelerin uzaklaştırılması için iskeminin nedeni bir an önce ortadan kaldırılmalıdır (67).

Gastrointestinal sistemde iskemi çoğunlukla arteriyel tromboembolizm sonucu ortaya çıkar. Daha az sıklıkla ise kalp yetmezliği, sepsis, alfa adrenarjik ilaç kullanımı veya dijital kullanımı gibi durumlarda intestinal kan akımının azalmasına bağlı da oluşabilir. Nadir olarak görülen mezenterik ven tıkanıklığı da arter oklüzyonuna benzer sonuçlar doğurabilir (71, 72).

Ancak iskeminin büyüklüğüne ve süresine göre reperfüzyonla gelen oksijen bu hasarı daha da arttırabilir (Oksijen paradoksu) (73). Splahnik arterlerin iskemi ve reperfüzyonu sonrasında dolaşımsal şok bulguları ortaya çıkar. Bunlar; vasküler permabilite artışı, bunun sonucunda PMNL'lerin aktivasyonu ve adezyon kapasitelerinde artış, proinflamatuvar sitokinlerde ve serbest oksijen radikallerinde artış olarak sıralanabilir (74, 75). İntestinal iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarından en çok mukoza ve submukozanın etkilendiği gösterilmiştir (64). İ/R hasarı sonrası bağırsaklarda mukoza bariyeri bozulur, bakterial translokasyon görülür ve inflamatuvar süreçler başlar. Bunun devam etmesi halinde oluşan sıvı-elektrolit dengesizlikleri tüm vücut homeostazisini bozabilir (76, 77).

İskemi-reperfüzyon hasarı bir dizi kompleks, hücrel ve humoral olayları kapsar (78). Bu hasardan sorumlu tutulan başlıca 4 faktör şunlardır;

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

2.5.1. Serbest Radikaller

İntestinal İ/R hasarına katkı da bulunan faktörlerden biri de serbest radikal hasarıdır. Serbest radikaller mitokondrial reaksiyonlar, KO metabolizması, endotel hücreleri, prostoglandinler ve aktive olmuş nötrofillerin ürünü olarak ortaya çıkar (67). Serbest radikal, eşlenmemiş elektron içeren kimyasal yapılardır. Genelde elektronlar atom veya molekülde eşlenik olarak bulunmaları nedeniyle molekül stabildir ve reaktif değildir. Ancak, moleküle bir elektron ilavesi ya da bir elektron kaybı onu oldukça reaktif ve kararsız bir hale getirir (79). Bu durumda oluşan serbest radikaller, proteinler, lipidler, karbohidratlar ve özellikle hücre duvarı ve nükleik asitler olmak üzere birçok organik ve inorganik madde ile reaksiyona girerler (80).

Normal koşullarda oksijen molekülü mitokondride sitokrom döngüsüne sokularak H₂O'ya dönüştürülür. Bu döngüden kaçan %1-2 oksijen molekülü ise redükte olarak serbest oksijen radikallerini oluşturur. Normal koşullarda oluşan bu SOR'lar endojen antioksidan enzimlerce nötralize edilir. Ancak reperfüzyon sırasında çok yüksek miktarlarda oluşan bu SOR'lar oksidatif stresi artırır ve daha sonra toksik etkiye sebep olur (81).

Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron ilavesi ile oluşur ve serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan ve oksidan hasar oluşumu ile birlikte artan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığı ile hidrojen peroksit (H₂O₂)'e indirgenir (82).

Hidroksil radikali oldukça reaktif ve toksik bir radikaldir. Hidroksil radikali büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeni ile DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi makromoleküllerle reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur (83).

İskemi sırasında ATP hipoksantin oluşturmak için kullanılır. Fizyolojik koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrojenaz (KDH) enziminin ksantine dönüştürülür. İskemi sırasında; artmış intrasellüler kalsiyum KDH'ı KO'a dönüştürür. Bu reaksiyon intestinal dokularda diğer dokulara oranla çok daha hızlı gerçekleşir. Bu nedenle KO miktarının ölçümü intestinal iskeminin derecesinin

belirlenmesinde iyi bir göstergedir (84). Reperfüzyon sırasında dokulara sunulan oksijen; hipoksantin ve KO tarafından süperoksit radikaline dönüştürülür. Oluşan süperoksit radikalleri; süperoksit dismutaz enziminin hidrojen peroksitine (H_2O_2) dönüşür. Hidrojen peroksit ise katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri aracılığıyla H_2O 'ya dönüştürülür (81). Ortamda demir (Fe^{+}) yokluğunda ise hidrojen peroksit Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonlarıyla hidroksil (OH^{\cdot}) radikallerine dönüşür. Hidroksil radikalleri oldukça reaktif ve sitotoksiktir. Hidroksil radikalleri hücre duvarından lipid peroksidasyonuna ve granülositlerin de aktivasyonuna neden olurlar. Aktive olan granülositler salgıladıkları süperoksit radikalleri ve proteazlarla endotel hücre hasarına neden olurlar (84). Süperoksit radikalleri de nitrik oksidi (NO) peroksinitrite çevirerek oluşturdukları lipid peroksidasyonu ile DNA değişiklikleri ve hücre hasarına meydan getirir (85).

2.5.2. Polimorfonükleer Lökositler (PMNL)

Lipid peroksidasyonuna neden olmaları dışında serbest oksijen radikalleri nötrofil aktivasyonuna da neden olurlar (86). Reperfüzyon sürecinde mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir (87). İ/R sırasında aktive olan nötrofillerden C5a, IL-8, LTB₄, PAF gibi kemoatraktör moleküller salgılanır. Sonuçta İ/R ile lökosit aktivasyonu, kemotaksis ve lökosit-endotel hücre adezyonu meydana gelir.14 Lökosit-endotel hücre adezyonuna neden olan moleküller selektinler, β -2 integrin (CD11/CD18) ve immunoglobulinlerdir (ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1) (87, 88).

Diğer taraftan, PMNL'lerin kendileri de yüksek miktarda SOR üretme kapasitesine de sahiptir. İskemi reperfüzyon hasarında PMNL'in rolü ile ilgili aşağıdaki mekanizmalar ileri sürülmüştür (89).

- 1) Mikrovasküler oklüzyon
- 2) SOR salınması
- 3) Sitotoksik molekül salınması

- 4) Vasküler permeabilite artışı
- 5) Sitokin salınımında artış

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

L, P ve E selektin olmak üzere bilinen üç formu bulunmaktadır. İ/R, endoteldeki P-selektin ekspresyonunu artırır. P selektin, PMNL'lerde bulunan P-selektin glikoprotein 1 (PSGL-1) adlı reseptör ile etkileşerek lökosit-endotel hücre adezyonunu meydana getirir (lökosit rolling). Daha sonra lökositlerdeki β -2 integrinler (CD11a/CD18 ve CD11b/CD18) ile endoteldeki interselüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) arasındaki etkileşim sonucunda lökosit adezyonu ve agregasyonu gelişir. Son olarakta, trombosit-endotel hücresi adhezyon molekülü--1 (PECAM-1) ile endotel hücre bağlantıları arasındaki etkileşim ile lökosit transmigrasyonu gerçekleşir. Aktive lökositler diapedez ile damar dışına çıkınca hasar bölgesine doğru göç ederler (90). Oluşan bu lökosit-endotel kompleksi salgıladığı SOR, proteolitik enzimler (elastaz, katalaz, katepsin G) ve peroksidazlarla lokal doku hasarına neden olur (67).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve prostaglandinler (PG) sayılabilir. Aktif PMNL'ler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) sentezine yol açar (88). PMNL'lerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler, mast hücrelerinden selektin ve ICAM gibi adhezyon moleküllerinin salınmasını uyarırlar. Aktif PMNL'ler ayrıca damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları ile damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya da neden olurlar (15, 91). PMNL'lerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu saptanmıştır (91).

Dokuda aktive olan PMNL'ler birçok mekanizma ile hasar oluşturur. Bunlar; araşidonik asit metabolitleri (prostoglandinler ve lökotrienler) salınımı, lizozomal

enzimlerin degranülasyonu ve SOR üretimidir (15). Bu inflamatuvar süreç; mikrovasküler permeabilite artışı, ödem, tromboz ve hücre ölümüne neden olur (15, 92).

İskemik dokunun reperfüzyonu, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşmasına, arteriyoller vazodilatasyonun bozulmasına ve post-kapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına çıkmasına neden olur. Sonuç olarak mikrovasküler fonksiyon bozulur. Reperfüzyonun başlangıcında, endotel hücrelerinden fazla miktarda O₂ oluşurken nitrik oksit (NO) oluşumu ise azalır. Süperoksit radikalleri ile NO arasındaki dengenin bozulması, endotel hücrelerinden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına ve lökosit-endotel hücre adezyonunun artmasına neden olur (93).

Nötrofiller, granüllerinde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz enzimlerini içerirler. Nötrofil degranülasyonu sonucu serbest kalan bu enzimler doku hasarına neden olurlar. Ayrıca nötrofil degranülasyonu sonucu apolaktoferrin, doku plazminojen aktivatörü, elastaz, kollajenaz ve jelatinaz gibi proteolitik enzimlerde açığa çıkmaktadır. Bu enzimler de damar endotelinde hasara sebep olurlar (94).

2.5.3. Komplemanlar

İskemi-reperfüzyon sırasında kompleman sistemi de aktive olur. Bu aktivasyon sonucunda C3a, C3b, C5a ve C5b gibi proinflamatuvar sitokinler aktive olur ve lökositleri aktive ederler. Kompleman sisteminin aktivasyonu ayrıca lökosit adezyon moleküllerini de aktive eder. Bunlar; vasküler hücre adhezyon molekülü 1 (VCAM-1), interselüler adhezyon molekülü 1 (ICAM-1), E-selektin ve P-selektinidir (95).

Ayrıca İ/R hasarı proinflamatuvar gen ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri üzerinde etkili proteazları aktive eder. Proinflamatuvar gen ekspresyonunu kontrol eden bu transkripsiyon faktörleri; protein aktivatör (PA-1) ve

nükleer faktör-kB (NF-kB)'dir. Bu transkripsiyon faktörlerinin ürünleri; enzimler (iNOS, fosfolipaz A2, sikloksijenaz), sitokinler (TNF- α , IL-1, IL-6) ve adezyon molekülleridir (ICAM-1) (85). Kompleman sisteminin aktivasyonu, açığa çıkan NF-kB'lerin ekspresyonunu arttırarak iNOS oluşumunu arttırır (85).

Kompleman sisteminin aktivasyonu yol açtığı nötrofil aktivasyonu dışında reperfüzyon sonrası SOD seviyelerini de düşürerekte İ/R hasarının artışına yol açar (85). C5a ayrıca makrofaj inflamatuvar protein-1a (MIP-1a), MIP-1b, MIP-2, monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, TNF- α , IL-1 ve IL-6 üretimini uyararak inflamatuvar yanıtı daha da arttırır. C5b ise endotelde cGMP (siklik guanozin monofosfat)'ı azaltarak vasküler tonusu bozar ve vazodilatasyon inhibisyonu yapar (95, 97, 98).

2.5.4. Endotel Hücreleri

İskemi-reperfüzyon hasarının oluşmasında önemli role sahip hücrelerden biri de endotel hücreleridir. SOR'leri endotel hücrelerinin aktivasyonuna ve işlevlerinin bozulmasına neden olur. SOR ile hasarlanan endotel hücreleri kendileri de SOR üretimine başlarlar (99). Normal endotel, mikrovasküler homeostazdan sorumlu olan endotelin (ET)'i ve NO'yu üretir. NO; arteriyel dolaşımda vazodilatatör etkili iken ET'in etkisi vazokonstruksiyondur (venlerde tam ters etki). İ/R hasarında ET/NO oranı endotelin lehine bozulur. Sonuç olarak arteriyel vazokonstriksiyon ve venöz vazodilatasyon gelişir (99).

Endotel hücrelerinin hasarı sonucu kompleman sistemi aktive olur ve lökosit adhezyon moleküllerinin üretiminde artış olur. SOR etkisi ile endotel hücreleri hasara yanıt olarak IL-1, PAF, prostaglandinler (PG I2, PG E2), büyüme faktörleri, endotelin, NO ve tromboksan A2 (TxA2) salgırlar. Hasarlanan endotel hücreleri ayrıca kendi bazal membranlarını yıkan kollajenaz enzimlerini salgırlar (100).

İskemi-reperfüzyon hasarı sırasında oluşan serbest radikallerden NO ayrıca öneme sahiptir. Normal şartlarda NO nitrik oksit sentaz enziminin L-arjininden

sentezlenir. Bu enzimin kalsiyum bağımlı nitrik oksit sentaz (cNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olmak üzere iki izoformu vardır (101). Nitrik oksidin aşırı sentezi sonucu iNOS yoluna girerek üretilen NO intestinal İ/R hasarına önemli katkı sağlar (75, 85). Bununla birlikte cNOS yoluyla üretilen NO ise İ/R hasarı sırasında bağırsakları koruyucu özellik taşımaktadır (102). Her ne kadar NO'nın vasküler düz kasları gevşeterek oluşturduğu vazodilatasyon mikrovasküler yatak için yararlı olsa da; NO paradoksal olarak sitotoksik radikal üretimine de yol açabilmektedir (103).

2.6. ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ İNCELEME VE DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Anastomoz iyileşmesinin değerlendirme parametreleri mekanik, biyokimyasal ve histolojik olarak incelenebilir. Ancak nadir kullanılan diğer bazı yöntemler de bulunmaktadır.

GIS çalışmalarında anastomoze bölgede kolon patlama basıncı ve yine aynı dokuda hidroksiprolin düzeyi ölçümleri, anastomoz iyileşme, inceleme ve değerlendirmesi için en iyi ölçümlerdir (104, 105). Patlama basıncı, kolon anastomozunun kuvvetini en iyi gösteren mekanik parametrelerdendir. Yine kolon anastomozunu değerlendirme parametrelerinden biyokimyasal gösterge olarak, kollajen öncüsü olan anastomoz düzeyi doku hidroksiprolin düzeyi ölçümleri kullanılmaktadır (106). Sonuç olarak anastomoz iyileşme hızının bir göstergesi olarak perianastomotik hidroksiprolin düzeyi ve kolonik patlama basıncı beraber kullanılabilir. Histopatolojik inceleme de çoğu zaman kantitatif bir araç olmasa da, doku seviyesinde iyileşmenin saptanması açısından önemli bir gösterge olabilir (107, 108, 5).

2.6.1. Mekanik İnceleme Yöntemleri

2.6.1.1. Anastomoz Patlama Basıncı

Anastomoz patlama basıncı, anastomoz uygulanan barsak segmentlerinin, artan lumen içi basınca karşı direncini gösteren bir parametredir. Bu ölçüm yönteminin temeli, patlama basıncı ölçülecek barsak alanının hava veya sıvı ile şişirilmesi ve manometre aracılığı ile basıncın kaydedilmesidir. Bu yöntemin kullanımının oldukça uzun bir geçmişi vardır. Uygun hızda artırılan (2-12 ml H₂O/dk) lümen içi basıncı, doğru sonuçlar elde edilmesini sağlar. Anastomoz patlama basınçları değerlendirilerek yapılmış birçok çalışma incelendiğinde, patlama basıncı değerlerinin çalışmalar arası kıyaslamamanın uygun olmadığı sonucu ortaya çıkmıştır. Ancak yapılan çalışmalar, patlama basıncının anastomoz yapıldıktan sonraki 2-3. gün en düşük düzeyde olduğunu göstermiştir. Takip eden günlerde hızlı bir şekilde artarak 7. gün normal kolon segmentindeki düzeye ulaşır ve bu dönemde patlama anastomoz dışında bir yerden gerçekleşir. Ameliyat sonrası erken dönemde, anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesi için en uygun yöntemin anastomoz patlama basıncı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte çalışmalarda patlama basınçları ancak aynı çalışmanın kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı ve güvenilir bir değerlendirme yapılabilmektedir (47, 48, 106).

2.6.1.2. Kopma Direnci (Ayrılma Kuvveti)

Anastomoz hattını içeren barsak ansının uzun eksenine paralel kesilerek, standart genişlik ve uzunlukta hazırlanan bir şeridin iki ucuna karşıt yönlerde kuvvet uygulanırken kopmayı sağlayan kuvvetin ölçümüdür. Bu işlem 'gerilim ölçer' adlı bir cihaz kullanılarak uygulanmaktadır. Bu yöntem, özellikle ikinci haftaya kadar olan değerlendirilmelerde kullanılmakla birlikte uygulanan kuvvetin tüm duvara eşit olarak dağılmasının mümkün olmayacağı varsayılarak güvenilir kabul edilmemiştir (106).

2.6.2. Biyokimyasal Yöntemler

Submukozal doku bulunan kollajen barsak duvarının devamlılığını ve mekanik kuvvetini oluşturur. Bunun sonucunda anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal parametresi kollajen konsantrasyonudur. Kollajenin yapıtaşlarından biri olan hidroksiprolinin (OH-Prolin) omurgalıların dokularında hemen hemen yalnızca kollajende (kollajende %14 ve elastinde %2) bulunur. Hidroksiprolin dağılımının bu tek tipliliği sayesinde kollajen metabolizması ve dolayısıyla yara iyileşmesi durumu gözlemlenebilir (109).

Hidroksiprolin düzeyi birim yaş dokuda ağırlık olarak ($\mu\text{g}/\text{mg}$ yaş doku) olarak değerlendirilir. Non-kollajen matriks proteinleri ihmal edilerek hidroksiprolin düzeyinin doğrudan kollajen içeriğini yansıttığı kabul edilmiştir (109).

Anastomoz iyileşmesinde kollajen miktarı kadar kollajenin kalitesi ve çaprazlaşma yeteneği de önemlidir; ancak bunu direkt olarak belirleyebilecek bir yöntem bulunamamıştır (47, 106, 109).

2.6.3. Histopatolojik Değerlendirme

Anastomoz bölgesindeki inflamatuvar hücrelerinin tipleri ve miktarları, nekrozun ve neovaskülarizasyonun derecesi ve kollajen lif yoğunlukları semikantitatif olarak belirlenerek ve çeşitli skora sistemleri geliştirilmiştir. Nekrozun ve inflamasyonun fazla olması daha zayıf iyileşme olarak değerlendirilir (110, 111).

2.6.4. Diğer Yöntemler

Anastomoz hattında yara iyileşmesini değerlendirmek amacıyla kullanılan sintigrafik olarak fibroblast aktivitesinin incelenmesi, doppler ultrasonografi, lokal

ısı ölçümleri, flörsan ile boyama, radyoaktif işaretli fibroblast sayımı ve mikroanjiografi gibi yöntemlerde mevcuttur (47, 106).

2.7. DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL HEPARİN (DMAH) – ENOKSAPARİN

Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinler (DMAH), Standart Heparinlerin (SH) yaralılığını artırmak ve yan etkilerini azaltmak amacıyla, SH'nin polimerizasyonu yoluyla üretilmiş ve önemli antitrombotik bileşikler olarak klinik kullanıma girmişlerdir (112).

Antitrombotik etkilerini, antirombin III'e bağlanarak aktivitesini arttırmak ve bu akitvasyona bağlı olarak trombin ve faktör Xa'yı inhibe ederek gösterirler (112). DMAH'ler, SH'e göre daha iyi biyoyararlanım ve daha uzun yarılanma ömrüne sahip olması, antikoagülan etkinliğinin SH'e göre daha az olması nedeniyle major kanama komplikasyonunun daha az olması, daha düşük oranda trombositopeni görülmesi, daha pahalı olmasına rağmen uygulama esnasında laboratuvar monitorizasyonuna ihtiyaç duyulmaması ve buna bağlı olarak hastanede yatış sürelerinin kısalması, uygulama esnasında tıbbi personel ihtiyaç duyulmaması yönlerinden klinik uygulamalarda SH'in yerini almıştır. DMAH'ler vitronektin, lipoproteinler, fibrinojen, trombosit faktörü 4 ve Von Willebrand faktörü gibi plazma proteinlerine daha az bağlanırlar. Avantajlarının çoğu bu nedenledir. (113,114,115,116,117)

DMAH'ler, venöz tromboembolizm olgularının profilaksi ve tedavilerinde, pulmoner emboli tedavisinde, unstabil anjina ve akut koroner sendrom tedavisinde diğer tedavilere ek olarak ve hemodiyaliz sırasında ekstrakorporeal dolaşımda tromboz oluşumunun önlenmesinde klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır (118). Bununla birlikte trombotik ve vasküler inme, periferal arter hastalıkları, kanser, inflamatuvar hastalıklar ve hamilelik ve ileri yaş ile ilgili olan trombotik hastalıklar gibi hastalıkların tedavisinde de etkinliği, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (119).

Heparin ve DMAH'ler, keşfedildiği ve klinik kullanıma girdiği günden itibaren birçok değişik çalışmalara konu olmuştur. Önceleri sadece venöz tromboemboli tedavi ve profilaksisinde kullanılmakta iken son yıllarda çeşitli amaçlarla araştırmalar yapılmaktadır.

Bu araştırmalardan bir kısmı heparin ve türevlerinin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemek ve olumlu etkilerinden yararlanmak amacıyla yapılmaktadır. Yara iyileşmesi üzerine etkileri, fibronolitik aktivite ve antikoagülan ile antitrombotik mekanizmalar, antiinflamatuvar ve immunmodültör etkileri üzerinden olduğu düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI VE ORTAM

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelenerek etik kurul yönergelerine uygun görülerek onaylandı. Ameliyatlar, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada 30 adet, 6- 8 haftalık ortalama 250-350 gr ağırlığında, Wistar-Albino soyuna ait dişi rat kullanıldı. Randomize olarak seçilen her biri 10' ar adet hayvan içeren 3 grup oluşturuldu. Tüm deney süresince hayvanlar $21\pm 3^{\circ}$ C oda ısısında, nem oranı %60 olan ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsüne sahip laboratuvarda takip edildi. Deney hayvanlarının beslenmesi için standart yem ve musluk suyu kullanıldı.

3.2. DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

30 adet rat, her biri 10' ar hayvandan oluşan 3 gruba ayrıldı.

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

2. grup: 10 Adet Wistar-Albino ratta 60 dakika iskemi ve daha sonra 60 dakika reperfüzyon uygulanmasını takiben kolon transeksiyonu ve uc-uca kolon anastomozu

3. grup: 10 Adet Wistar-Albino ratta 60 dakika iskemi ve daha sonra 60 dakika reperfüzyon uygulanmasını takiben kolon transeksiyonu ve uc-uca kolon anastomozu + operasyondan 12 saat önce 20 mg 0,2 ml düşük molekül ağırlıklı heparin (Enoksaparin) ciltaltı yolla ve operasyon sonrası ilk dozu 12 saat sonra

günde tek doz yapılmak üzere 20 mg 0,2 ml düşük molekül ağırlıklı heparin (Enoksaparin) ciltaltı yolla uygulanacaktır (Tablo 3).

Tablo 3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Gruplar	Gruptaki hayvan sayısı
Normal Kolon Anastomozu (Grup 1)	10
İskemi-Reperfüzyon Sonrası Kolon Anastomozu (Grup 2)	10
İskemi-Reperfüzyon Sonrası Kolon Anastomozu+ Enoksaparin (Grup 3)	10

3.3. AMELİYAT PROSEDÜRÜ

Oluşturulan gruplar arasında randomize olarak seçilen deney hayvanları, 12 saat açlığı takiben Xylazine (5mg/kg) ve Ketamine (40 mg/kg) karışımı tek ciltaltı injeksiyon uygulanarak anestezileri sağlanarak uyutuldu.

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

Birinci grup (kontrol grubu) anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı (Resim 2-3). Çekumun 5 cm. distalindeki çıkan kolon segmenti barsak uzun eksenine dik olacak şekilde transekte edildi. Daha sonra 5/0 absorbabl monoflaman olan polidiaksanon (PDS) ile tek tabaka ve tek tek invert edici sütürlerle, uç-uca kolokolonik anastomoz tamamlandı.

Ameliyat sonrası deney hayvanlarının fascia ve ciltleri 2/0 monofilaman dikişlerle devamlı olarak kapatıldı ve ameliyata son verildi.

İkinci grup (İ/R grubu) anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı. Treitz ligamanı bulundu ve bu ligaman kesilerek Superior Mezenterik Arter (SMA) aortadan çıktığı yerden atravmatik mikrovasküler klemp ile oklude edildi. İnce barsaklara kolondan gelen kollateral damarlar, tek tek atravmatik mikrovasküler klemler yardımıyla oklude edildi (Micro Clip, Straight, 0.8x6mm GerMedUSA inc.) ve barsaklar 60 dakika iskemiye bırakıldı. (Resim 4) Barsaklarda solukluk izlenmesi ve nabzın kaybolmasının ardından 60 dk iskemi ve iskemiye takiben klemler açıldığında barsakların pembe renk alması ve nabızların geri gelmesi ile 60 dk reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonu takiben çekumun 5 cm. distalindeki çıkan kolon segmenti barsak uzun eksenine dik olacak şekilde transekte edildi. (Resim 5) Daha sonra 5/0 absorbabl monofilaman olan polidiaksanon (PDS) ile tek tabaka ve tek tek invert edici sütürlerle, uç-uca kolokolonik anastomoz tamamlandı. (Resim 6) Ameliyat sonrası deney hayvanlarının fascia ve ciltleri 2/0 monofilaman dikişlerle devamlı olarak kapatıldı ve ameliyata son verildi.

Üçüncü grup (İ/R + Enoksaparin grubu) ratlara, işlemden 12 saat önce tek doz 20 mg 0,2 ml SC yolla Enoksaparin uygulandı. Daha sonra ameliyat masasına alınan hayvanlara anestezi verilmesini takiben 3 cm. laparotomi yapıldı. Çekum ve kalın bağırsaklar dışarı alındı. Treitz ligamanı bulundu ve bu ligaman kesilerek Superior Mezenterik Arter (SMA) aortadan çıktığı yerden atravmatik mikrovasküler klemp ile oklude edildi. İnce barsaklara kolondan gelen kollateral damarlar, tek tek atravmatik mikrovasküler klemler yardımıyla oklude edildi (Micro Clip, Straight, 0.8x6mm GerMedUSA inc.) ve barsaklar 60 dakika iskemiye bırakıldı. Barsaklarda solukluk izlenmesi ve nabzın kaybolmasının ardından 60 dk iskemi ve iskemiye takiben klemler açıldığında barsakların pembe renk alması ve nabızların geri gelmesi ile 60 dk reperfüzyon uygulandı. Reperfüzyonu takiben çekumun 5 cm. distalindeki çıkan kolon segmenti barsak uzun eksenine dik olacak şekilde transekte edildi. Daha sonra 5/0 absorbabl monofilaman olan polidiaksanon (PDS) ile tek tabaka ve tek tek invert edici sütürlerle, uç-uca kolokolonik anastomoz tamamlandı.

Ameliyat sonrası deney hayvanlarının fascia ve ciltleri 2/0 monofilaman dikişlerle devamlı olarak kapatıldı ve ameliyata son verildi. Ameliyat sonrası ilk dozu 12. saatte uygulanmak üzere günde tek doz 20 mg 0,2 ml düşük molekül ağırlıklı heparin (Enoksaparin) ciltaltı yolla uygulandı.

Tüm gruplara operasyon bitişinde hidrasyon amaçlı intraperitoneal 5ml izotonik NaCl enjekte edildi. Postoperatif dönemde ratlar, standart yem ve su ile beslendi.

Postoperatif 7. gün tüm ratlar, intramüsküler 40 mg/kg ketamin ve 5mg/kg xylazine ile genel anestezi sağlanarak ve median laparotomi yapılarak, anastomoz patlama basıncı ölçülmesi ve doku hidroksiprolin düzeyi ölçümü için anastomoz bölgesini içine alacak şekilde 5 cm lik kolon segmenti rezeke edilmesini takiben doku örnekleri alınarak yüksek doz anestezi madde verilerek kurban edildi.

Doku örnekleri, patlama basıncı tayini ölçümü sonrasında doku hidroksiprolin düzeyi ölçümleri amacıyla -80 °C saklanmak üzere buzdolabına kaldırıldı.

3.4. ANASTOMOZ PATLAMA BASINCI ÖLÇÜMÜ

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

3.5. DOKU HİDROKSİPROLİN DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ

Parçalar çalışma gününe kadar -80 derecede dondurularak saklandı. Çalışma günü oda sıcaklığında çözülen doku örnekleri üzerindeki nem kurutma kağıdı ile alındı. Doku örnekleri hassas terazi ile tartıldıktan sonra serum fizyolojik içinde homojenize edildi. Homojenatlar daha sonra 2000 rpm'de 15 dk santrifuje edildi. Elde edilen supernatantlara eşit miktarda HCl katılarak 16-18 saat hidrolize edildi. Dokuların asit hidrolize uğratılmasıyla açığa çıkan hidroksiprolin, kloramin T ile okside edildi. Daha sonra Ehrlich reaktifi ile reaksiyona girerek oluşturduğu kromofor bileşik, spektrofotometrik olarak (560nm) ölçüldü. Doku hidroksiprolin düzeyi mikrogram/mg yaş doku olarak hesaplandı (120).

3.6. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

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

Bu tez çalışmasında, 3 grubu oluşturan ratlar anastomoz patlama basıncı ve hidroksiprolin düzeyleri ölçülerek karşılaştırıldı. Bağımsız grupların karşılaştırılması amacıyla denek sayısı gözönünde bulundurularak normallik testleri uygulanmaksızın parametrik olmayan tek yönlü varyans analizi (Kruskal Wallis) uygulandı ve bağımsız gruplar arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunması durumunda posthoc testlerle farklılığı yaratan gruplar belirlendi. Sonuçlar ilgili tablolarda ortanca, minimum ve maksimum değerler kullanılarak özetlenmiştir. Analizlerin gerçekleştirilmesi amacıyla SPSS 15.0 paket programı kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir.



Resim 1. Ameliyat öncesi hazırlanan rat



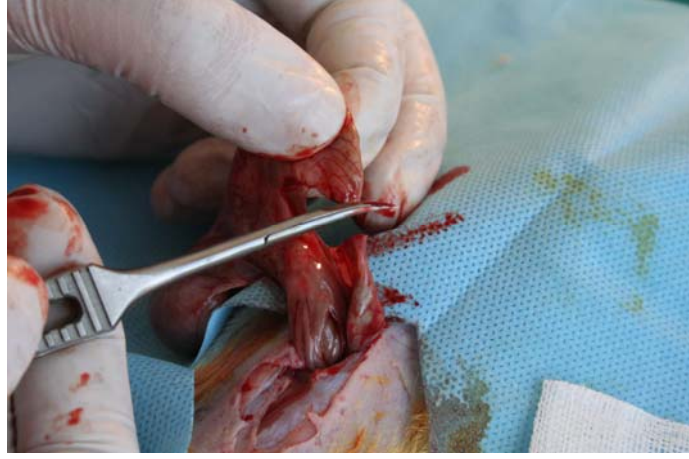
Resim 2. Rat kolonu vasküler yapısı



Resim 3. Ratın Çekum Ve Sağ Kolonu



Resim 4. Çıkan Kolonun Mezosu Ve Kollaterallerinin Klemplenmesi



Resim 5. Kolon Transeksiyonu



Resim 6. Anastomoz Yapılmış Çıkan Kolon Segmenti



Resim 7. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçüm Düzeneği



Resim 8. İnfüzyon Pompası



Resim 9. Monitör

4. BULGULAR

Deney süresince hayvanlardan ölen veya deney dışı bırakılan olmamıştır.

4.1. ANASTOMOZ PATLAMA BASINÇLARI

Tüm ratlarda operasyondan 7 gün sonra anastomoz patlama basıncı ölçümleri yapılmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Anastomoz Patlama Basınçlarının Ortanca ve Min-Max Değerleri

Grup (n= 10)	Anastomoz Patlama Basınçları (mm-Hg)	
	Ortanca	(min- max)
Kontrol	247,50	(189 - 284)
İskemi-Reperfüzyon	152,50	(113 - 169)
İskemi-Reperfüzyon + Enoksaparin	223,50	(181 - 326)

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

4.2. HİDROKSİPROLİN DÜZEYLERİ

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

Tablo 5. Hidroksiprolin Düzeylerinin Ortanca ve Min-Max Değerleri

Grup (n= 10)	Hidroksiprolin Düzeyleri (mcg/mg)	
	Ortanca	(min- max)
Kontrol	0,2860	(0,2370 - 0,4400)
İskemi-Reperfüzyon	0,1435	(0,910 - 0,2280)
İskemi-Reperfüzyon + Enoksaparin	0,2850	(0,1820 – 0,4310)

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

4.3. GRUPLARIN İSTATİSTİKSEL KARŞILAŞTIRMASI

Rastlantısal değişkenlerin 3 grup arasındaki karşılaştırılması Kruskal-Wallis varyans analizi ile yapılmıştır. Kruskal-Wallis test istatistiğinden elde edilen p-değeri anlamlı olduğunda, hangi grupların hangisinden farklı olduğunu belirlemek amacıyla çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. p-değeri 0.05'ten küçük olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

Anastomoz patlama basınçları açısından karşılaştırma yapıldığında normal anastomoz grubuyla iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). Ayrıca iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubuyla; İ/R + enoksaparin uygulanan grup arasında da anlamlı farklar saptanmıştır ($p<0,001$).

Hidroksiprolin düzeyleri açısından karşılaştırma yapıldığında normal anastomoz grubuyla iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p<0,001$). Ayrıca iskemi-reperfüzyon sonrası anastomoz grubuyla; İ/R + enoksaparin uygulanan grup arasında da anlamlı farklar saptanmıştır ($p<0,001$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde birçok hastalık için sıklıkla uygulanan kolorektal cerrahi operasyonlarda; diğer birçok major cerrahi operasyonlarda olduğu gibi bir takım komplikasyonlarla karşılaşmaktadır. Bu komplikasyonlar ciddi ve mortalite riski bulunan komplikasyonlar olabilir. Major cerrahi operasyonlardan sonra komplikasyon görülme insidansı, yapılan çalışmalarda %10-30 arasında değişmektedir (2).

Kolorektal cerrahinin en önemli komplikasyonlarından biri, ciddi morbidite ve mortalite riski bulunan anastomoz kaçaklarıdır. Kolonda arterler arasındaki bağlantıların azlığı ve içerdiği zengin bakteri florası, yapılan cerrahi müdahaleler sonrasında kaçak oluşmasını kolaylaştırmaktadır (3,4,5). Cerrahi teknikteki ilerlemelere rağmen halen kolorektal cerrahi sonrası %5-15 arasında komplikasyon görülmektedir (8). Tüm cerrahi teknik gelişmelere rağmen literatürde anastomoz kaçaklarının mortalitesi halen %10 ile %32 arasında değişmektedir (9,10,11). Anastomoz kaçaklarının birçok olası nedeni bulunmakla birlikte kolon anastomoz iyileşmesinde doku kanlanması ve oksijenizasyonun çok önemli olduğu ispatlanmıştır (7).

Cerrahide uygulanan anastomozların doku kanlanması ve oksijenizasyon açısından en riskli olduğu ameliyatlar, arteriyel veya venöz obstrüksiyon sonucu ortaya çıkabilen Mezenter İskemi vakalarıdır. Mezenter iskemi vakalarında anastomozlar iskemi ile karşı karşıya kaldığı kadar aynı zamanda iskemi ortadan kalktığında reperfüzyon hasarı riski altındadır (14).

Mezenter İskemi vakalarında ameliyat sonrası dönemde en önemli mortalite nedeni, anastomoz kaçaklarıdır (107). Bu kadar yüksek mortalite oranları, iskemik dokularda anastomozların teknik olarak ve mevcut anastomozların güçlendirilmesine yönelik birçok çalışmayı beraberinde getirmektedir.

İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası yapılan anastomozların güvenliğine katkıda bulunabilecek birçok molekül ve yöntem, deneysel olarak denenmiştir. Antioksidan maddelerin birçoğu, gen ve kök hücre tedavileri, bir takım vasodilatör ajanlar, kemokinler, hiperbarik oksijen yöntemleri ve hormonal tedaviler, bu yöntem ve maddelerden bazılarıdır. (118, 121)

DMAH'ler, venöz tromboembolizm olgularının profilaksi ve tedavilerinde, pulmoner emboli tedavisinde, unstabil anjina ve akut koroner sendrom tedavisinde diğer tedavilere ek olarak ve hemodiyaliz sırasında ekstrakorporeal dolaşımda tromboz oluşumunun önlenmesinde klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır (118). Bununla birlikte trombotik ve vasküler inme, periferal arter hastalıkları, kanser, inflamatuvar hastalıklar ve hamilelik ve ileri yaş ile ilgili olan trombotik hastalıklar gibi hastalıkların tedavisinde de etkinliği, yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (119).

Bununla birlikte iskemi-reperfüzyon çalışmalarında etkinliği gösterilen DMAH'lerin, son zamanlarda yara iyileşmesi üzerine fibrinolitik aktivite ve antikoagulan ile antitrombotik mekanizmalar, antiinflamatuvar ve immunmodülatör etkileri dolayısıyla olumlu etkisi olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu etkiler göz önüne alındığında bu çalışmada, daha önce birçok defa iskemi-reperfüzyon modellerinde uygulanan ve olumlu sonuçları bulunan Enoksaparin'in, iskemi-reperfüzyon hasarı ile karşı karşıya olan deneysel kolon anastomozlarında yara ve anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda, iskemi-reperfüzyon uygulanan grupta, kontrol grubuna göre anastomoz patlama basıncı ve hidrokspirolin düzeylerinde anlamlı farklar saptanmıştır. Ayrıca iskemi-reperfüzyon sonrası enoksaparin uygulanan grupta anastomoz patlama basınçları ve hidrokspirolin düzeyleri bakımından, kontrol ve iskemi-reperfüzyon grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde olumlu farklar saptanmıştır.

Uyguladığımız deney modelinde iskemi-reperfüzyon hasarına uğramış bağırsak segmentleri arasında yapılan anastomozlara enoksaparinin günlük uygulanmasının olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Bununla birlikte geri dönüşümsüz iskemi bulguları ve nekroze dokuyu düzeltebilecek herhangi bir madde olmadığı aşıkardır. Bu nedenle bu dokuların rezeksiyonunu takiben canlılığını yitirmemiş bağırsak segmentleri arasında yapılan anastomozlar sonrası enoksaparin uygulamaları anastomoz iyileşmesine katkıda bulunabilir. Ancak iskemik şartlarda anastomozların yapıldığı hasta grubu gözönüne alınması gerektiği unutulmamalıdır.

Sonuç olarak klinikte yaygın kullanımlı bir Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin olan Enoksaparin, birçok klinik kullanım ile beraber iskemik barsak anastomozlarına karşı da etkilidir.

6. ÖZET

Deneysel Kolon Anastomozu Modelinde Oluşturulan İskemi-Reperfüzyon Hasarı Üzerine Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin'in (Enoksaparin) Etkileri

Günümüzde major cerrahide en önemli komplikasyonlarından biri, ciddi morbidite ve mortalite riski bulunan anastomoz kaçaklarıdır. Tüm cerrahi teknik gelişmelere rağmen anastomoz kaçaklarının mortalitesi halen %10 ile %30 arasında değişmektedir. Anastomoz kaçaklarının birçok olası nedeni bulunmakla birlikte kolon anastomoz iyileşmesinde doku kanlanması ve oksijenizasyonun çok önemli olduğu ispatlanmıştır.

İskemi-reperfüzyon hasarı sonrası yapılan anastomozların güvenliğine katkıda bulunabilecek birçok molekül ve yöntem, deneysel olarak denenmiştir. DMAH'lerin, birçok klinik kullanımla birlikte son zamanlarda yara iyileşmesi üzerine fibrinolitik aktivite ve antikoagulan ile antitrombotik mekanizmalar, antiinflamatuvar ve immunmodülatör etkileri dolayısıyla olumlu etkisi olduğu düşünülmektedir.

Tüm bu etkiler göz önüne alındığında bu çalışmada, daha önce birçok defa iskemi-reperfüzyon modellerinde uygulanan ve olumlu sonuçları bulunan Enoksaparin'in, iskemi-reperfüzyon hasarı ile karşı karşıya olan deneysel kolon anastomozlarında yara ve anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bu çalışmada 30 adet 6-8 haftalık Wistar-Albino soyuna ait dişi rat kullanıldı. Her biri 10 rattan oluşan 3 grup oluşturuldu. 1. grup kontrol, 2. grup İ-R, 3. grup İ-R+Enoksaparin grubu olarak belirlendi. Kontrol grubuna çıkan kolon transeksiyonunu takiben ucuca anastomoz yapıldı. İ-R grubuna kolon mezoları klemlenerek 60 dakika süre ile iskemi-reperfüzyon uygulandı ve sonrasında çıkan kolon transeksiyonu ile birlikte ucuca anastomoz yapıldı. Çalışma grubuna ilk dozu ameliyattan 24 saat önce verilmek üzere günde tek doz Enoksaparin uygulaması ile birlikte yine kolon mezoları klemlenerek 60 dakika süre ile iskemi-reperfüzyon uygulandı ve sonrasında çıkan kolon transeksiyonu ile birlikte ucuca anastomoz yapıldı. Postoperatif 7. gün tüm ratlar sakrifiye edildi ve anastomoz patlama

basınçları ölçülerek hidroksprolin ölçümü yapılmak üzere anastomoz hattı örneklendi.

Çalışmamızda, iskemi-reperfüzyon uygulanan grupta, kontrol grubuna göre anastomoz patlama basıncı ve hidroksprolin düzeylerinde anlamlı farklar saptanmıştır. Ayrıca iskemi-reperfüzyon sonrası enoksaparin uygulanan grupta anastomoz patlama basınçları ve hidroksprolin düzeyleri bakımından, kontrol ve iskemi-reperfüzyon grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde olumlu farklar saptanmıştır.

Sonuç olarak uyguladığımız deney modelinde iskemi-reperfüzyon hasarına uğramış bağırsak segmentleri arasında yapılan anastomozlara enoksaparinin günlük uygulanmasının olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Anastomoz kaçağı, İskemi-Reperfüzyon, Enoksaparin

7. ABSTRACT

The effect of low molecular weight heparin (Enoxaparin) on occurred injury of ischemia-reperfusion in experimental colonic anastomosis model

Today, one of the most important complications of major surgery is anastomotic leakage that has a significant risk of morbidity and mortality. Despite all current technical developments, surgical mortality rate of anastomotic leakage still ranges between 10% and 30%. Although there are many possible causes of anastomotic leakage, it has proven that tissue perfusion and oxygenation are very important at healing of colon anastomosis.

In order to improve the security of the anastomosis which were performed after ischemia-reperfusion damage, several molecules and methods were experimentally applied. Along with many clinical uses of LMWH's, recently they are demonstrated to have positive effects on wound recovery because of their fibrinolytic, anticoagulant, antithrombotic, antiinflammatory and immunomodulator effects.

All these effects are given in this study, it applied many times before in ischemia-reperfusion injury and found positive results enoxaparin, ischemia-reperfusion injury in experimental colonic anastomosis is faced with the effects on wound and anastomotic healing was investigated.

30 female Wistar-Albino rats aged 6-8 weeks were randomly divided 3 groups. Group 1 as control group, Group 2 as ischemia-reperfusion group, Group 3 as ischemia-reperfusion + enoxaparin group. In group 1 after colon transection we created an end to end anastomosis. In group2 colon mezos were clamped and exposed to ischemia reperfusion for 60 minutes and afterwards created an end to end anastomosis hours before operation. On post operative day 7 all the rats were sacrificed and anastomosis bursed pressures were measured and anastomosis lines were sampled for evaluation of hidroksiprolin levels. with ascending colon transection a long with applied are dose a day of enoksaparin first dose 24.

In our study, there were statically significant results between the control group and ischemia-reperfusion treated group in anastomotic leak pressure and hydroxyproline levels ($p < 0,001$). Also, there were statically significant positive results in the patients who were given enoxaparin sodium after ischemia-reperfusion treated group in anastomotic leak pressure and hydroxyproline levels ($p < 0,001$).

In conclusion, in our experiment, daily usage of enoxaparin is demonstrated to have poztive effects in the anastomosis that performed between the intestinal segments which were exposed to ischemia-reperfusion damaged.

Keywords: Anastomotic leak, Ischemia-reperfusion, Enoxaparin

8. KAYNAKLAR

1. Kirchoff P, Clavien P.A, Hahnloser. Complications in colorectal surgery: risk factors and preventive strategies, Patient Safety in Surgery 2010, 4:5
2. Jaime Ruiz-Tovar. Postoperative complications of colon surgery, Vicente Morales-Castiñeiras and Eduardo Lobo-Martínez Cir Cir 2010, 78:281-288
3. Genel Cerrahi Cilt-1. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Konu 4. Yara İyileşmesi 51-68.
4. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the Gastrointestinal Tract. Surgical Clinics of North America. 1997 (3):549-573
5. Giray S. Preoperatif Radyoterapi uygulanmış sıçanlarda kolon anastomozuna hiperbarik oksijen ve pentoksifilin etkileri. Uzmanlık Tezi 1998
6. Bieleck K, Gajda A. The Causes and Prevention of Anastomotic Leak After Colorectal Surgery, Klinicka Onkologie Zvlastni Cislo 1999, 25-30
7. Ersoy Y. E. Sıçanlarda sol kolon anastomozunda, anastomoz iyileşmesi ve klamp hattı perfüzyonuna pentoksifilin ve papaverinin etkileri (Uzmanlık Tezi)
8. Soetersa PB, Zoeteta J, Dejonga CH, Williamsb N. S, Baetena C. Colorectal Surgery and Anastomotic Leakage, Dig Surg 2002, 19:150–155
9. Docherty JG, McGregor JR, Akyol AM, Murray GD, Galloway DJ. Comparison of Manually Constructed and Stapled Anastomoses in Colorectal Surgery, West of Scotland and Highland Anastomosis Study Group. Ann. Surg 1995, 221: 176-184.

10. Fingerhut A, Hay JM, Elhadad A, Lacaine F, Flamant Y. Supraperitoneal Colorectal Anastomosis: hand-sewn versus circular staples, A controlled clinical trial: French Associations for Surgical Research. *Surgery* 1995, 118:479-485.
11. Walker KG, Bell SW, Rickard MJ, Mehanna D, Dent OF, Chapuis PH, Bokey EL. Anastomotic leakage is predictive of diminished survival after potentially curative resection for colorectal cancer, *Ann. Surg* 2004, 240:255-259
12. Baixauli J, Kiran PR, Delaney CP, Investigation and management of ischemic colitis *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2003, 70: 920-934
13. Binns JC, Isaacson P. Age-related changes in the colonic blood supply: their relevance to ischemic colitis, *Gut* 1978, 19: 384–390.
14. John B, Theodore A, Chang C. Mesenteric Ischemia: acute and chronic, *Ann Vasc Surg* 2003, 17: 323-328
15. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
16. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137:1-53.
17. Bailey B, McGuigan MA. Management of anaphylactoid reactions to intravenous N-acetylcysteine. *Annals of Emergency Medicine*. 1998; 31:710-715.
18. Monsen H. Anatomy of colon. In: Nyhus ML, Baker RJ, editors. *Mastery of 63 Surgery*. Boston: Little Brown and Company;1997. s. 896-898.

19. Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ. Genel Anatomi. İç: Skandalakis JE editör. Cerrahi Anatomi ve Teknik. 2. baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi;2000. s. 464-468.
20. Buğra D. Kolon,Rektum, Anal Bölge Anatomisi. Türkiye Klinikleri Cerrahi. 2004 ; 9:1-11.
21. Brunicardi FC. Schwartz Cerrahinin Temel İlkeleri, Tarhan 2008, Ankara, 8. Baskı, 1095 161, Çeviri Editörü: Geçim E.
22. Skandalakis JE. Surgical Anatomy and Tecnique, Springer 2009, New-York, 3. Baskı, 415 95
23. Sayek İ, Engin A. Temel Cerrahi, Güneş 2004, Ankara, 3. Baskı, 1243-9
24. Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing, Surg Clin North Am, 2003, 83 (3):483-507.
25. Marks R, Dykes P, Mootley R. Clinical Sings and Producedures in Dermatology, 1.st ed. London 1993, 35
26. Broughton G II, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing, Plast Reconstr Surg, 2006 Jun, 117 (7 Suppl):12S-34S
27. Carrico TJ, Mehrhof Jr. AI, Cohen IK. Biology of Wound Healing, Surgical Clinics of North America of North America. 1984; 64 (4): 721-733
28. Uluocak K. Kolon anastomoz yetmezliklerinin sebepleri ve önlenmesi. Dirim 1992; 67 sayı 1-2 sayfa: 34-42
29. Witte M, Barbul A. General principles of wound healing, Surg. Clin. North Am 1997, 77: 509

30. Pohlman T, Stanness K, Beatty P. An endothelial cell surface factor (s) induced in vitro by lipopolysaccharide, interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha increases neutrophil adherence, a CDw18-dependent mechanism J. Immunol 1986, 136:4548
31. Bevilacqua M, Pober J, Wheeler M. Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines, J. Clin. Invest 1985, 76:2003
32. Necmi Akut ve kronik yara bakımı Ankara 2003 Sayfa 17-33
33. Engin A. Yara iyileşmesi, Temel Cerrahi; Sayek,İ, Gunes Kitapevi, Ankara, İkinci baskı; Cilt I 1996; s.266-277
34. Lawrence W, Diegelmann R. Growth factors in wound Healing, Clin Dermatol 1994, 12:157
35. Grotendorst G, Soma Y, Takehara K. EGF and TGF-alpha are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissuereneration, J. Cell Physiol 1989, 139:617
36. Christensen H, Chemnitz J, Christensen BC, Oxlund H. Collogen structural organization of healing colonic anastomoses and the effect of growth hormone treatment. Dis. Colon Rectum. 1995; 38:11
37. Regan M, Kirk S, Wasserkrug H. The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype, J. Surg. Res 1991, 50:442
38. Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts, J. Cell Biol 1993, 122:103

39. P.C.Champe, R.A.Harvey.Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya Esmâ Gür (Çeviren). 2. baskı, İstanbul; 1997. 38-43.
40. Sayek İ. Temel Cerrahi. Engin A. 3. baskı, Ankara; 2004. 322-323
41. Diegelmann R. Analysis of collagen synthesis, Methods Mol. Med 2003, 78:349
42. Madden JS, The rate of collagen synthesis and deposition in dehisced and resutured wounds, Surg. Gynecol. Obstet, 1970, 130:487,
43. Sabiston D. Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice, 15th Ed. St. Louis, Saunders 1997, P:209
44. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Chaging bursting strength and collagen conternt of the healling colon. Surg Gynecol obstet 126 (4): 747 53, 1968
45. Graham MF, Drucker DE, Diegelman RF, Elson CD. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture, Gastrointerology 1987, 92:400-405
46. Kılıçoğlu B, Serin Kılıçoğlu S, Çağatay Göçen V. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005, 12 (1):67-76
47. Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic Anastomoses, J Surg Res 1990, 48 (5):504-15
48. Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis, Eur J Surg Suppl Review 1991, (566):1-51
49. Mast BA. Healing in other tissues, Surg Clin North Am. Review 1997, 77 (3):529-47

50. Kivisaari J, Vihersaari T, Renvall S. Energy metabolism of experimental wounds at various oxygen environments, *Ann. Surg* 1975, 181:823
51. Chung RS. Blood flow in colonic anastomoses. Effect of stapling and suturing. *Ann Surg* 1987, 206:335
52. Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. I. The healing process and sutured anastomoses, A review. *Br J Surg* 1983 Feb, 70 (2):61-3
53. Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. IV. Effect of suture technique on collagen metabolism in the colonic wall, *Am J Surg* 1980, 139 (3):406-13
54. Leslie A, Steele RJ. The interrupted serosubmucosal anastomosis - still the gold Standard, *Colorectal Dis* 2003, 5 (4):362-366
55. Irvin TT, Goligher JC. Aetiology of disruption of intestinal anastomoses, *Br J Surg* 1973, 60 (6):461-4
56. Foster ME, Laycock JR, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses, *Br J Surg* 1985, 72 (10):831-4
57. Steinbrech DS, Longaker MT, Mehrara B. et al. Fibroblast response to hypoxia: The relationship between angiogenesis and matrix regulation, *J. Surg. Res* 1999, 84:127
58. Robson MC. Wound infection: A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria, *Surg. Clin. North Am* 1997, 77:637
59. Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastro-intestinal tract, *Br J Surg* 1970, 57 (12):896-900

60. Atkinson JB, Kosi M, Srikanth M.S, Takano K, Costin G. Growth hormone reverses impaired wound healing in protein-malnourished rats treated with Corticosteroids, *J Pediatr Surg* 1992, 27 (8):1026-8
61. Ehrlich HP, Hunt TK. Effects of cortisone and vitamin A on wound healing, *Ann Surg* 1968, 167 (3):324-8
62. Aguilar-Nascimento JE, Mathie RT, Man WK, Williamson RC. Enhanced intra-anastomotic healing by operative lavage with nutrient solutions in experimental left-sided colonic obstruction, *Br J Surg* 1995, 82 (4):461-4
63. Verhofstad MH, Hendriks T. Diabetes impairs the development of early strength but not the accumulation of collagen during intestinal anastomotic healing in the rat, *Br J Surg.* 1994,81 (7):1040.5
64. Kim SC, Buchmiller LT, Fonkalsrud WE, Philips D. The effect of anabolic steroids on ameliorating the adverse effect of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits, *Gyn. and Obs. Surg* 1993, 176:73-79
65. Schilling JA. Wound healing, *Surg Clin North Am* 1976 Aug, 56 (4):859-74
66. Şener G, Yeğen BÇ. İskemi Reperfüzyon Hasarı, *Klinik Gelişim Dergisi* 2009, 22 (3):5-14
67. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury, *Br J Surg* 1994, 81:637-47
68. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys, *Free Radic Res Commun* 1989, 7:255-64
69. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury, *Ann Neurol* 1992, 32 Suppl:S33-42.

70. Parks D.A, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation, *Am J Physiol* 1988, 254:768-74
71. Stoney RJ, Cunningham CG. Acute mesenteric ischemia, *Surgery* 1993, 114:489-90
72. McKinsey JF, Schwartz LB, Gewertz BL. Mesenteric ischemia. Rio de Janeiro: Interlivros 1997, 313-24
73. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, *N Engl J Med.* 1985, 312:159-63
74. Macarenco RSS, Takahagi RU, Bardella LC, Sequeira JL, Yoshida WB. Ginkgo biloba extract and hypertonic hydroxyethyl starch on attenuating ischemia and reperfusion changes of splanchnic organs in a rat model, *Acta Cir Bras* 2001, 16:139-45
75. Cuzzocrea S, Chatterjee P, Mazzon E, Dugo L, De Sarro A, Van de Loo FAJ, Caputi AP, Thiemermann C. Role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after postischemic injury, *Shock* 2002, 18:169-76.
76. João AS, Alencar SSS, Medeiros AC, Diniz SOF, Cardoso VN, Brandt CT. Translocation of ^{99m}Tc labelled bacteria after intestinal ischemia and reperfusion, *Acta Cir Bras* 2004, 19
77. Turnage RH, Guice KS, Oldham KT. Endotoxemia and remote organ injury following intestinal reperfusion, *J Surg Res* 1994, 56:571-8
78. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review, *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997, 14:195-203

79. Acworth IN, Bailey B. Reactive Oxygen Species, in: The handbook of oxidative metabolism, Massachusetts: ESA Inc. 1997, 1:4
80. Nereide FC, Carlos A.H, Winston BY. Pathophysiology of mesenteric ischemia/ reperfusion: a review, *Acta Cirúrgica Brasileira* 2005, 13:336-343
81. Yoshida WB. Free radicals in ischemia-reperfusion syndrome, *Cir Vasc Angiol* 1996, 12:82-95
82. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russel GI. Differential effect of ischemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney, *Exp Nephrol* 1995, 3: 348-354
83. Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Ann NY, Burkhardt S. Free radicalmediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system, *Acad Sci* 2001, 939: 200-215
84. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury, *Am J Physiol* 1988, 255:1269-75
85. Montalto MC, Hart ML, Jordan JE, Wada K, Stahl GL. Role for complement in mediating intestinal nitric oxide synthase-2 and superoxide dismutase expression, *Am J Physiol* 2003,285:197-206
86. Xia G, Martin AE, Besner GE. Heparin-binding EGF-like growth factor downregulates expression of adhesion molecules and infiltration of inflammatory cells after intestinal ischemia/reperfusion injury, *J Pediatr Surg.* 2003, 38:434-9
87. Lopez-Neblina F, Paez-Rollys AJ, Toledo-Pereyra LH. Mechanism of Protection of Verapamil by Preventing Neutrophil Infiltration in the Ischemic Rat Kidney, *J SurgRes* 1996, 61:469-472

88. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion, *Thromb Haemost.* 2007, 97:738-747
89. Eltzschig HK, Collard CD. Vascular ischaemia and reperfusion injury, *Br Med Bull* 2004, 70:71-86
90. Woodfin A, Voisin MB. Nourshargh, PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007, 27:2514-2523
91. Vinten-Johansen J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury, *Cardiovasc Res* 2004, 61:481-497
92. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia, *Crit Care Med* 1993, 21:1376-1386
93. Chatterjee PK. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: a comprehensive review, *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2007, 376:1-43
94. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue/reperfusion, *Clin Cardiol* 1993, 16:119-26
95. Thrane AS, Skehan JD, Thrane PS. A novel interpretation of immune redundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease, *Med Hypotheses* 2007, 68:1363-1370
96. Attuwaybi B.O, Kozar RA, Moore-Olufemi SD, Sato N, Hassoun HT, Weisbrodt NW, Moore FA. Hemoxygenase-1 induction by hemin protects against gut ischemia/reperfusion injury, *J Surg Res* 2004, 118:53-7

97. Suzuki M, Asako H, Kubes P, Jennings S, Grisham M.B, Granger D.N. Neutrophil-derived oxidants promote leukocyte adherence in postcapillary venules, *Microvasc Res* 1991, 42:125-138
98. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *J Neuroimmunol* 1999, 101:148-160
99. García-Villalón AL, Amezquita YM, Monge L, Fernández N, Salcedo A, Diéguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion, *Vascul Pharmacol* 2008, 48:109-114
100. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury, *Br J Surg* 1996, 83:162-170
101. Cerqueira NF, Yoshida WB. Nitric oxide: review, *Acta Cir Bras.* 2002
102. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi AP. Role of constitutive nitric oxide synthase and peroxynitrite production in a rat model of splanchnic artery occlusion shock, *Life Sci.* 1998, 63:789-99
103. Chan KL, Zhang XH, Fung PCW, Guo WH, Tam PKH. Role of nitric oxide in intestinal ischaemia-reperfusion injury studied using electron paramagnetic resonance, *Br J Surg.* 1999, 86:1427-32
104. Kiyama T, Onda M, Tokunaga A, Yoshiyuki T, Barbul A. Effect of early postoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis in rats. *Dis Colon Rectum* 2000; 43 S: S 54-58.
105. Seyer-Hansen M, Andreassen TT, Cristensen H, Oxlund H. Effect of experimental diabetes and growth hormone administration on the strength of colonic anastomoses in rats. *Eur Surg Res.* 1999; 31: 419-8.

106. Hendricks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses. *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 891-901.
107. Kahya AS. Kolon obstrüksiyonu nedeniyle uygulanan rezeksiyon sonrası, düşük molekül ağırlıklı heparin, papaverin ve pentoksifilin anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi 2001
108. Yarımkaya A. İskemik kolon modelinde anastomoz iyileşmesine büyüme hormonu ve anabolic steroidlerin etkileri. Uzmanlık Tezi 2000
109. Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension, *Br J Surg.* 1985, 72 (8):606-609
110. Gantwerker E.A, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing, *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2011 Aug, 19 (3):441-53
111. Hesp WL, Hendriks T, Schillings PH. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1985, 66 (5):511-518
112. Bergqvist D. Low molecular weight heparins. *J Intern Med* 1996; 240 (2): 63-72.
113. Lindmarker P, Holmström M. Use of low molecular weight heparin, once daily, for the treatment of deep vein thrombosis. A feasibility and health economic study in an out patient setting. *J Intern Med* 1996;240:395-401
114. Boneu B, Navarro C, Cambus JP, Caplain H, d'Azemar P, Necciari J, et al. Pharmacodynamics and tolerance of two nadroparin formulations delivered for 10 days at therapeutic dose *Thromb Haemost* 1998; 79: 338-341

115. Lensing AWA, Prins MH, Davidson BL, Hirsh J. Treatment of deep vein thrombosis with low-molecular-weight heparins. *Arch Intern Med* 1995; 155:601-607
116. Leizorovicz A. Comparison of the efficacy and safety of low molecular weight heparins and unfractionated heparin in the initial treatment of deep vein thrombosis. *Drugs* 1996;52 (suppl 7):30-37.
117. Koopman Maria MW, Prandoni P, Piovella F et al. Treatment of venous thrombosis with intravenous unfractionated heparin administered in the hospital as compared with subcutaneous low-molecular-weight heparin administered at home. *Jn Eng Med* 1996; 334: 682-687
118. Hirsh J., Warkentin T.E., Shaughnessy S.G., Anand S.S., Halperin J.L., Raschke R., Granger C., Ohman E.M., Dalen J.E. (2001): Heparin and low-molecular-weight 67 heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety, *Chest*, 119:64-94
119. Ensom, M. H. H., Stephenson, M. D.: Low molecular weight heparins in pregnancy, *Pharmacotherapy.*, 19, 1013-25, 1999.
120. Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4- hydroxyproline in biological tissues, *Analytical Biochemistry* 1981, 112 (1):70-75
121. Tadauchi A, Narita Y, Kagami H, Niwa Y, Ueda M, Goto H. Novel cell-based therapeutic strategy for ischemic colitis with use of bone marrow-derived mononuclear cells in rats. *Dis Colon Rectum*. 2009, 52:1443-51