

T.C.

**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**Prof. Dr. Adil KARTAL  
ANABİLİM DALI BAŞKANI**

**PLATELETEN ZENGİN PLAZMANIN BARSAK ANASTOMOZU ÜZERİNE  
ETKİSİ  
(DENEYSEL ÇALIŞMA)**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Hüseyin YILMAZ**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Yüksel TATKAN**

KONYA 2004

## İÇİNDEKİLER

1.	GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.	GENEL BİLGİLER.....	3
	2.1 YARA İYİLEŞMESİNİN PRENSİPLERİ.....	3
	2.1.1 HEMOSTAZ VE İNFLAMASYON FAZI.....	3
	2.1.2 PROLİFERATİF FAZ.....	5
	2.1.3 OLGUNLAŞMA VE YENİDEN YAPILANMA FAZI.....	6
	2.2 YARA İYİLŞEMESİNDE SİTOKİNLER.....	7
	2.3 BARSAKTA ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ.....	9
	2.4 ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	14
	2.5 PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA.....	17
3.	MATERYAL VE METOD.....	19
	3.1 PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA HAZIRLANMASI.....	19
	3.2 CERRAHİ İŞLEMLER.....	20
	3.3 ANASTOMOZ HATTINDA HİDROKSİPROLİN ÖLÇÜMÜ.....	21
	3.4 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	21
	3.5 HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	21
4.	BULGULAR.....	25
5.	TARTIŞMA.....	31
6.	SONUÇ.....	34
7.	ÖZET.....	35
8.	KAYNAKLAR.....	36

## 1. GİRİŞ AMAÇ

Günümüzde gastrointestinal (GI) kanala yönelik ameliyatlar, en sık uygulanan cerrahi işlemlerden birini oluşturmaktadır. GI kanalda ve diğer dokulardaki yara iyileşmesi ile ilgili bilgilerin artmasına ve anastomotik iyileşmeyi etkileyen lokal ve sistemik faktörlerin daha iyi anlaşılabilir olmasına rağmen, morbidite ve mortalitesi yüksek olan anastomoz kaçağı halen sık görülen ciddi bir problemdir (1). Majör yara iyileşmesi komplikasyon oranının mide cerrahisinde %2-5 iken kolon anastomozlarında %10-30'a kadar çıkabildiği bildirilmektedir (2). Anastomoz kaçağına bağlı klinik komplikasyonların %2-8 hastada meydana geldiği oysa kontrast maddelerle yapılan radyolojik incelemelerde önemli klinik semptom ve bulgu vermeyen kaçak oranının %50'lere ulaştığı bildirilmiştir (3).

Yaralanma bir dizi nöropeptid cevabın oluşmasına neden olur. İlk olay vazomotor aktivite ve enflamasyonun başlamasıdır. Vazomotor tonüs dengeli bir şekilde; kanlanma ve özellikle oksijen desteği sağlayarak enfeksiyonla savaşım, kollogenin depolanması ve anjiogenezis gibi olayları düzenlemektedir. Araştırmalar doku hasarından sonra periferik sinir uçlarından salınan nöropeptidlerin, sadece vazodilatasyonu ve enflamatuvar cevabı değil aynı zamanda epitelyal, vasküler ve bağ dokusu hücrelerinin çoğalmasını uyarmak suretiyle de iyileşmeye katkıda bulunduğunu göstermektedir (4).

Yara iyileşmesinde doku-sinir sistemi etkileşiminde artma olduğu ve bu yolla tamir olayının düzenlenebildiği açıktır. Lokal kan akımı ve oksijenasyonu kontrol eden nörojenik mekanizmalar; anjiogenezis, kollajen birikimi, bakteri temizliği ve epitelizasyon gibi yollarla iyileşmenin hızını da kontrol etmektedir (4). Lokal olarak salınan nöropeptidlerin yara yerindeki periferik doku iskemisi ve nekrozuna karşı önemli rolleri olduğu bildirilmiştir (5).

Kan hacmindeki %10' luk bir düşmenin mezenterik kan akımında % 30' luk azalma meydana getirdiği gösterilmiştir (6). Yara iyileşmesi, doku rejenerasyonu ve inflamasyon, bir çok sitokinlerin rol oynadığı karmaşık olayları içermektedir. Hemostazis ile başlayıp, inflamatuvar cevapla devam eden, yaranın bir epitel ile örtülerek tekrar şekillendirildiği yara iyileşmesi olayı; inflamasyon, fibroplazi ve olgunlaşma olmak üzere üç faza ayrılır (7). Bu fazların her biri büyüme faktörleri ve nöropeptidler adı verilen ve biyolojik olarak aktif olan bu maddeler tarafından kontrol edilerek düzenlenir. Polipeptid yapısındaki bu büyüme faktörleri ve nöropeptidler, hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak

doku tamir olayını kontrol ederler. Yara iyileşmesi ya da doku tamir olayını kontrol edip düzenleyen bu büyüme faktörleri ve nöropeptidlerin etkinliği, miktarı, birbirleri ve hücrelerle olan ilişkileri oldukça çok sayıda ve farklı yollarla değiştirilebilmektedir. Bu sitokin paternine müdahale ile ideal düzeyde ve hızda bir yara iyileşmesi elde edilebilmesi için çalışılmaktadır.

Septik koşullarda intestinal anastomozların iyileşmesinde ciddi sorunlar yaşandığı hem klinik hem deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (8). Anastomoz iyileşmesiyle ilgili olarak cerrahi teknik, değişik sütür materyalleri, lokal ve sistemik beslenme, hormonlar ve büyüme faktörlerinin rolü ve immünomodülasyon gibi yöntemlerin etkileri incelenmiş ancak halen yara iyileşmesi ile ilgili komplikasyonları önleyecek kesin bir yöntem ya da yol bulunamamıştır. Bu nedenle daha ileri çalışmalara olan ihtiyaç halen devam etmektedir (7).

Her şeye rağmen anastomoz kaçağı oluşumunu ortadan kaldıramasa da, rahat bir postoperatif dönem geçirmek için cerrah, güvenli bir barsak anastomozu yapmak arzusuyla, hastasında gerekli genel ve lokal önlemleri almaktadır. Ancak gene de öyle bir yöntem uygulansın ki, anastomoz güvenliği konusunda kuşkuları en az olsun ister.

Plateletten zengin plasmanın, içerdiği çeşitli faktörler sayesinde greft maturasyonunda, yara iyileşmesini hızlandırdığı konusundaki bilgilerin elde edilmesinden sonra (105), benzer etkinin barsak anastomozunda da görülüp görülmeyeceğini araştırmak amacıyla bir deneysel çalışma yapılmasının uygun olacağını düşündük.

## 2. GENEL BİLGİLER

Doku bütünlüğünün bir travma sonucu bozulması; travma tipine bağlı olmaksızın, yara bölgesinin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin yeniden kazanılmasını sağlayacak bir seri fizyolojik olayı başlatır (9). Travma, yara iyileşmesi ile sonuçlanacak birbiri ile organize, kompleks oluşturmuş bir çok hücrel ve biyokimyasal olayı tetikler. Dokularda meydana gelen yaraların iyileşme mekanizmaları bazı farklılıklar göstermesine rağmen, hepsinde ortak olan ve bilinen bazı özellikler mevcuttur. Yara iyileşmesi kavramı genellikle, vücudun bozulan bütünlüğünü kollajenden yapılmış bir nedbe yardımıyla yeniden sağladığı bir olay olarak kabul edilmektedir.

### 2.1 YARA İYİYEŞMESİNİN PRENSİPLERİ;

Travmanın tetiklediği bir dizi hücrel ve biyokimyasal olay gerçekleşerek yara iyileşmesi tamamlanır. Yara iyileşmesi, birbirinden farklı fakat birbiriyle sıkı ilişkili üç ayrı faza ayrılır;

1. Hemostaz ve inflamasyon fazı,
2. Proliferasyon (fibroplazi) fazı,
3. Olgunlaşma ve yeniden yapılanma fazı.

Bu aşamalardan herhangi birinin bozulması veya uzaması yara iyileşmesinde gecikme veya yarada kapanmamaya neden olur.

#### 2.1.1 HEMOSTAZ VE İNFLAMASYON:

Travma ve yabancı cisimlerle doku harabiyetine karşı bağışıklık yanıtı ile meydana gelen bir cevaptır. İnflamasyon harap olmuş dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün tamir ve yeniden kurulması için esastır. Travma ile birlikte damarlardaki endotel bütünlüğünün bozulması, kan elemanlarının doku aralığına çıkmasına ve plateletlerin subendotelyal kollajenle temasına neden olur. Buradaki Tip IV ve Tip V kollajen, trombositlerin agrege olmasına neden olur ve pıhtılaşma zincirinin intrensek yolu aktive edilir. Trombositlerin kollajenle teması ve aynı zamanda trombin, fibronektin ve bunların ürünlerinin varlığı, trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinden, platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), platelet-activating factor (PAF), fibronektin ve serotonin gibi maddelerin salınmasına neden olur (9, 10). Faktör XII (fibrin-stabilize eden faktör) eksikliği gibi yetersiz pıhtı oluşumunun meydana geldiği durumlarda, enflamatuvar alana yetersiz hücre adhezyonu ve kemotaksizi olduğu ve buna sekonder doku iyileşmesinde problem olduğu gözlenmiştir (11). Platelet, pıhtılaşma faktörü 5 ve 10

arasındaki karşılıklı etkileşim protrombinazı aktive eder. Trombin sentezi ve bununla birlikte fibrinojenden fibrin yapımı başlar. Fibrin ağı ve plasmaya geçirgen olmayan bir pıhtı meydana getirir. Platelet agregasyonu ve pıhtılaşma esnasında açığa çıkan mediatörler bir taraftan çevre kapillerlerin permeabilitesini etkilerken, diğer taraftan lökositleri aktive eder. Nötrofiller inflamasyon bölgesine gelir (9). Lokal olarak oluşan pıhtı; nötrofil, fibroblast, lenfositler ve endotel hücrelerinin bu bölgeye yerleşmesini sağlar (7).

Kapiler permeabiliteyi artırarak nötrofil göçünü kolaylaştırıcı mediatörler; serotonin, histamin, bradikinin, araziidonik asid metabolitleridir. Nötrofillerin endotelial hücrelere yapışmasını uyaran mediatörler; PAF, Interleukin 1 (IL-1), tümör nekrozis faktör (TNF) ve Leukotrien B<sub>4</sub>'dür (9).

Nötrofiller yara bölgesine ulaşan ilk hücrelerdir. İnflamasyon nedeniyle artan permeabilite ve prostaglandinlere ek olarak kompleman faktörleri, interlökin-1, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ , platelet factor 4 ve bazı bakteri ürünleri gibi kemotaktik faktörler nötrofil göçünü uyarırlar (12, 13).

Hücreler yara bölgesine göç ettikten sonra burada aktive olurlar. Aktive olan hücreler; yeni hücre yüzey antijeni kazanır, sitotoksiteleri artar, sitokin yapım ve salınımını artırır ya da diğer fenotipik değişikliklere uğrar. Yara iyileşmesine katkıda bulunan tüm hücreler aktive olur. İyileşmenin inflamasyon fazında nötrofil, makrofaj ve lenfositler hakimdir. Ancak iyileşmeye olan katkıları farklıdır. Bu hücreler içinde en kritik olanları makrofajlar ve lenfositlerdir (14-15). Makrofajların aktivasyonu; debridman, matriks sentezi ve anjiogenez gibi yara iyileşmesinin temel öğelerini yerine getirir .

Trombositlerden salınan faktörler, makrofaj aktivasyonu için ilk ve güçlü bir uyarım sağlar. Fibronektin ve kollajen gibi bazı hücrelerel debrislerin fagositozu da makrofajların aktivasyonunu şiddetlendirir (15). Makrofajların yara iyileşmesindeki önemi, makrofaj sayısının artırıldığı ya da azaltıldığı yara iyileşmesi modellerinde anlaşılmış ve bu hücrelerin yara iyileşmesinde mutlaka gerekli olduğu gösterilmiştir. Makrofajların aktivasyonu, anjiogenez ve fibroplaziyi düzenleyen sitokinlerin salınmasını sağlar (16, 17, 18).

Makrofajların aktivasyonu ile antimikrobik özellik gibi, yara iyileşmesinin erken dönemlerinde olumlu bir çok etkileri bulunan nitrik oksit sentezlenerek salınır. Yara iyileşmesine katkıda bulunan endotel hücreleri, fibroblast, monosit ve lenfosit gibi bir çok hücre nitrik oksit üretebilmektedir. Yara iyileşmesi sürecinin erken dönemlerinde makrofaj

aktivasyonu ile nitrik oksit sentezinin meydana geldiği, özellikle hipoksik durumlarda nitrik oksit sentezinin arttığı gösterilmiştir (19, 20).

Aktive olan makrofajlar sitokinler aracılığı ile başta lenfositler olmak üzere diğer hücreleri uyarır. Lenfositler de interferan (IFN) ve IL benzeri lenfokinler salgılar. Salınan IFN- $\gamma$  makrofaj ve monositleri uyararak TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi bazı sitokinlerin salınmasını sağlar. Böylece devamlı ve karmaşık bir etkileşim zinciri başlar (7).

Yara iyileşmesi sırasında aktive olan hücrelerde belirgin fenotipik değişiklikler meydana gelir. Bu konuda üzerinde en çok çalışılan hücrelerden biri olan fibroblastlarda normalden daha fazla kollajen sentezi ve kontraksiyon izlenirken, proliferasyonun azaldığı tespit edilmiş ve bu özellikleri nedeniyle "yara fibroblastları" olarak isimlendirilmiştir (21).

Fibroblastlarda fenotipik değişikliklerin başlatılması büyük oranda makrofaj kaynaklı sitokinler aracılığıyla gerçekleşmektedir (22). Bu görüş TGF- $\beta$ 1'in miyofibroblastik fenotipi güçlü bir şekilde uyardığını gösteren çalışmalarda açıkça ortaya konmuştur (23).

Sonuç olarak, yara iyileşmesinde immün sistemin belki de en çok rol oynadığı dönem olan inflamatuvar fazda; başta makrofaj, nötrofil ve lenfositler olmak üzere bir çok hücre hem sitokinler (TGF- $\beta$ ), hem de sitokin dışındaki yollarla yara iyileşmesini modüle etmektedir.

### **2.1.2 PROLİFERATİF FAZ:**

Bu dönemde esas olarak çoğalan hücreler fibroblast ve endotel hücrelerdir. Travmayı takiben aktif platelet ve makrofajların salgıladıkları mediatörlerin etkisi ile çevre dokudan fibroblastların yara bölgesine gelmesi sağlanır (9). Fibroblastlar çevre dokulardan yara bölgesine göçerken, endotel hücreleri yaraya komşu venüllerden çoğalarak anjiogenez yolu ile yeni kapiller yapımını sağlar. Bu iki hücre tipinin çoğalmasından sorumlu olan büyüme faktörleri ve sitokinler büyük oranda plateletlerden ve aktive olmuş makrofajlardan sağlanır. Başlangıçta çevre dokularda bulunan fibroblastlar stabil ve nonreplikatif bir durumdadır. PDGF ve EGF gibi büyüme faktörleri fibroblast proliferasyonu, kemotaksisi ve aynı zamanda replikasyonu için güçlü uyarıcılardır (9). (Tablo 1 )

**Tablo 1: Plasma fibroblast mitojen ve gelişme faktörleri**

**Mitojen faktörler;**

- Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)
- Fibroblast büyüme faktörü (FGF)
- Kalsiyum fosfat

**Gelişme faktörleri;**

- Somatomedin
- Epidermal gelişme faktörü
- Diğer plasma faktörleri

### **2.1.3 OLGUNLAŞMA VE YENİDEN YAPILANMA FAZI;**

Bu fazın en önemli özelliği yarada kollajenin depolanmasıdır. Matriks birikiminin miktarı, hızı ve kalitesi oluşacak skarın dayanıklılığını belirlediğinden, klinik açıdan yara iyileşmesinin en önemli fazı olarak kabul edilmektedir. Klinik olarak bir çok iyileşme sorunları, altta yatan sebepler farklı olsa da, sonuçta yetersiz kollajen birikimi nedeniyle ortaya çıkmaktadır.

Fibroblastlar tarafından salgılanan kollajen heliks yapıda bir molekül olup, bir kısmının gen lokusları bilinen 13 tipi bulunur (9). İntestinal duvarda tip I, III ve IV bulunur. Kollajenin fizyolojik fonksiyonu, moleküllerin fibroblastlardan salgılandıktan sonra ekstrasellüler olarak bir araya gelebilmesi ve bu kollajen topluluklarının ortak yapısal özelliklerinin fonksiyonla doğru orantılı olması ile başılır. Askorbik asit, prolil ve lizil hidroksilazlar için zorunlu kofaktör olmakla beraber kollajen biyosentezini uyarır ve prokollajen mRNA'ların düzeyini artırır. Aynı şekilde TGF- $\beta$ , insülin benzeri büyüme faktörü ve IL-1 kollajen sentezini artırırken TNF- $\alpha$ , interferon-gama ve steroidler kollajen sentezini inhibe ederler. Kollajenin sentez ve birikimi yanında skarın yapısal ve fonksiyonel olarak uygun şekli almasında rol oynayan önemli bir faktör de spesifik kollegenazlardır. Cerrahi insizyondan sonra kollajen sentez ve birikimine rağmen skar kollajen miktarının sabit olması, aynı anda süratli bir kollajen yıkımının bulunduğunu göstermektedir (9).

Fibroblastlar içerisinde kollajen, kollajenöz ve nonkollajenöz retikülün, elastin gibi intrasitoplazmik flamanlar halinde sentezlenerek intraselüler bölgeye salgılanan diğer maddeler; genel olarak proteoglikanlar veya glikozaminoglikanlar olarak adlandırılan,



hyaluronik asit, kondriotin, heparan dermatan ve keratan sülfattan meydana gelen mukopolisakkaritler, proteinin polisakkaritler ve glikoproteinlerdir. Bu hücreler arası madde, bir veya daha fazla kovalen bağlanmış polisakkarit ihtiva eden proteinlerdir (9). Yaradaki matriks içeriği zaman içinde belli bir değişiklik gösterir. Başlangıçta, hemostazis sonucu oluşan ve makrofajlar tarafından yapılan fibrin ve fibronektinden zenginken (24), daha sonra glikozaminoglikan, proteoglikan yapısındaki diğer proteinler birikmeye başlar. Sonuçta kollajen, skardaki hakim protein olur. Kollajen yıkımı iyileşmenin erken dönemlerinde başlar ve özellikle inflamasyon fazında iyice hızlanır. Yaradaki kollajenaz kaynakları; inflamatuvar hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratinositlerdir (7). Kollajen, hücre dışında ve spesifik kollajenazlar tarafından parçalanır ve böylece diğer proteazlara molekülü daha duyarlı hale getirirler (25). Hücre yüzeyi proteoglikanları, hücre-matriks etkileşiminde önemlidir. Ekstrasellüler proteoglikanlar ise bazal membranın permeabilitesi ve dokunun dayanıklılığında rol oynar. Mukopolisakkaritler kollajen fibrillerin agregasyonu sürecinde çapını etkilerken, protein polisakkaritler ise elektrostatik bağlarla kollajen fibrilleri stabilize ederek kollajenin fiziksel özelliklerini etkileyip büyüklüğünü ayarlar (9).

Kollajenaz aktivitesi sitokinlerin sıkı kontrolü altındadır. TGF- $\beta$ 1 gibi bir çok sitokin yaradaki matriks metabolizmasına sadece gen transkripsiyonu sağlayarak değil, aynı zamanda kollajenaz aktivitesini azaltarak da etki gösterir (26, 27). Yaradaki matriks birikimi, yeni yapım ile yıkım arasındaki denge ile belirlenir. Bu dengeyi sağlayan ana faktör hücrelerin bizzat kendisidir. Ayrıca matriks ile hücreler arasındaki ilişkiler de bu dengeye katkıda bulunurlar. Hücre ve matriks arasındaki ilişki kısmen integrinler aracılığıyla yürütülür. İntegrin moleküllerinin kontrolü ise yarada bulunan TGF- $\beta$ , PDGF ve TNF- $\alpha$  gibi bazı sitokinlerin denetimi altındadır (28, 29).

## **2.2 YARA İYİLEŞMESİNDE SİTOKİNLER**

Büyüme faktörleri; yara iyileşmesinin her 3 fazında da, hücrelerin büyüme, farklılaşma ve metabolizmasını kontrol eden polipeptid moleküllerdir. Yara sıvısında bir çok büyüme hormonu tespit edilmiştir. (Tablo 2)

**Tablo 2: Yara İyileşmesindeki Büyüme Faktörleri**

Büyüme Faktörü	Biyolojik Etki
Platelet-derived growth faktör	Proliferasyonun uyarılması, kemotaksis, matriks sentezi
Epidermal growth faktör	Epitelizasyonun uyarılması, proliferasyon
Transforming growth faktör- $\alpha$	Angiogenesis uyarılması, epitelizasyon
Transforming growth faktör- $\beta$	Matriks sentezi, proliferasyon
Fibroblast growth faktör	Proliferasyonun uyarılması, angiogenesis

Büyüme faktörleri çok düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen yara iyileşmesinde güçlü bir lokal etki yaparlar (30). Hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanarak, hedef hücrede reseptör aracılı sinyal geçişi yapmak suretiyle özel bir görevin yerine getirilmesini sağlarlar (31). Büyüme faktörleri hücreSEL çoğalma, kemotaksis, angiogenesis, protein yapımı ve enzim üretimi gibi bir çok olayı kontrol eder. Bu etkileri endokrin, parakrin ya da otokrin yollarla gerçekleştirirler (32).

Yaralanma sürecinin erken dönemlerinde proinflatuar sitokinler IL-1 ve TNF- $\alpha$  görülür. IL-1'in,  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki formu bulunur ve aynı reseptöre bağlanıp aynı hücreSEL cevabı uyarırlar. IL-1 fibroblastlardan kollajen sentezini artırır. Aynı zamanda, prostaglandin E2 gibi iyileşme sürecinin hemostaz ve angiogenesis süreçlerini etkileyen vazodilatör faktörlerin endotelial hücrelerden salınımını artırır.

TNF- $\alpha$  aktivitesi iyileşme sürecinin inflamasyon fazında ortaya çıkmakta ve üçüncü günde en yüksek değere ulaşmaktadır (33). Ana kaynakları makrofaj ve monositlerdir. TNF- $\alpha$ 'nın fibroblast kollajen sentezinde tek yönlü fonksiyonu yoktur. Fibroblastlardan kollajen sentezinde hem artırıcı hem azaltıcı etkisi mevcuttur (34). TNF- $\alpha$  ile, kollajenaz aktivitesi düşürülürken, fibroblast proliferasyonu ve angienezisi arttırmaktadır. Ancak daha önemli olanı TNF- $\alpha$ 'nın kollajen sentezinde antagonistik etki yapan hücreSEL mediatörlerin salınımından sorumlu olmasıdır (35, 36).

Yara iyileşmesi sürecinin erken dönemlerinde, yara sıvısında yüksek düzeyde PDGF tespit edilir (37). PDGF, fibroblast ve epitelyal hücreler de proliferasyon,

kemotaksis ve matriks sentezinin artırılması gibi hücre sel fonksiyonlarda otokrin veya parakrin rol oynar.

Fibroblast büyüme faktörü (FGF), fibroblast, endoteliyal hücreler, düz kas hücreleri ve keratonositler üzerinde kemotaktik, mitogen, angiogen ve matriks sentezinin uyarılması gibi görevleri vardır (38). Platelet ve mezankimal hücreler fibroblast büyüme faktörü için önemli kaynaklardır.

Epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast replikasyonunu, kollajen formasyonu ve re-epitelizasyonu artırır. Steroidler tarafından bozulmuş deneysel yara modellerinde ciddi olumlu etkileri tespit edilmiştir (39).

### 2.3 BARSAKTA ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ

Gastrointestinal sistem, günümüzde cerrahi müdahalelerin sıklıkla uygulandığı bölgelerdendir. Anastomotik iyileşmeyi etkileyen lokal ve sistemik faktörler ile ilgili bilgilerimiz, gastrointestinal sisteme yönelik bilgilerimizin zamanla artmasıyla beraber artmış ve daha iyi anlaşılabilir olmuştur. Buna rağmen, yetersiz iyileşmeye bağlı anastomoz kaçağı ve fistüller ya da iyileşmenin aşırı gitmesi sonucu darlık ve intestinal obstrüksiyon gibi sık karşılaşılan sorunlar halen yüksek morbidite ve mortalite ile beraberdir.

Barsak epitel; başta kolumnar hücreler (enterosit ve kolonositler) olmak üzere, goblet hücreleri, daha az oranda entero-endokrin ve Paneth hücreleri ve diğer küçük hücre grupları gibi değişik epitelyal hücre topluluklarından oluşur. Barsak mukozal yüzeyi, yaşam boyu devam eden hızlı bir döngüye sahiptir. Vücudun en hızlı hücre döngüsü, ince ve kalın barsak epitel yüzeyinde her 24-96 saatte bir gerçekleşir. Bir yandan epitel hücre yüzeyinin yapısal ve işlevsel bütünlüğü korunurken, diğer yandan da proliferasyon ve hücre kaybı arasında çok hassas bir dengenin oluşturulması gerekmektedir.

GI kanal histolojik olarak; mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadan oluşan ve her biri farklı işlevleri olan hücre tiplerinin oluşturduğu 4 tabakadan oluşur. Submukoza tabakası, düzensiz, kaba ve birbirine gevşek bağlarla bağlı olan kollajen ve elastik liflerle beraber, submukozal sinir plexusu, kan ve lenfatik damarları içerir. En fazla bu tabakada kollajen bulunur ve barsağın yapısal bütünlüğünü sağlayan yerdir. Burada Tip I kollajen (%68), Tip III kollajen (%20) ve Tip V kollajen (%12) bulunur ki bu içerik cilt kollajen içeriğinden oldukça farklıdır (40). Submukoza, gastrointestinal kanalın bütünlüğü

ve gerilim kuvvetinin büyük bölümünden sorumlu olan, anastomozlarda barsak uçlarının bir araya gelmesini sağlayan sütürlerin dayanak noktasını oluşturan bir tabakadır. Bu gerçeğin öğrenilmesi, GI cerrahisinde önemli gelişmelere neden olmuş ve günümüzde kullanılan değişik sütür ve stapler tekniklerinin temelini oluşturmuştur.

Gastrointestinal anastomozların mukozal komponenti, en az üç gün içinde, yaradaki granülasyon dokusunu çevreleyen epiteliyal hücrelerin migrasyonu ve hiperplazi ile sağlanır. Böylece defekt kapatılarak luminal içerik ve defekt arasında bariyer oluşur. Mukozal inversiyon ve eversiyon bu oluşumu geciktirir (41).

Seroza tabakası, muskularis eksternayı çevreleyen ince bir konnektif doku içerir. Dış yüzeyi peritoneal kavitenin mezotelyal bir kılıfı ile çevrilidir. Düzgün bir seroza tabakası anastomotik kaçağın minimize edilmesi için gereklidir ve bu da en iyi inverte edici sütür tekniği kullanılarak başarılabılır (7). Özefagus ve alt 1/3 rektumda olduğu gibi, serozal yüzeyi bulunmayan GIS'in ekstrapitoneal segmentlerinde, komplikasyon açısından daha yüksek risk vardır (42).

Barsak duvarının kesilmesi, başlangıçta vazokonstrüksiyona daha sonra sekonder vazodilatasyona ve başlıca kininlerin aracılığıyla damar geçirgenliğinde artmaya sebep olur. Bu olay ödem ve doku uçlarının şişmesiyle sonuçlanır. Bu nedenle; sütürlerin şişen dokuyu stangüle etmesi sonucu iskemik doku nekrozu gelişebileceği düğüm atılırken akılda tutulmalıdır.

Anastomoz bölgesinde granülasyon dokusunun görülmesi yara iyileşmesi sürecinin proliferasyon fazında görülür. Bu aşamada, intraperitoneal anastomozlarda büyük omentum sütür hatlarının çevreleyerek ve ek granülasyon dokusu üreterek kritik bir rol oynar (43).

Üç-dört gün sonra yara bölgesinde kollajen yapımı ve birikimi belirginleşmeye başlar. Kollajen miktarındaki artışla birlikte anastomoz kuvvetinde de artış meydana gelir. Ancak uzun süre geçmesine rağmen anastomotik dayanıklılık, sağlam barsaktaki düzeye ulaşmaz.

Yakın zamanda yapılan çalışmalar, barsak epitelinin yeniden yapılanması ya da bütünlüğünün korunmasında rol oynayan bir çok mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Bu mekanizma ya da faktörler şunlardır:

1. Mukozada bulunan bir çok büyüme faktörlerinin, barsak epitel hücre proliferasyonunu modüle eder (44, 45).

2. Epitel ve lamina propria hücreleri tarafından üretilen, bazal membran-lamina propria matriks molekülleri barsak epitel hücre büyümesini düzenler (46).

3. Goblet hücreleri tarafından üretilen ve barsak lümenine salgılanan peptitlerin de epitel bütünlüğünün sağlanmasında önemli olduğu gösterilmiştir (47).

Peptid yapısındaki büyüme faktörlerinden TGF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$ 'nın, barsak epitel hücresinde bulunduğu ve epitel hücre büyümesinde önemli modölatörler olduğu gösterilmiştir. TGF- $\alpha$  barsak epitel hücre proliferasyonunu hızlandırırken, TGF- $\beta$  inhibe eder. Ancak TGF- $\beta$  yeniden yapılanmanın ilk basamağı olan epitel hücre göçünü hızlandırır. Barsak mukozasında bulunan diğer bir çok peptid ve sitokinler de epitel hücre göçünü düzenler. TGF- $\alpha$  dışında, EFG, IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$ 'nın epitelin yeniden yapılanmasını 2-5 kat hızlandırdığı ve hasarlanmış epitelden biyoaktif TGF- $\beta$ 1 salınımını artırdığı; oysa IL-6, TNF- $\alpha$ , PGDF ve endotoksin lipopolisakkaridin hücre migrasyonunda belirgin bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca TGF- $\beta$  monoklonal antikorlarla bloke edildiğinde TGF- $\alpha$ , EGF, IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$ 'nın yeniden yapılanmayı hızlandırma özelliklerini tamamen kaybetmeleri, bu etkilerinin TGF- $\beta$  üzerinden gerçekleştirdiklerini göstermiştir (45).

Barsakta hücre dışı matriks yapımından birincil olarak sorumlu olan hücre düz kas hücresidir ve işlevi, sitokin ya da büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir. IL- $\beta$  barsak düz kas hücre çoğalmasını uyarır ve bir taraftan kollajen sentezini artırırken diğer yandan kollajenaz yapımını artırır. TGF- $\beta$  ise seçici olarak barsak düz kas hücrelerinden kollajen yapımını artırırken, çoğalmayı uymaz (48). Bu etkinin, barsak iyileşmesinde önemli katkısı olduğu kabul edilmektedir. Proinflamatuvar bir sitokin olan IL-1'in, tamir olayının erken dönemlerinde ortaya çıkarak; bir yandan düz kas hücre çoğalmasını uyarırken, diğer yandan kollajen yapımını arttırması ve aynı zamanda kollajenaz aktivitesini arttırması, muhtemelen yara bölgesine hücre göçünü kolaylaştırmaktadır (49, 50). Daha sonra TGF- $\beta$  ortaya çıkarak, kollajen yapımı ve barsak bütünlüğünün sağlanması için, bölgeye göçen hücreleri seçici olarak uyarır (51,52, 53).

İyileşme sürecinin bir çok komponenti, tüm doku tiplerinde aynı olmasına rağmen, genel olarak iyileşme sürecinde dokular arasında farklılık mevcuttur. Travmadan hemen sonraki başlangıç enflamatuar cevabı, yeni kollajen birikimi ve skarın olgunlaşması gibi iyileşme olayının bir çok komponenti tüm dokularda ortak olarak meydana gelmektedir. Ancak, dokular arasında iyileşme olayının hızını ve sonucunu değiştirebilen bir çok farklar da vardır (7). Bunlar;

1. Normal şartlarda gerilme kuvveti, cilt yaralarına göre barsakta çok daha hızlı kazanılmaktadır (54).
2. Gastrointestinal sistem yaralarında fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollajen sentezlerken, bu durum ciltte görülmez (55).
3. Cilt ve barsak yararındaki fibroblastlardan kollajen sentezi farklı mekanizmalara düzenlenir (56).
4. GI kanalın diğer dokulardan yara iyileşmesi yönünden ayıran diğer faktörler barsağın çok katlı yapısı, lümenin aşırı mikroorganizma içermesi, sütür hattının örtülmesini sağlayan serozanın özelliği ve hipovolemik şokta perfüzyonunu kendiliğinden azaltan GI kanalına özel damarsal yapıdır.
5. Barsaktaki iyileşmeye mukoza, submukoza ve serozal katmanların katkısı da farklıdır(1).

Tablo 3’de yara iyileşmesinde etkili olan komponentler bakımından gastrointestinal kanal ile deri arasındaki farklar bildirilmiştir.

**Tablo 3: İyileşme Olayının Komponentleri: Barsak ve Derinin Karşılaştırılması (1)**

Yara Ortamı	GI Kanal	Deri
PH	Lokal ekzokrin salgılara bağlı olarak tüm GI kanalında farklıdır	Sepsis ya da lokal infeksiyon dışında çoğu zaman sabittir.
Mikro-organizmalar	Özellikle kolon ve rektumda olmak üzere aerobik ve anaerobik. Peritoneal boşluğun kontaminasyon olasılığı mevcuttur.	Cilt kormensalları nadiren sorun oluştururlar. Enfeksiyon kontaminasyon ya da kan yoluyla olur.
Gerilme	Lümen içeriğinin geçişi ve peristaltizm anastomoz üzerinde ayrılma etkisi meydana getirir.	İskelet hareketleri sütür hattında strese neden olabilir, ağrı aşırı hareketleri engelleyen koruyucu bir mekanizmadır.
Doku Oksijenasyonu	Sağlam damarlara ve yeni kapiller oluşumuna bağlıdır.	Oksijenin dolaşımıyla taşınması ve diffüzyon ile olur.
Kollajen sentezi		
Hücre Tipi	Fibroblast ve düz kas hücresi	Fibroblast
Latirojenler	D-penisillamin kollajen çapraz bağlantıları üzerine etkisi yoktur.	Çapraz bağlantıları belirgin bir şekilde engelleyerek yara gerilim gücünü azaltır.
Steroidler	GI iyileşmeyi azaltır, anastomoz hattında abselere neden olabilir.	Kollajen akümülyasyonunda azalmaya neden olur.
Kollajenaz Aktivitesi	Rezeksiyon ve anastomozdan sonra tüm barsak kanalında artmaya başlar. Sepsis sırasında enzimin aşırı artışı, dokunun sütür tutma kapasitesinin azalmasına ve sonuçta kaçaklara neden olur.	Cilt yaralarında çok önemli rolü yoktur.
Yara Gerilim Gücü	Hızlı	GI dokuya göre daha yavaş

İyileşen sütür hattının gerilim kuvveti, nitelik ve niceliksel olarak tamir olayının düzeyini yansıtır. Postoperatif ilk günler boyunca anastomoz bölgesindeki kollajen miktarında belirgin bir azalma meydana gelir ve anastomozdaki gerilim kuvveti düşüktür

(57). Erken dönemdeki bu kollajen azalmasından, tüm gastrointestinal sistem submukozasında bulunan kollajenaz enzimi sorumlu tutulur. Yine, yara bölgesine geçici olarak gelen nötrofillerden salınan proteazlar ve serbest oksijen radikallerinin, hücre dışı matriksinde değişiklik meydana getirerek gerilim kuvvetinde azalmaya neden olduğu ileri sürülmüştür (58).

Erken dönemde gerçekleşen bu kollajen degradasyonunu belirgin bir kollajen sentezi izler. Yeni oluşan kollajenin orijinal barsak duvarı sağlamlılığına ulaşabilmesi için aralarında köprüler oluşturması gereklidir. Matür kollajen, tek tek kollajen moleküllerinin intermoleküler lizin çapraz bağları ve disülfid bağlarını içeren kovalent bağlarla stabilizasyonu sonucu oluşmuş bir agregattır.

Kollajen sentezinin gerçekleşmesinin iyileşme olayları esnasında çok kritik bir rolü vardır. Bu sentezlenme işleminin regülasyonunda meydana gelecek bir bozukluk direkt olarak anastomoz kuvvetinde azalmaya ve sonuçta anastomozda ayrılmaya neden olabilir.

#### **2.4 ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİ BELİRLEYEN FAKTÖRLER**

Barsaktaki anastomotik iyileşmeyi iyi ya da kötü yönde etkileyen bir çok lokal ve sistemik faktörler vardır (Tablo 4). Bu değişkenlerin sabit tutulamaması nedeniyle, barsaktaki iyileşme mekanizmaları ile ilgili bilgiler klinik çalışmalar yerine daha çok deneysel çalışmalarla elde edilmiştir.

Anastomoz bölgesindeki kan akımı iyileşme sürecinde kritik öneme sahip bir faktördür. Barsağın uygun cerrahi mobilizasyonu anastomozun perfüzyonu için çok büyük bir öneme sahiptir. Çünkü kaba veya fazla yapılan mobilizasyonla kritik damarların zedelenme ihtimali yüksektir (59). Bunun aksine yetersiz yapılacak mobilizasyon, anastomoz gerilimini artırarak yetersiz perfüzyona ve ek olarak fazla inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olacaktır (60). Hipovolemi gibi efektif sirkülatuar volümün düştüğü durumlarda, vital organlara daha fazla perfüzyon amacı ile gastrointestinal sistemden çekilen volüm de anastomotik perfüzyonu belirgin bir şekilde düşürecek ve anastomozu tehlikeye sokacaktır. Kan hacmindeki %10' luk bir azalma mezenterik kan akımında %30 azalmaya neden olur (61, 62). Kollajen sentezi sürecinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için yeterli ve uygun dağılmış oksijenizasyon gereklidir (63).



**Tablo 4: Barsakta anastomoz iyileşmesini etkileyen lokal ve sistemik faktörler (64)**

Lokal	Sistemik
Yeterli kan akımı	Beslenme durumu
Anastomozda gerginlik	Sepsis
Yara uçlarının sağlıklı olması	Hipovolemi
Cerrahi teknik	İlaçlar (steroid, NSAİİ, 5-FU gibi)
Bakteriyal kontaminasyon	İmmün supresyon
Distalde obstrüksiyon	Kan transfüzyonu
Radyasyon hasarı	Üremi
Barsak hazırlığı (temizliği)	Sarılık
Hipertermi, Dren	

(NSAİİ: Non-steroid anti inflamatuvar ilaçlar, 5-FU: 5-fluorourasil)

Kan transfüzyonu sonrası immün cevapta baskılanma, tümör gelişiminde ve rekürens oranında artma olduğu tespit edilmiştir (65,66). Kan transfüzyonlarının kolonik iyileşmeyi bozduğu ve intraperitoneal sepsis insidansını artırdığı tespit edilmiştir (67, 68, 69). Cilt yaralarının iyileşmesinde lenfositlerin önemli düzenleyici rolleri mevcuttur. Kan transfüzyonlarının, lenfosit blastogenezisini ve diğer immün hücrelerle olan ilişkisini bozduğu tespit edilmiştir (70).

Deneyimli cerrahlar tarafından yapılan operasyonlarda, öğrenme sürecinde olan cerrahlara oranla daha az yara komplikasyonu olduğu bilinmektedir. Everte edici anastomoz tekniğinin, inverte ediciye oranla daha fazla kaçağa ve adhezyon oluşumuna neden olduğu, stenoz ihtimalinin ise daha az olduğu tespit edilmiştir (71).

Gastrointestinal sistem ve jinekolojik malignansiler için radyoterapinin kullanım sıklığındaki artış, doku viabilitesi ve iyileşme kapasitesinde bozukluk gibi istenmeyen etkileri beraberinde arttırmıştır. Tümör hücrelerinde obliterasyon yapmakla beraber, komşu dokularda istenmeyen akut ve kronik etkileri mevcuttur. Radyoterapinin barsak anastomozu iyileşmesi sürecinde ciddi problemler yarattığı ve spontan perforasyon riskinde artış meydana getirdiği bilinmektedir. Gastrointestinal sistem üzerinde uzun süreli etkileri; fibrozis, striktür oluşumu ve endarteritis obliterasyonuna ikincil iskemidir (72, 73).

Erken postoperatif dönemde gastrointestinal anastomozlarda, anastomotik dokunun sütür kaldırma kuvvetinin belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Bu kayıp iyileşme

sürecinin ilk üç gününde kollajen sentezi ve yıkımı arasındaki dengeyi yansıtmaktadır (74, 75). Kollajen yıkım aktivitesinden primer olarak granülositler sorumludur ve kontaminasyon, fekal sızdırma ve doku nekrozu sayılarında belirgin yükselme olduğu tespit edilmiştir. İyileşme sürecinin ilk 24 saatinde kolona oranla ileumda daha az kollajenolizis görülür ve preoperatif kollajen düzeyi ileumda daha hızlı restore edilir. Bu nedenle ileumda anastomotik ayrılma ihtimali diğerlerine oranla daha düşüktür (76).

Klinik ve deneysel çalışmalarda, fekal yüklenmenin intestinal anastomoz bütünlüğü ve iyileşmesini bozduğu gösterilmiştir (77). Bu etkinin muhtemelen fekal kitlesinin, anastomozu gererek iyileşmenin erken safhasında zayıflamış yara kenar dokusundaki sütürü koparması nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Yeterli kolon temizliğinin yapıldığı anastomozlarda, yetersiz kolon temizliği yapılan anastomozlara oranla daha az anastomotik ayrılmanın olduğunu bildiren bir çok yayın mevcuttur (7).

Deneysel modellerde, kortikosteroidlerin, özellikle inflamatuvar yanıtı etkileyerek, yara iyileşme sürecine olumsuz etki yaptığı gösterilmiştir.(78). Klinik çalışmalarda tedavi dozlarındaki kortikosteroidlerin intestinal anastomozlar üzerindeki olumsuz etkisi gösterilmemiştir (79). Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçların (NSAID), kollajen üretimini artırarak anastomoz iyileşmesine olumlu etkisi bildirilmiştir (80). Sentetik prostoglandin E, analogu olan misoprostol'un anastomozun kollajen içeriğini artırdığı gösterilmiştir (81). Benzalkonium chloride solüsyonunun lokal olarak barsak serozal yüzeyine tatbiki sonrası, myenterik plexus nöron sayısında belirgin azalma ile beraber intrinsik denervasyon meydana gelir ve epitelyal hücre proliferasyonunu bozulması ile beraber anastomoz iyileşmesi belirgin bir şekilde bozulur (82).

TGF- $\beta$  trombosit alfa granülerinin fizyolojik bir komponentidir ve iyileşme sürecinin erken dönemlerinde salgılanır (60). Fibroblast ve makrofajlar için kemotaktik etkisi ile beraber, fibroblast ve intestinal düz kaslardan kollajen sentezini artırır (82, 83). Deneysel hayvan modellerinde topikal uygulamanın intestinal anastomoz iyileşmesi üzerinde olumlu etkisi görülmüş ve steroid kullanımı ile ortaya çıkan olumsuz etkileri ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (84, 85).

Rekombinant growth hormonun (GH) intestinal yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisi tespit edilmiştir. GH, ince barsakların temel yakıtı olan glutamin başta olmak üzere ileum ve jejunumdan amino asit transportunu artırır. GH'nun, ek olarak protein sentezini artırıcı etkisi tespit edilmiştir (86).

Hem lokal hem sistemik ntrisyondun intestinal yara iyileşmesi üzerine etkileri vardır; Kısa zincirli yağ asitleri, kolonun doğal bakteriyal florası tarafından, diyetdeki liflerin fermentasyonu ile oluşturulur. Kolonda, doğal bakteriyal flora asetat, propiyonat ve bütirat oluşturur. Kısa zincirli yağ asitleri epitelyal hücre proliferasyonunu uyarmakta ve bu hücelere enerji kaynağı olmaktadır (87). Bu nedenle doğal bakteriyal florayı bozacak bir işleml mukozal iyileşmeyi bozmaktadır. Kısa zincirli yağ asitlerinin direkt intraluminal infüzyonu intestinal anastomoz iyileşmesini olumlu yönde etkilemektedir (88). Nütrisyonel durum ile yara iyileşmesi arasındaki ilişki, hem klinik hem deneysel hayvan modellerinde tespit edilmektedir. Uzun veya kısa süreli malnütrisyon durumlarında anastomoz iyileşmesinin bozulduğu bilinmektedir (89). Malntrisyonda, anastomoz iyileşmesindeki bozukluk, kollajen sentezi için yetersiz amino asit alımı ve immün durumun bozulmasına bağlanmaktadır.

Askorbik asit, intestinal düz kaslardan prokollajen üretmesi nedeni ile gastrointestinal yara iyileşmesinde önemli rolü vardır. Eksikliğinde, ekstraselüler alana prokollojen sekresyonunda ciddi problemler tespit edilmektedir (9, 90).

Anastomotik komplikasyonlar yaşıla birlikte artmaktadır (5). Bu olumsuz etki, yaşıla beraber sıklığı artan kardiovasküler, respiratuar yetmezlik, malnütrisyon ve malignensi nedeniyle ortaya çıkmaktadır.

Intrabdominal sepsis varlığında, fibrinoprlan eksudanın anastomoz alanını doldurduğu, burada fibroplazi ve anjiogenezisi önlediği gsterilmiştirl (91). Deneysel modellerde, intrabdominal sepsis varlığında, ilk 24 saat içinde kolonun yapısal proteinlerinde azalma olduğu, kollajenolizisin arttığı bildirilmiştirl (92). Sepsiste aynı zamanda anastomotik dokunun kollajen sentez kapasitesi belirgin bir şekilde düşmüştür (93).

## 2.5 PLATELETTEN ZENGİN PLAZMA (PRP)

### PLATELETLER

Platelet 2-4  $\mu$  çapında, yuvarlak yada oval disklerdir. Kemik iliğinde, hemopoetik serinin çok geniş hücreleri olan ve kendileri kemik iliğini terkedip dolaşıma girmeyen megakaryositlerden, tomurcuklanarak koparlar ve dolaşıma katılırlar. Konsantrasyonu milimetrekpte 150.000-350.000 arasındadır. Yarı mr dolaşımda 8-12 gündür.

Plateletler nükleusları olmaması ve oğalmamalarına karşınl, hücrenin birçok karakteristik özelliğine sahiptir;

1. Sitoplazmasında aktin-miyozin molekülleri kasılmalarını sağlar.
2. Endoplazmik retikulum ve golgi apareyi kalıntılarında enzim sentezi yapılı ve kalsiyum depolanır.
3. Adenozin trifosfat oluşturan enzim sistemleri vardır.
4. Prostaglandin sentezi yapan enzim sistemleri taşırlar.
5. Growth faktörler depo edilirler.
6. Plateletler yara iyileşmesinin hemostaz fazında protrombinazı aktive eder.

Trombin sentezi ve bununla birlikte fibrinojenden fibrin yapımı başlar. Fibrin ağı ve plasmaya geçirgen olmayan bir pıhtı meydana getirir.

#### TROMBİN;

$Ca^{++}$  iyonlarının varlığında fibrinojeni fibrine çevirerek koagülasyon mekanizmasında önemli rol oynar. Trombin aynı zamanda faktör XIII'ü aktive eder. Trombin tarafından aktive olan faktör XIII, fibrin pıhtısı içerisinde çapraz bağların oluşumunu katalize eder ve uygulama yerinde stabil pıhtı oluşur. Trombin ve faktör XIII, stabil pıhtıya fibroblast göçünü uyarırlar.

#### KALSİYUM İYONLARI ( $Ca^{++}$ );

Koagülasyon mekanizmasında önemli rolü vardır. Fibrinojeni trombin tarafından fibrine dönüştürülmesinde  $Ca^{++}$  gereklidir. Aktive olmuş faktör XIII'ün bilinen tek fizyolojik inhibitörü ortamda kalsiyumun tükenmesidir.

BioGlu, sığır serum albumini ve glutraldehit karışımından oluşmaktadır. Glutraldehit, albumin moleküllerinin birbirlerine bağlanmasını sağlar. Ayrıca hücre ve ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanır. Albumin üzerindeki bir çok bağlantı noktası güçlü ama esnek implantasyonla sonuçlanan geniş bir bağlama ağı sağlar. Bu reaksiyon kendiliğinden oluşur ve pıhtılaşma mekanizmasından bağımsızdır.

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış (2002/33), Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı ve Yüzüncüyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın işbirliğiyle Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nden temin edilen toplam 30 adet ortalama 200-220 gr ağırlığında, 6-8 haftalık, sağlıklı Wistar rat ile çalışılmış, +25 °C'de ve 12 saatlik gündüz, 12 saatlik gece periyotlarıyla, istedikleri kadar standart rat yemi ve normal içme suları ile beslenen ratlar, rastgele her birinde 10 adet olacak şekilde 3 gruba ayrılarak farklı kafeslerde tutulmuştur.

Tüm ratlar cerrahi girişimden 12 saat önce aç bırakılmıştır.

#### 3.1 PRP KARIŞIMININ HAZIRLANMASI

Plateletten zengin plasma hazırlamak için rat kanı kullanıldı. Gruplar dışı 5 adet rattan intrakardiak olarak 8'er cc, toplam 40 cc kan alındı. Alman rat kanları bir saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra soğutmalı Jouane marka santrifüjde 1. evrede 4000 RPM'de 20 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan çökelti ayrıldıktan sonra 2. evrede 3000 RPM'de 20°C'de 15 dakika santrifüj edilerek plateletten zengin plasma elde edildi. Plateletten zengin plasma, hazırlandıktan sonra 30 dakika içinde trombin ve kalsiyum klorid belirli oranlarla karıştırıldı. (Tablo 5) Karışım 4 dakika sonra jöle kıvamında yumuşak çökelti oluşturdu.

**Tablo 5: PRP karışım oranları**

PRP	Trombin*	Kalsiyum klorür**
2cc	0,2cc	2cc
%47,6	%4,7	%47,6

\*Diamed marka Thrombin (PPT- Reagenaz)

\*\*Diamed marka Calcium Chloride 0,02 mol/l

### 3.2 CERRAHİ GİRİŞİMLER;

Ratlar tartıldıktan sonra, intramüsküler 50 mg/kg ketamin hidroklorid ile anestezi uygulandı ve karın tüyleri tıraşlandıktan sonra, cilt %10'luk povidon-iodin solüsyonu ile temizlenerek tamamen steril koşullar altında ve orta hat kesisi ile karına girildi, çekumdan itibaren 5 cm mesafeden, kanlanması bozulmaksızın, kolonun uzun eksenine dik olacak şekilde tam kat kesildi (Resim 1), daha sonra 6/0 prolen (Ethicon, UK.) ile, tek tabaka ve tek tek sütürlerle, uç uca kolokolik anastomoz uygulandı. (Resim 2) Tüm anastomozlar tek cerrah tarafından yapıldı, her anastomoza 8 sütür kondu. Fasia ve cilt 3/0 devamlı prolen sütür (Ethicon, UK) ile kapatıldı.

I. Gruba sadece kolokolik anastomoz yapıldı(Kontrol grubu). II. Gruba kolokolik anastomoz sonrası anastomoz hattına 0.5 cc plateletten zengin plazma anastomoz hattını çepeçevre saracak şekilde uygulandı (PRP grubu). III. gruba kolokolik anastomoz sonrası anastomoz hattına 0.5 cc Bioglue, yine anastomoz hattını çepeçevre saracak şekilde uygulandı (Biolue grubu). (Tablo 6)

**Tablo 6**

<b>Grup I (Kontrol grubu)</b>	Laparotomi + kolokolik anastomoz
<b>Grup II (PRP grubu)</b>	Laparotomi + kolokolik anastomoz + anastomoz hattına PRP uygulanması
<b>Grup III (Bioglue grubu)</b>	Laparotomi + kolokolik anastomoz + anastomoz hattına Bioglue uygulanması

Postoperatif dönemde 12 saat sonra, standard yiyecek ve suları istedikleri kadar verilen ratlara anastomozdan sonraki 7. günde aynı doz ketamin hidroklorid anestezisi ile relaparotomi yapılarak karın ve anastomoz eksplore edildi, yapışıklıklara müdahale edilmeden anastomoz proksimal ve distalinden birer cm mesafeden rezeke edildi ve lümen içerisine kateter yerleştirildikten sonra her iki uç uç 3/0 ipek (Ethicon, UK.) sütür ile bağlanarak oblitere edildi. Basınç ölçümü için manuel olarak çalışan bir sfingomanometri katetere bağlandı. (Resim 3a, 3b) İçi sıvı dolu kapta intraluminal basınç hava ile artırıldı. Patlama basıncı ölçümleri körleme olarak yapıldı. Patlama basıncı, anastomotik kaçakla beraber hava kabarcığının anastomoz hattında görüldüğü andaki değer olarak kaydedildi. (Resim 4) Anastomotik patlama basınçlarının ölçümü sonrası anastomoz hattının distal ve

proksimalinden toplam 0,5 cm lik bir parça çıkarıldı ve hidrokspirolin çalışılması amacı ile alimünyum folyolara sarılarak sıvı azot içerisinde donduruldu ve - 70  C derin dondurucuda saklandı.

### 3.3 ANASTOMOZ HATTINDA HİDROKSİPROLİN ÖLÇÜMÜ

Anastomoz hattını içeren dokularda 4-hidrokspirolin düzeyi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı. Daha önce -70  C derin dondurucuda saklanmış olan ince barsak parçalarından kollajen miktar göstergesi olan hidrokspirolin, Jamall IS' nin tarif etmiş olduğu yöntemle ölçüldü (90).

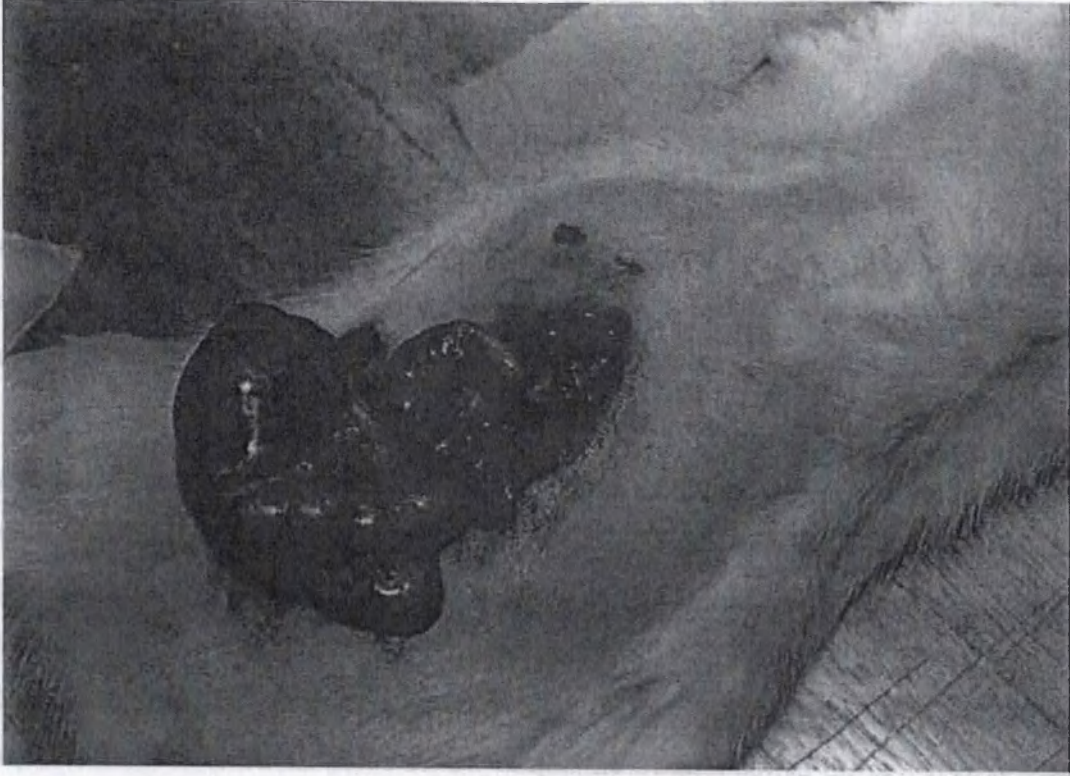
Derin dondurucuda saklanan dokular filtre kağıdı ile nemi alındıktan sonra hassas terazide tartıldı, 0,2 gram barsak dokusu  rneği alındı. Bu doku  rneği, pyrex tüplere aktarıldı ve üzerlerine 6N Hidroklorik asit (HCL) ilave edilip 105  C de 18 saat boyunca hidroliz edildi. Hidrolizatlardan 25  L alınan  rneler liyofilize edilip 1,2 ml % 50' lik (v/v) izopropil alkolde çözdürüldü. Bu  rneklere Kloramin T solüsyonu eklenip 10 dakika beklenildi. Takiben 1' er ml Erlich reaktifi eklenip 50  C de 90 dakika inkübe edildi. Oluşan renk 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Aynı şartlar altında 0.4, 0.6, 0.8, 1.2 ve 1.6  g hidrokspirolin standartları da çalışıldı. Standart eğriden numune konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar  g hidrokspirolin / mg doku olarak verildi (90).

### 3.4 HİSTOLOJİK DEğERLENDİRME

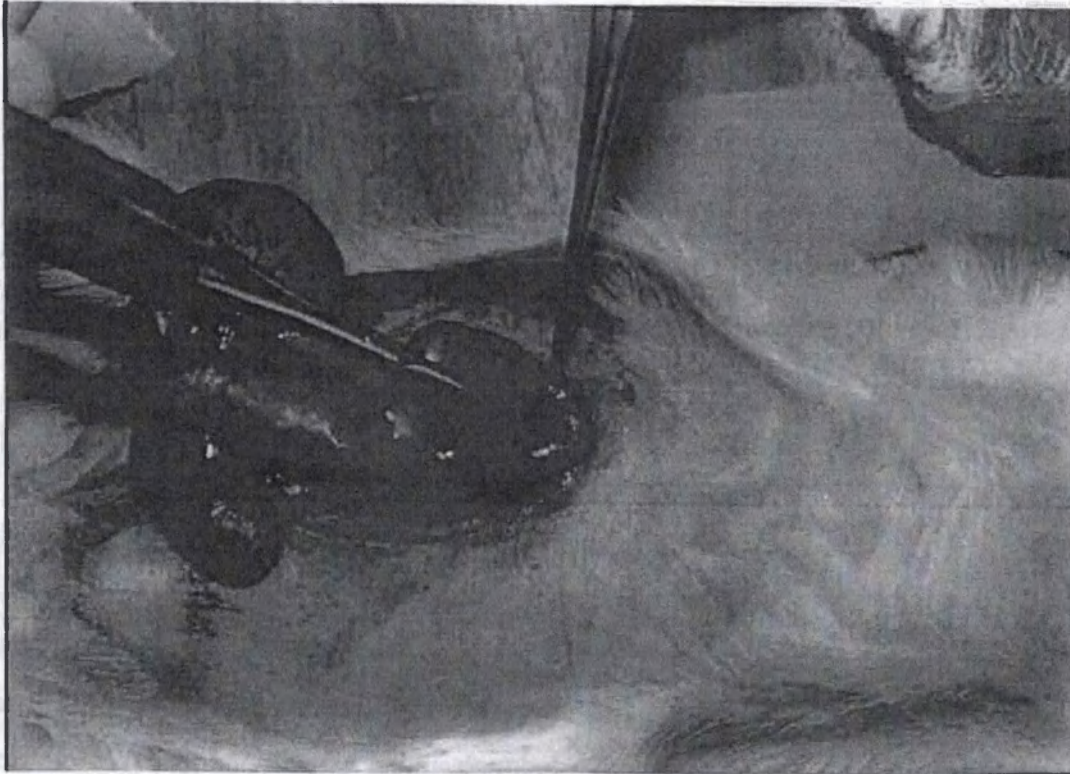
Histopatoljik incelemede; formolinle fiske edilen dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5  'luk kesitler elde edildi. Kesitler Hemotoksilen eozin boyası ile boyandı. Histopatolojik incelemede kriter olarak fibroblast, kan damarları ve kollajene bakıldı.

### 3.5 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Tüm istatistiksel hesaplamalar, istatistiksel işletim sistemi olan SPSS (SPSS for Windows release 10.0, SPSS İne, USA) aracılığı ile yapılmıştır. Anastomoz iyileşmesinin 7. gününe ait parametrik sonuçlar (anastomoz patlama basınçları ve anastomoz hattı hidrokspirolin düzeyleri) Varyans Analizi Testi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Bu test sonrasında bulunan farklılıkların hangi grup ortalamalarından kaynaklandığı Post Hoc Tests ile araştırılmıştır. Tüm karşılaştırmalarda  $P < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

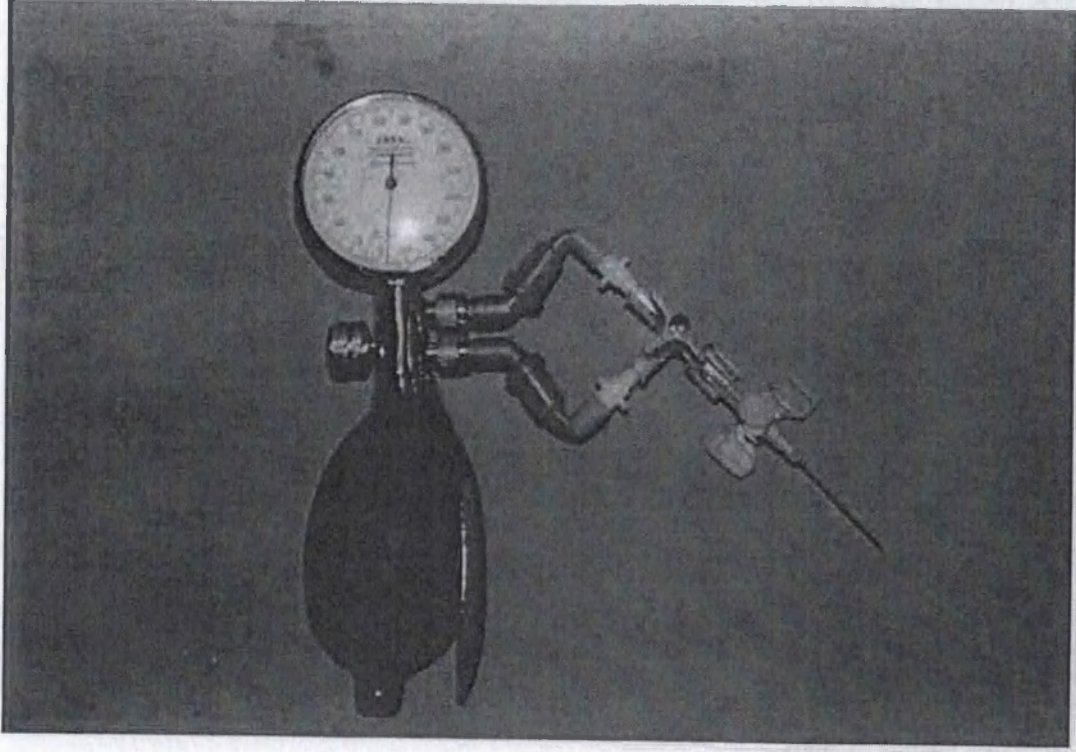


**Resim 1: Çekumdan itibaren 5.cm'de transeksiyon hattı**

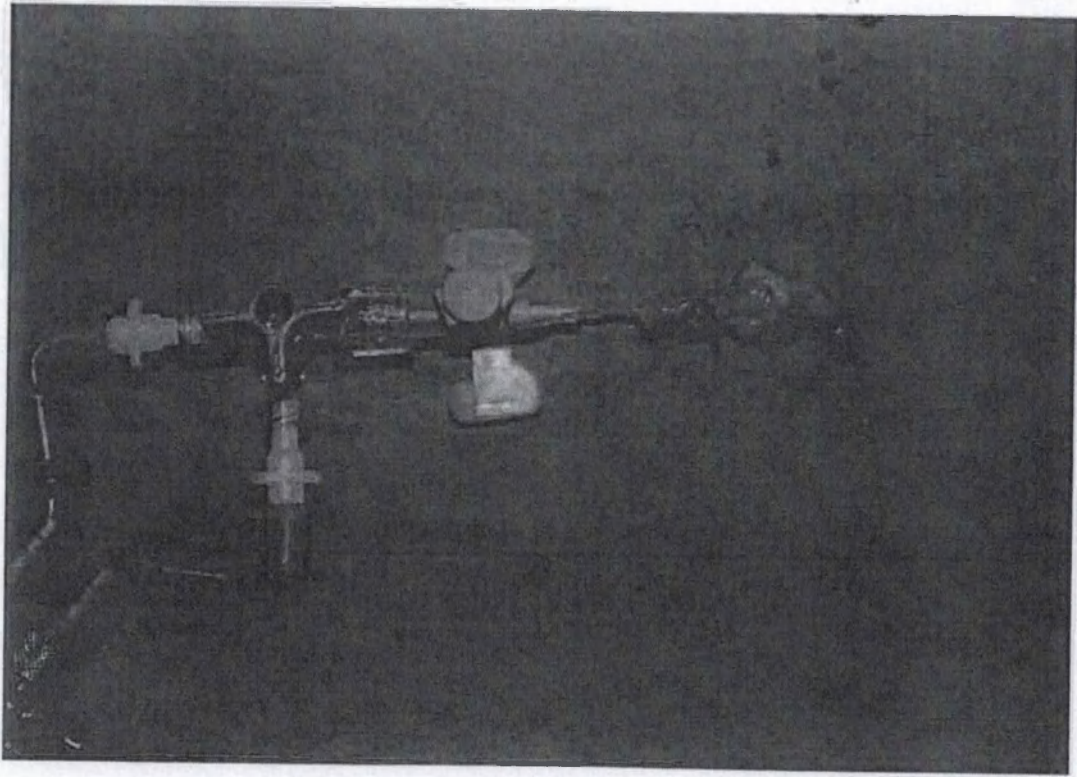


**Resim 2: Transeksiyon sonrası yapılan uç uca kolokolik anastomoz hattı.**

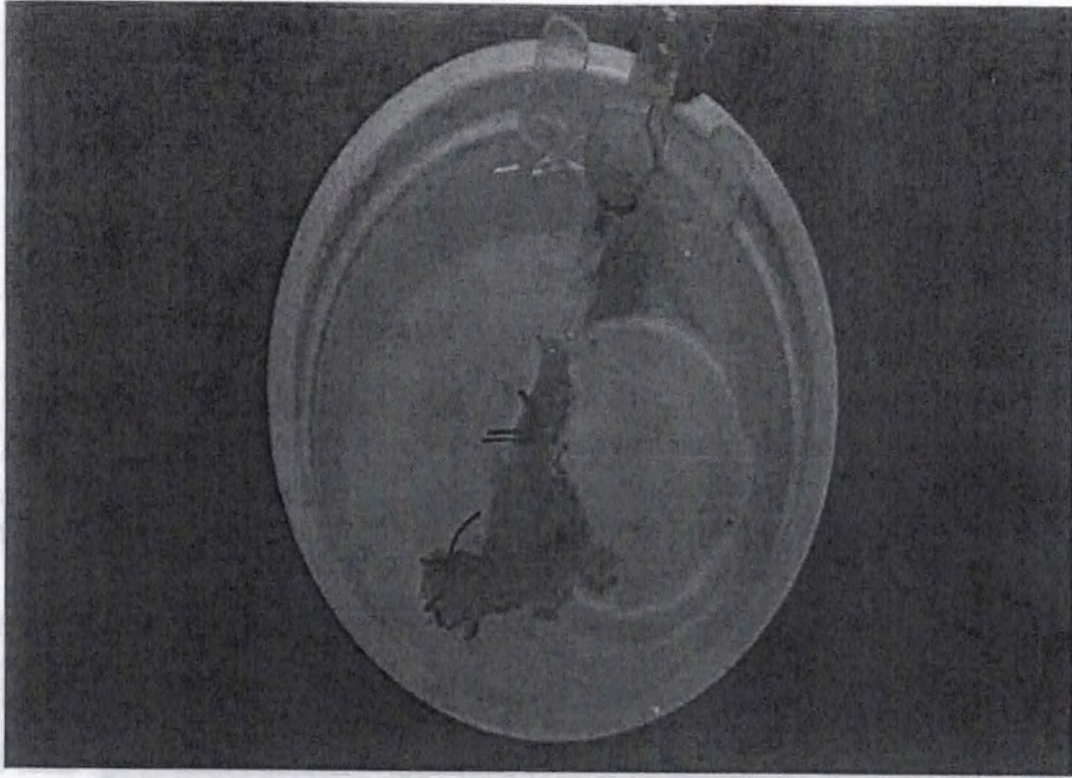




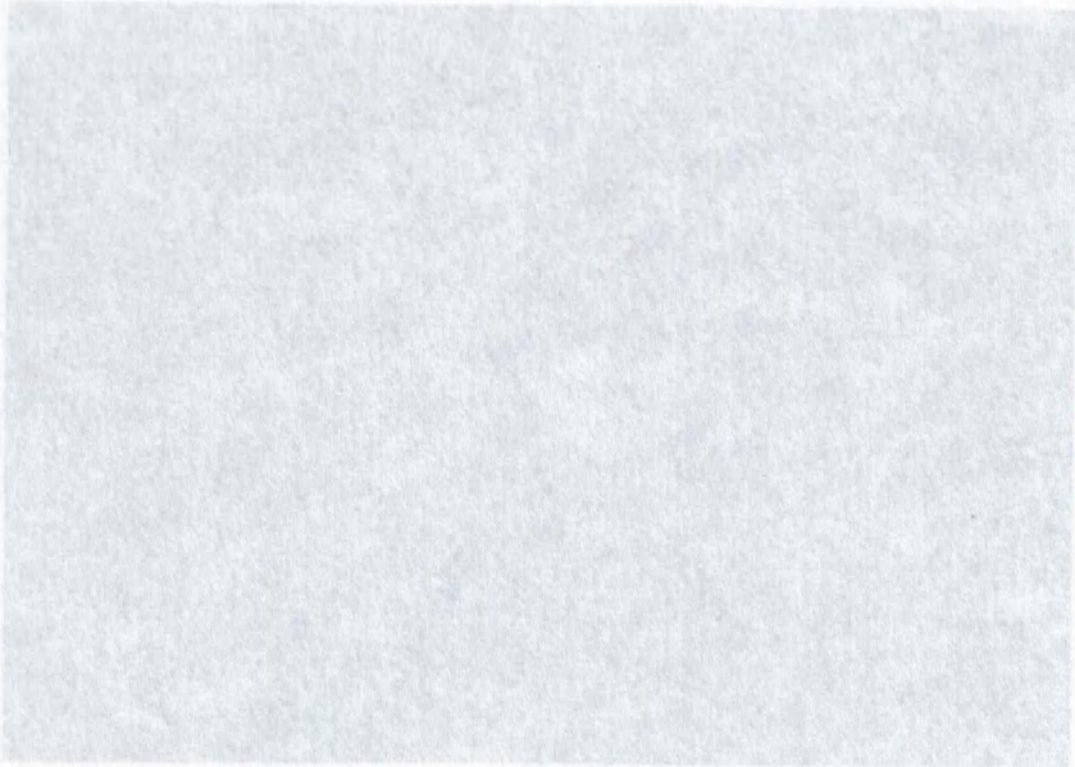
**Resim 3a: Basınç ölçümü için kullanılan manuel sfingomanometri.**



**Resim 3b: Basınç ölçümü için rezeksiyon sonrası lümen içi kateterizasyon.**



**Resim 4: Patlama basıncı ölçümü**



#### 4. BULGULAR

Kontrol grubundan bir, PRP ve Bioglue grubundan ikişer rat sakrifikasyon öncesi anastomoz kaçağı nedeniyle öldü. Bu ratlarda çalışma yapılmadığı için çalışma dışında bırakıldı. Takip eden günlerde aynı koşullarda yeni çalışmalar yapıldı ve çalışılan rat sayısı her grupta 10'a çıkarıldı.

Deneklerin patlama basınçları Tablo 7'de gösterilmiştir. Anastomoz patlama basınçları aritmetik ortalaması (AO  $\pm$  SD); grup I'de  $195,5 \pm 15,3$  mmHg, grup II'de  $270 \pm 29,8$  mmHg ve grup III'de  $214 \pm 16,46$  mmHg şeklinde idi.

Anastomoz hattına PRP uygulanan II.grupta ortalama anastomoz patlama basıncı  $270 \pm 29,8$  mmHg olarak bulunmuş olup kontrol grubuna göre belirgin bir yükselme tespit edildi. Kontrol grubu ve PRP grubu arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p < 0,05$ )

Anastomoz hattına Bioglue uygulanan grupta ortalama anastomoz patlama basıncı  $214 \pm 16,46$  mmHg olarak bulundu. Kontrol grubu ve Bioglue grubunun patlama basınçları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. ( $p = 0,055$ )

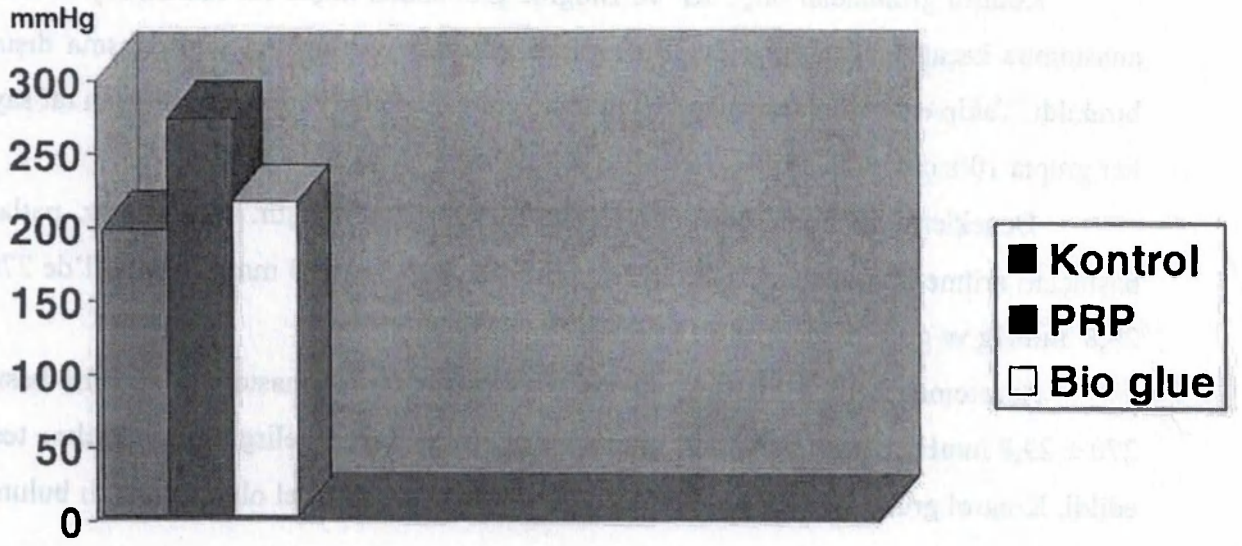
PRP ve Bioglue grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p < 0,05$ ) (Tablo 8)

**Tablo 7: Anastomoz patlama basınçları ölçüm sonuçları**

PATLAMA BASINCI (mmHg)											
RAT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ort. Basınç $\pm$ Std Deviasyon
I	210	180	220	170	205	190	200	180	205	195	$195,5 \pm 15,3$ mmHg
II	310	230	240	300	310	250	280	250	280	250	$270 \pm 29,8$ mmHg
III	240	190	210	220	210	220	200	240	210	200	$214 \pm 16,46$ mmHg

**Tablo 8: gruplar arası anastomoz patlama basınçlarının karşılaştırılması**

Gruplar	Ortlama farklılık	P değeri
Kontrol-PRP	74,5	0,000
Kontrol-Bioglue	18,5	0,055
PRP-Bioglue	56	0,000



**Şekil 1: Anastomoz hattı patlama basınçları (mmHg)**

Anastomoz hattında tayin edilen hidroksiprolin seviyeleri tablo 9'da gösterilmiştir.

Anastomoz hattında tayin edilen hidroksiprolin seviyeleri; grup I'de  $10,96 \pm 5,94$   $\mu\text{g}$  hidroksiprolin / mg doku, grup II'de  $18,2 \pm 4,95$   $\mu\text{g}$  hidroksiprolin / mg doku ve grup III'de  $11,08 \pm 5,08$   $\mu\text{g}$  hidroksiprolin / mg doku olarak tespit edildi.

Anastomoz hattına PRP uygulanan II.grupta anastomoz hattında ortalama hidroksiprolin seviyesi  $18,2$   $\mu\text{g}$  hidroksiprolin / mg doku olarak bulundu, kontrol grubuna göre belirgin bir yükselme tespit edildi. PRP grubunda kontrol grubuna orana % 60,21 daha yüksek hidroksiprolin seviyesi tespit edildi. Kontrol grubu ve PRP grubu arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p=0,026$ )

Anastomoz hattına Bioglue uygulanan grupta ortalama anastomoz hattı hidroksiprolin seviyesi  $11,08$   $\mu\text{g}$  hidroksiprolin / mg doku olarak bulundu. Anastomoz hattı hidroksiprolin seviyesi kontrol grubuna oranla %1 oranında bir fazlalık tespit edildi, fakat kontrol grubu ve Bioglue grubu patlama basınçları ile hidroksiprolin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. ( $p>0,05$ )

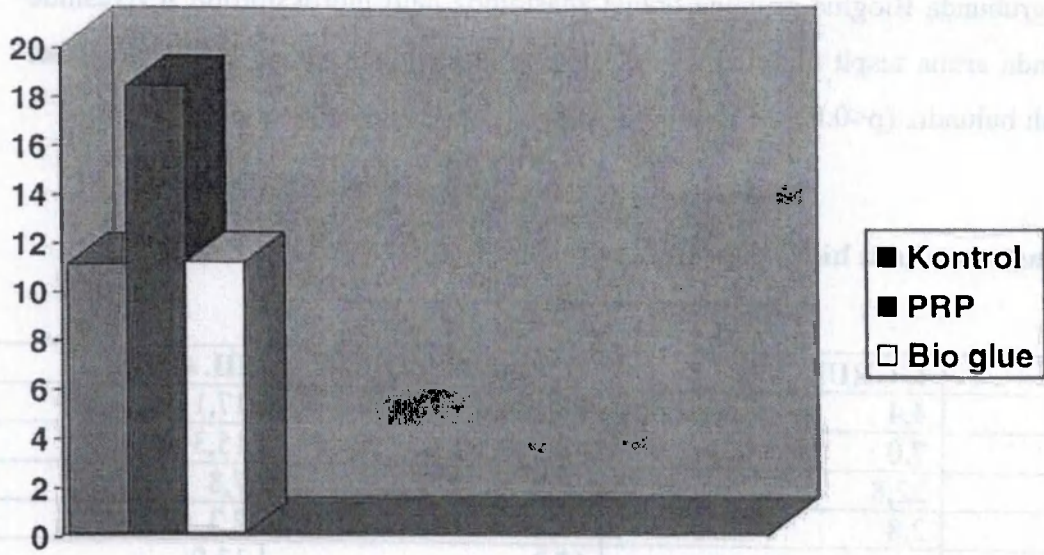
PRP grubunda Bioglue grubuna oranla anastomoz hattı hidroksiprolin seviyesinde %60,8 oranında artma tespit edildi. PRP ve Bioglue grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p < 0.05$ ) (Tablo 10)

**Tablo 9: Anastomoz hattı hidroksiprolin seviyeleri**

	I. GRUP	II. GRUP	III. GRUP
1	4,4	28,5	17,1
2	7,0	12,8	15,3
3	22,8	15,3	7,8
4	2,8	15,1	2,3
5	14,4	17,3	13,9
6	14,4	18,4	6,2
7	9,4	20,2	11,6
8	12,3	24,6	8,4
9	14,6	15,3	10,0
10	7,5	14,5	18,2
Ort $\pm$ Std Deviasyon	10,96 $\pm$ 5.94 $\mu$ g/mg .	18,2 $\pm$ 4,95 $\mu$ g / mg	11,08 $\pm$ 5,08 $\mu$ g/mg

**Tablo 10: Gruplar arası hidroksiprolin seviyelerinin karşılaştırılması**

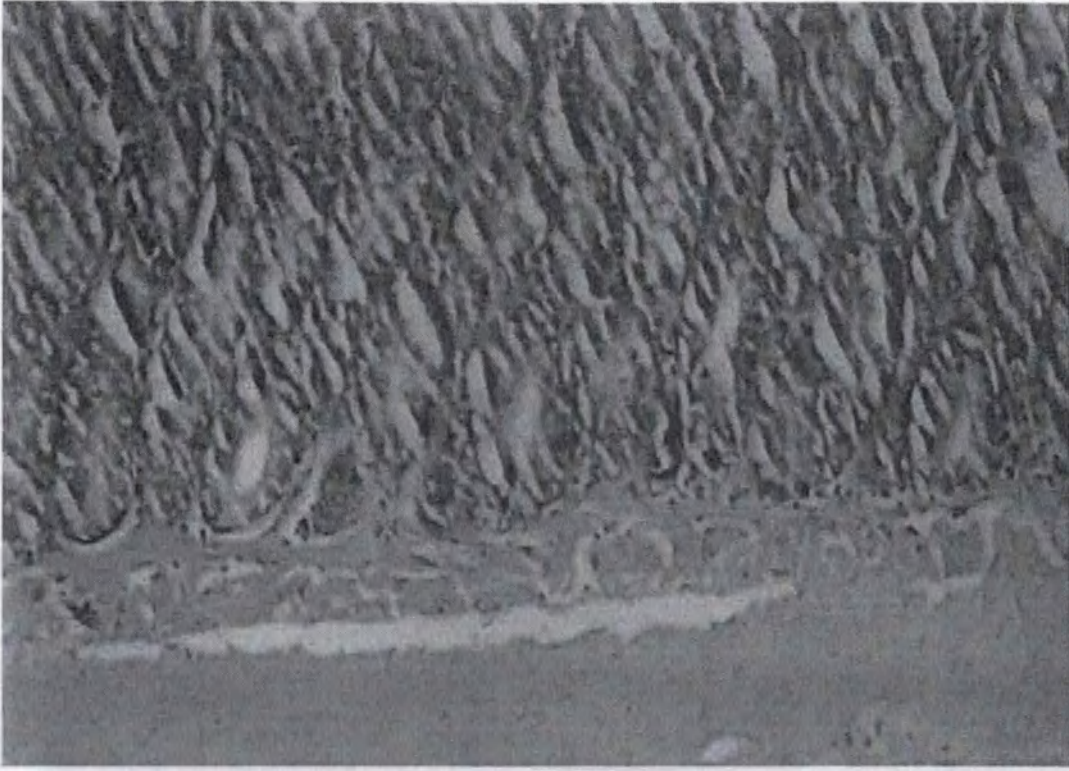
Gruplar	Ortlama farklılık	P değeri
Kontrol-PRP	7,24	0,026
Kontrol-Bioglue	0,12	1,00
PRP-Bioglue	7,12	0,016



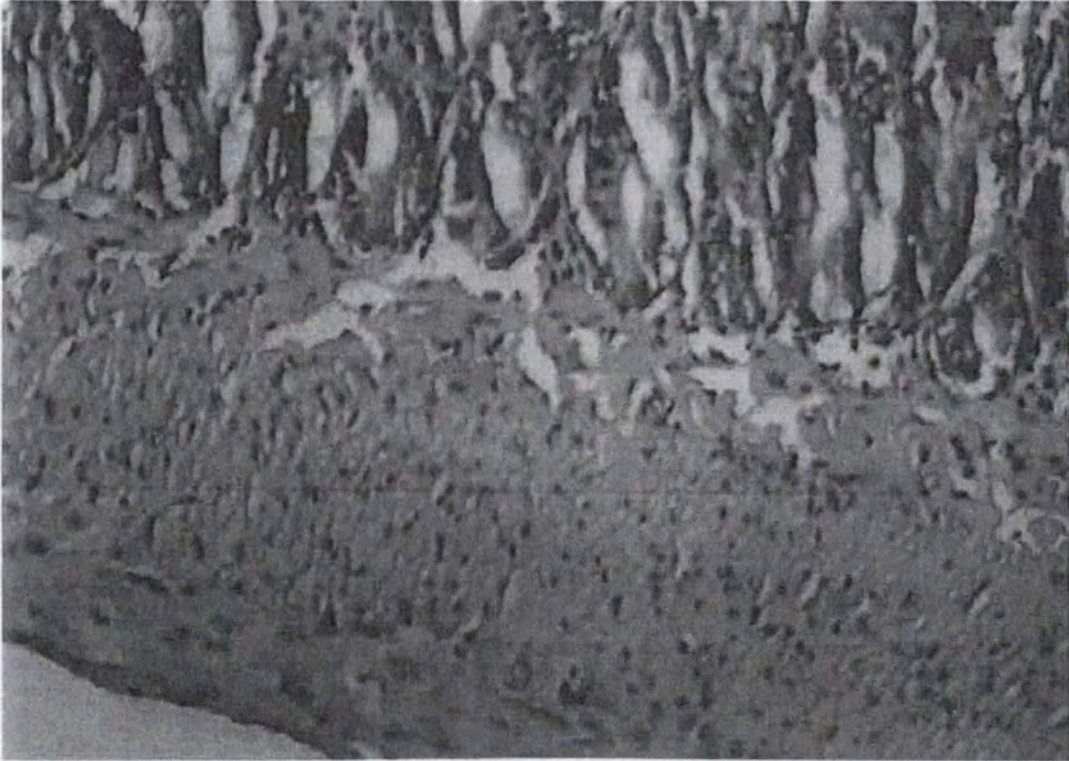
**Şekil 2: Anastomoz hattı doku hidroksiprolin seviyeleri (µg / mg doku)**

Histopatolojik incelemede kriter olarak fibroblast, kan damarları ve kollajene bakıldı. Grup I'de fibroblast, kan damarları ve kollajenden fakir, iltihabi hücre içeren granülasyon dokusu izlendi. (Resim 5) Grup II'de az sayıda iltihabi hücre infiltrasyonu, kan ve yoğun fibroblast gelişimi ve zengin kollajen (Resim 6), Grup III'de artmış fibroblast, kollajen ve iltihabi hücre infiltrasyonu izlendi. (Resim 7) .

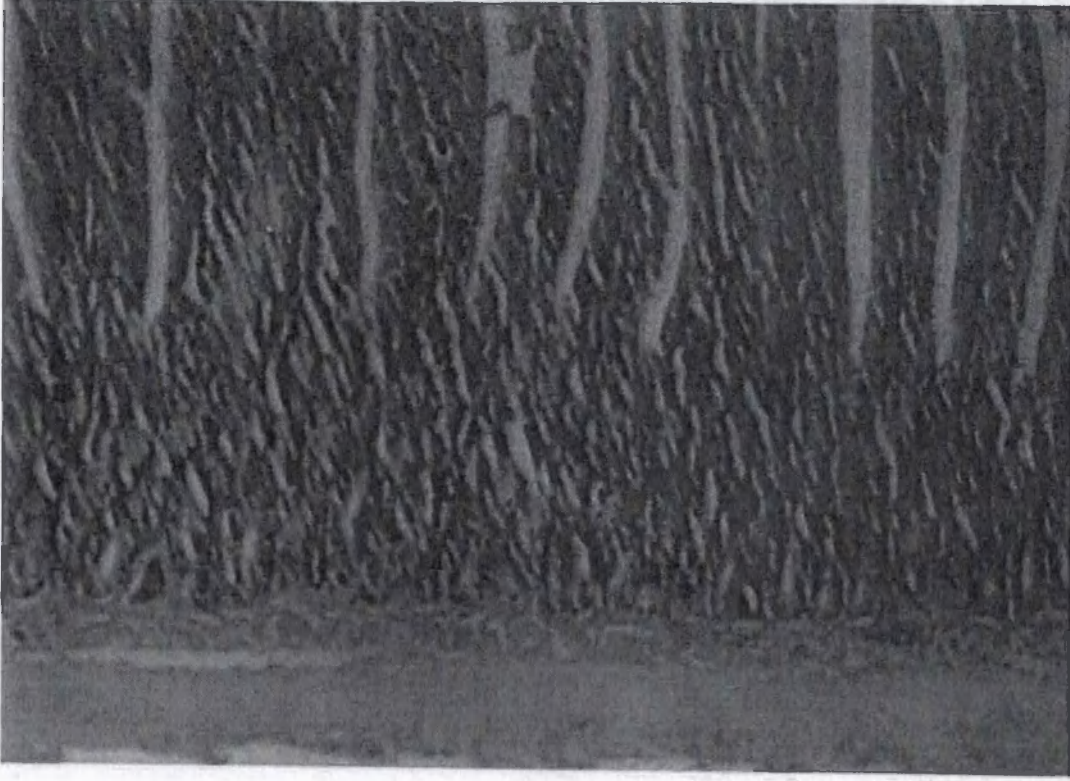
Gruplar	Ortalama farklık	P değeri
Kontrol PRP	7.24	0.028
Kontrol-Bio glue	0.12	1.00
PRP-Bio glue	7.12	0.016



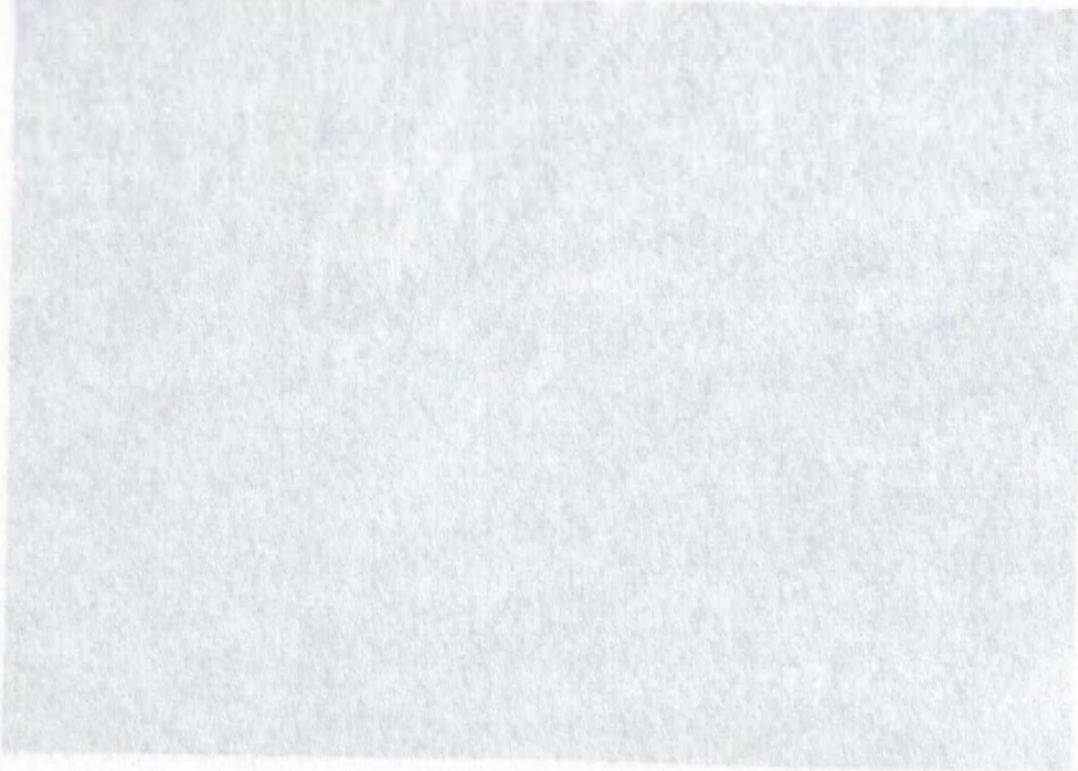
**Resim 5: Kontrol grubunda; fibroblast, kan damarları ve kollajenden fakir, iltihabi hücre içeren doku. (H-E X40)**



**Resim 6: PRP grubunda; az sayıda iltihabi hücre infiltrasyonu, kan ve yoğun fibroblast gelişimi ve zengin kollajen içeren doku. (H-E X40)**



**Resim7: Biogluce grubunda; artmış fibroblast, kollajen ve iltihabi hücre infiltrasyonu içeren doku. (H-E X40)**



**Resim 8: Biogluce grubunda; artmış fibroblast, kollajen ve iltihabi hücre infiltrasyonu içeren doku. (H-E X40)**



## 5. TARTIŞMA

Kolon cerrahisi halen cerrahların aktivitelerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Ancak yüksek bakteriyel içeriği nedeniyle kolon anastomozlarında ayrılma riski gastrointestinal sistemin diğer lokalizasyonlarına oranla daha yüksektir (99,100). Çeşitli yayınlara göre kolon anastomozlarını takiben hastaların yaklaşık % 4.5-50'sinde klinik olarak belirgin kaçak ve ayrılma oluşur. Kolonik anastomoz kaçağı meydana geldiğinde postoperatif hastanede kalış süresi iki, mortalite oranı ise üç kat artmaktadır (99).

İyi bir anastomoz için sağlıklı barsak, anastomoz hattında gerginlik olmaması, yeterli kan akımının olması ve sıvı giriş çıkışını önleyecek sütürlerin konması gibi teknik ayrıntılara dikkat edilmelidir. Anastomotik açılma barsağın mekanik durumu, fekal bulaşın olması ve operasyonda peritoneal sepsisin varlığı ile direkt korelasyon gösterir. Gambia anastomoz hattı kaçaklarına gerilim, obstrüksiyon, nekroz ve en sık olarak da enfeksiyonun neden olduğunu gözlemiştir (107).

Anastomoz iyileşmesinin niceliksel derecesini tayin etmek amacıyla histolojik, mekanik ve biyokimyasal parametreler kullanılmakla beraber her birinin değerlilik sınırları belirlidir. Histolojik çalışmalar, doku düzeyinde iyileşme sürecinin tanımlanmasında oldukça faydalı bir çalışma olmasına rağmen farklı deneysel anastomoz serilerinin niceliksel karşılaştırılmasında primer bir araç olarak değerlendirilememiştir. (94, 78).

Mekanik parametreler, anastomotik iyileşmeyi, şüphesiz, en güvenilir bir şekilde yansıtan araçlardır (78). Bu amaçla, patlama basıncı ve ayrılma kuvveti sıklıkla uygulanmaktadır.

Ayrılma kuvveti anastomoza segmentin zıt uçlarından çekilirken, anastomoz ayrılması için gerekli kuvvettir. Patlama basıncı, artan intraluminal basınca kolon duvarının direncidir ve barsağın fizyolojik gerginliğini daha doğru yansıttığı için en güvenilir ölçümdür. Bu nedenle daha yaygın kullanılır (101, 102).

Anastomotik iyileşmenin monitorizasyonu için anastomotik patlama basıncı, özellikle anastomotik ayrılmanın en fazla gerçekleştiği postoperatif erken dönemlerde (3-7 gün) en değerli parametredir (78).

Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal tayini kollajen içeriği ile sınırlıdır ve sadece kollajende bulunan hidroksiprolin içeriği ile temsil edilir (78). Kollajen konsantrasyonuna dayanan sonuçlar nonkollajenaz substratlardaki değişikliklerden etkilenebileceğinden, kollajen düzeyinin ölçülmesi, anastomoz kollajen içeriğini daha iyi

yansıtmaktadır (94, 78). Bu nedenle çalışmamızda anastomoz hattında doku hidroksiprolin seviyesi ölçülmüştür.

Büyüme faktörleri ve sitokinlerin fibroblast ve düz kas hücresi proliferasyonu için güçlü bir uyarıcı olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (96,97,4). PRP, ihtiva ettiği büyüme faktörleri ile yumuşak doku ve greftlerin maturasyonunu hızlandırarak yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunmaktadır (105). Barsaklarda submukozal kan akımının regülasyonundaki rolü ile mukozal bütünlüğün korunmasında önemlidir. Mikrosirkülasyon ve periferel dokulardaki irreversibl hasarın önlenmesinde, büyüme faktörleri ve sitokinlerin vasoaktif rol oynadığı bilinmektedir (97,98). Büyüme faktörleri ve sitokinlerin deneysel modellerde, doku ATP düzeyini artırdığı, tromboksan düzeyini azalttığı tespit edilmiştir. Bu durumda, lokal olarak büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara yerindeki periferel doku iskemisi ve nekrozuna karşı önemli rolleri olduğu bildirilmiştir (5).

Anastomoz bölgesindeki mikrosirkülasyona olan olumlu etkisi, ihtiva ettiği büyüme faktörleri ve sitokinlerle PRP'nin yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunacağını düşündük. Bu amaçla anastomoz bölgesine PRP uygulayarak doku maturasyonuna olumlu katkıda bulunarak iyileşmeyi hızlandırmasını ve sonuç olarak anastomoz güvenliğini artırmasını bekledik.

Çalışmamızda PRP grubunda kontrol ve Bioglu grubuna oranla, hem anastomoz patlama basıncının hem de doku hidroksiprolin düzeylerinin birbirleriyle uyumlu bir şekilde istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığını tespit ettik. Bioglu grubunda ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anastomoz patlama basıncında ve hidroksiprolin düzeyilerindeki artma anlamsız olarak bulundu.

Hidroksiprolin düzeyindeki değişiklikler, kollajen degradasyonu ve sentezi arasındaki dengeyi yansıtır. Bu parametre, intestinal duvarın diğer içeriklerinin değişimlerinden bağımsızdır. Yeni sentezlenen kollajenin gösterilmesindeki problem nedeni ile radioaktif işaretli prolin enjeksiyonu gibi yeni kollajen sentezini direkt yansıtan yöntemler tarif edilmiş olsa da pahalı olması kullanımını kısıtlamaktadır (106). Biz doku hidroksiprolin düzeyleri ni Jamall IS'nin tarif ettiği yöntemini kullanarak tespit ettik.

Genel olarak, düşük hidroksiprolin düzeyi veya yetersiz sentezinin kötü yara iyileşmesi ile sonuçlanacağına inanılır. Fakat, iyileşme düzeyinin belirlenmesi için hidroksiprolin düzeyi tek başına bir parametre olarak kullanılması bazen hatalı sonuçlar verebilmektedir (94,78). İntestinal anastomozun gücünü belirleyen ana eleman, kollajen kütlelerinin yanı sıra kollajen fibrillerinin kalitesidir (77). Kollajen fibrillerinin gerilim gücü

ve mekanik stabilitesini sağlayan en önemli unsur, intermoleküler çapraz bağların yapılanmasıdır. Bu oluşumu bozacak veya geciktirecek durumlarda anastomotik gerilim gücünde ciddi problemlerin meydana geleceği düşünülse de intestinal anastomoz kollajen çapraz bağlarının yapısal özellikleri ile ilgili çok az veri mevcuttur (9,78). Anastomotik kollajen içeriği ve mekanik parametreler arasında çoğu zaman bir korelasyon olmadığı tespit edilmekte, bu durumun muhtemelen, araştırmaların kollajenin kalitesinden çok kollegeninin kütlesi üzerinde odaklanmasından kaynaklandığı düşünölmektedir (94,78).

Anastomotik iyileşme hemostaz ile başlar ve birincil enflamatuar cevap lökositlerin migrasyonu ve kollajen yapımını artıran mediatörlerin salınımı şeklindedir. Kısa zamanda mukozal reepitelizasyon gelişir (103).

PRP'nin anastomoz üzerine olan etkisini, yine barsak anastomozu güvenilirliğini artırdığı bildirilen bir doku yapıştırıcısı ile karşılaştırmak için araştırmamızda Bioglue kullandık. Bioglue grubunda anastomoz patlama basıncı ve anastomoz hattı hidroksiprolin seviyelerindeki artma kontrol ve PRP grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı değildi.

PRP otolog olarak hazırlandığı için doku reaksiyonuna neden olmaz, tam olarak reabsorbe olur. Doku yapıştırıcılarının kolonik anastomozun kritik erken periyodunda sıvı ve gaz geçirmez bariyer oluşturduğu gözlenmiştir (104). Bu mekanik etki PRP 'ninde anastomozu uygulanması esnasında tarafımızdan gözlemlenmiştir.

İntestinal bir anastomozu uygulanan Bioglue'nun bakterileri bu mekanik etki ile lümen içine sınırlandırdığı ve böylece perianastomotik enflamasyonun azaldığı gösterilmiştir (104). Anastomoz hattına uygulanan PRP'ninde benzer özellik gösterdiği, anastomoz patlama basıncını ve histopatolojik olarak da iltihabi hücre infiltrasyonu, kan damarı, fibroblast ve kollojen gelişimini artırdığını gözledik.

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile, barsak anastomozu sonrası inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma gibi olaylarda rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokin cevapları ve lokal kan akımının yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri deneysel olarak gözlemledik. Anastomozu PRP uygulanmasının iyileşmeyi pozitif olarak etkilediğini, anastomoz güvenliğini artırdığını saptadık. PRP kolokolik anastomozlarda ayrılma riskini azaltmak amacıyla kullanılabileceği fikrindeyiz. Yapılacak klinik ve deneysel çalışmalar konuya daha fazla açıklık getirecektir.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda PRP grubunda kontrol ve Bioglue grubuna oranla, hem anastomoz patlama basıncının hem de doku hidrokspirolin düzeylerinin birbirleriyle uyumlu bir şekilde istatistiksel anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Bioglue grubunda ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anastomoz patlama basıncında ve hidrokspirolin düzeyindeki artma anlamsız olarak bulundu.

Elde ettiğimiz bu bulgular ışığında; PRP'nin içerdiği büyüme faktörleri, sitokinler ve anastomoz bölgesinde mikrosirkülasyonu artırarak, yara iyileşmesi ve doku maturasyonuna olumlu katkıda bulunduğunu kabul ettik.

PRP otolog olarak hazırlandığı için doku reaksiyonuna neden olmamakta ve tam olarak reabsorbe olmaktadır. Doku yapıştırıcılarının kolonik anastomozun kritik erken periyodunda sıvı ve gaz geçirmez bariyer oluşturduğu gözlenmiştir (104). Bu mekanik etki PRP 'nin anastomoza uygulanması esnasında da tarafımızdan gözlemlenmiştir. Ancak doku yapıştırıcılarıyla yapılan anastomozlarda, karın içinde yapışıklıklar oluşabilmektedir. PRP uyguladığımız deneklerde ise bu mahzuru gözlemlemedik.

Çalışmamızda; anastomozda PRP uygulanmasının iyileşmeyi pozitif olarak etkilediğini, güvenliğini artırdığını saptadık. PRP kolokolik anastomozlarda ayrılma riskini azaltmak amacıyla kullanılabilceği fikrindeyiz.

## 7. ÖZET

Bu çalışmada doku maturasyonu ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkisi olacağı düşünülen plateletten zengin plasmanın, deneysel olarak oluşturulmuş barsak anastomozuna etkisini araştırmak amaçlanmış ve doku yapıştırıcısı olarak kullanılan Bioglue ile karşılaştırılmıştır.

Bu amaçla; Her grupta 10 adet olacak şekilde ratlar 3 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba (Kontrol grubu) laparotomi ve kolokolik anastomoz yapılmıştır. İkinci gruba ( PRP grubu) laparotomi, kolokolik anastomoz ve anastomoz hattına plateletten zengin plasma uygulanmıştır. Üçüncü gruba (Bioglue grubu) laparotomi, kolokolik anastomoz ve anastomoz hattına Bioglue uygulanması işlemi yapılmıştır. Tüm ratlar post operatif 7. günde relaparotomiye alınmış, anastomoz kalitesini değerlendirmek için anastomoz patlama basıncı, anastomoz hattında hidroksprolin seviyesi kriter olarak alınmıştır.

Kontrol ve Bioglue grubuna göre anastomoz patlama basıncı ve doku hidroksprolin seviyesinin artması verilerine dayanarak, PRP'nin yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı kabul edilmiştir.

PRP'nin kolokolik anastomozlarda ayrılma riskini azaltmak amacıyla kullanılabileceği fikrindeyiz. Yapılacak klinik ve deneysel çalışmalar konuya daha fazla açıklık getirecektir.

## 8. KAYNAKLAR

1. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg Clin North Am. 1997 Jun; 77(3): 549-73.
2. Fielding LP, Stewart-Brown S, Blesovsky L, Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. Br Med J. 1980 Aug 9; 281(6237): 411-4.
3. Cohen IK, Diegelriann RF, Crossland MC. Wound care and wound healing: Principles of surgery. Sixth edition. Schwartz SI (editor-in-chief) New York 1994, P.279-303.
4. Schaffer M, Beiter T, Becker HD, Hunt TK. Neuropeptides: mediators of inflammation and tissue repair? Arch Surg. 1998 Oct; 133(10): 1107-16.
5. Kjartansson J, Lundeberg T, Samuelson UE, Dalsgaard CJ, Heden P. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) increase cutaneous blood flow in a musculocutaneous flap in the rat. Acta Physiol Scand Sep; 134(1): 89-94, 1988.
6. Cömert M, Taneri F, Tekin E, Ersoy E, Öktemer S, Onuk E, Düzgün E, Ayanoglu F. The effect of pentoxifylline on the healing of intestinal anastomoses in rats with Experimental Obstructive jaundice. Surg. Today 30: 896-902, 2000.
7. Maria B, Barbul W, Barbul A. General principles of Wound healing. Surg Clin North Am June 77:509-527, 1997.
8. Ishimura K, Taijiro T, Keiichi O, Takashi M, et al. Wound healing of intestinal anastomosis after digestive surgery under septic condition: participation of local interleukin-6 expression. World J. Surg. 22, 1069-1076, 1998.
9. Engin A. Genel cerrahi tanı ve tedavi ilkeleri, Ankara 2000, s:131-144.
10. Wahl LM, Wahl SM. İnflamation. in wound healing, biochemical and clinical aspect. Philadelphia, WB Saunders, 1992, p 40.
11. Fukai F, Suzuki H, Suzuki K, Tsugita A, Katayama T. Rat plasma fibronectin contains two distinct chemotactic domains for fibroblastic cells. J Biol Chem. 1991, May 15; 266(14): 8807-13.
12. Tonnesen MG, Smedly LA, Henson PM. Neutrophil-endothelial cell interactions. Modulation of neutrophil adhesiveness induced by complement fragments C5a and C5a

- des arg and formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine in vitro. *J Clin Invest.* 1984 Nov; 74(5): 1581-92.
13. Pohlman TH, Stanness KA, Beatty PG, Ochs HD, Harlan JM. An endothelial cell surface factors induced in vitro by lipopolysaccharide, interleukin 1, and tumor necrosis factor-alpha increases neutrophil adherence by a CDw18-dependent mechanism. *J Immunol.* 1986 Jun 15; 136(12): 4548-53.
14. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol.* 1975 Jan; 78(1): 71-100.
15. Beezhold DH, Personius C. Fibronectin fragments stimulate tumor necrosis factor secretion by human monocytes. *J Leukoc Biol.* 1992 Jan; 51(1): 59-64.
16. Browder W, Williams D, Lucore P, Pretus H, Jones E, McNamee R. Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. *Surgery.* 1988 Aug; 104(2): 224-30.
17. Polverini PJ, Cotran PS, Gimbrone MA Jr, Unanue ER. Activated macrophages induce vascular proliferation. *Nature.* 1977 Oct; 269(5631): 804-6
18. Heppleston AG, Styles JA. Activity of a macrophage factor in collagen formation by silica. *Nature.* 1967 Apr 29; 214(87): 521-2.
19. Buchmuller-Rouiller Y, Mael J. Macrophage activation for intracellular killing as induced by calcium ionophore. Correlation with biologic and biochemical events. *J Immunol.* 1991 Jan 1; 146(1): 217-23.
20. Albina JE, Henry WL Jr, Mastrofrancesco B, Martin BA, Reichner JS. Macrophage activation by culture in an anoxic environment. *J Immunol.* 1995 Nov 1; 155(9): 4391-6.
21. Regan MC, Kirk SJ, Wasserkrug HL, Barbul A. The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype. *J Surg Res.* 1991 May; 50(5): 442-8.
22. Bulgrin JP, Shabani M, Chakravarthy D, et al: Nitric oxide synthesis is suppressed in steroid- impaired and diabetic wound healing. *Wounds* 7:48,1995
23. Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. 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 Jul; 122(1): 103-11.
24. Kurkinen M, Vaheri A, Roberts PJ, Stenman S. Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest.* 1980 Jul; 43(1): 47-51

25. Murphy G. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Acta Orthop Scand Suppl.* 1995 Oct; 266: 55-60
26. Ma C, Tarnuzzer RW, Chegini N. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in mesothelial cells and their regulation by transforming growth factor-beta1. *Wound Repair Regen.* 1999 Nov-Dec; 7(6): 477-85.
27. Varga J, Yufit T, Brown RR. Inhibition of collagenase and stromelysin gene expression by interferon-gamma in human dermal fibroblasts is mediated in part via induction of tryptophan degradation. *J Clin Invest.* 1995 Jul; 96(1): 475-81.
28. Clark RA. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. *Am J Med Sci.* 1993 Jul; 306(1): 42-8.
29. Ezoe K, Horikoshi T. Tumor necrosis factor-alpha increased the integrin alpha 2 beta 1 expression and cell attachment to type I collagen in human dermal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993 Apr 15; 192(1): 281-7
30. McGrath MH. Peptide growth factors and wound healing. *Clin Plast Surg.* 1990 Jul; 17(3): 421-32.
31. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg.* 1993 Jun; 165(6): 728-37.
32. Steenfos HH. Growth factors and wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1994 Jun; 28(2): 95-105.
33. Ford HR, Hoffman RA, Wing EJ, Magee DM, McIntyre L, Simmons RL. Characterization of wound cytokines in the sponge matrix model. *Arch Surg.* 1989 Dec; 124(12): 1422-8.
34. Erlich HB, Krummel TM. Regulation of wound healing from a connective tissue perspective. *Wound repair and regeneration* 4: 203, 1996.
35. Diaz A, Munoz E, Jonston R, et al: regulation of human dermal fibroblasts oc1 procollagen gene expression by TNF-a, IL-1p, and prostaglandin E2. *J Biol Chem* 268: 10364, 1993.
36. Tang Y, Han C, Wang X. Role of nitric oxide and prostaglandins in the potentiating effects of calcitonin gene-related peptide on lipopolysaccharide-induced interleukin-6 release from mouse peritoneal macrophages. *Immunology.* 1999 Feb; 96(2): 171-5.
37. Dvonch VM, Murphey RJ, Matsuoka J, Grotendorst GR. Changes in growth factor levels in human wound fluid. *Surgery.* 1992 Jul; 112(1): 18-23



38. Brew EC, Mitchell MB, Harken AH. Fibroblast growth factors in operative wound healing. *J Am Coll Surg*. 1995 Apr; 180(4): 499-504.
39. Laato M, Kahari VM, Niinikoski J, Vuorio E. Epidermal growth factor increases collagen production in granulation tissue by stimulation of fibroblast proliferation and not by activation of procollagen genes. *Biochem J*. 1987 Oct 15; 247(2): 385-8.
40. Graham MF, Diegelmann RF, Elson CO, Lindblad WJ, Gotschalk N, Gay S, Gay R. Collagen content and types in the intestinal strictures of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1988 Feb; 94(2): 257-65.
41. Goligher JC, Lee PW, Simpkins KC, Lintott DJ. A controlled comparison one- and two-layer techniques of suture for high and low colorectal anastomoses. *Br J Surg*. 1977 Sep; 64(9): 609-14.
42. Goligher JC, Graham NG, De Dombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg*. 1970 Feb; 57(2): 109-18.
43. Adams W, Ctercteko G, Bilous M. Effect of an omental wrap on the healing and vascularity of compromised intestinal anastomoses. *Dis Colon Rectum*. 1992 Aug; 35(8): 731-8.
44. Koyama SY, Podolsky DK. Differential expression of transforming growth factors alpha and beta in rat intestinal epithelial cells. *J Clin Invest*. 1989 May; 83(5): 1768-73.
45. Dignass AU, Podolsky DK. Cytokine modulation of intestinal epithelial cell restitution: central role of transforming growth factor beta. *Gastroenterology*. 1993 Nov; 105(5): 1323-32.
46. Goke M, Podolsky DK. Regulation of the mucosal epithelial barrier. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1996 Sep; 10(3): 393-405.
47. Dignass A, Lynch-Devaney K, Kindon H, Thim L, Podolsky DK. Trefoil peptides promote epithelial migration through a transforming growth factor beta-independent pathway. *J Clin Invest*. 1994 Jul; 94(1): 376-83.
48. Graham MF, Bryson GR, Diegelmann RF. Transforming growth factor beta 1 selectively augments collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology*. 1990 Aug; 99(2): 447-53.
49. Barone EJ, Yager DR, Pozez AL, Olutoye OO, Crossland MC, Diegelmann RF, Cohen IK. Interleukin-1alpha and collagenase activity are elevated in chronic wounds. *Plast Reconstr Surg*. 1998 Sep; 102(4): 1023-7; discussion 1028-9.

50. Quatra F, Colonna MR, Catalano A. The role of interleukin-1alpha and collagenase in chronic wounds. *Plast Reconstr Surg.* 1999 Sep; 104(4): 1205-6
51. Bettinger DA, Pellicane JV, Tarry WC, Yager DR, Diegelmann RF, Lee R, Cohen IK, DeMaria EJ. The role of inflammatory cytokines in wound healing: accelerated healing in endotoxin-resistant mice. *J Trauma.* 1994 Jun; 36(6): 810-3; discussion 813-4.
52. Graham MF, Willey A, Adams J, Yager D, Diegelmann RF. Interleukin 1 beta down-regulates collagen and augments collagenase expression in human intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology.* 1996 Feb; 110(2): 344-50.
53. West-Mays JA, Cook JR, Sadow PM, Mullady DK, Bargagna-Mohan P, Strissel KJ, Fini ME. Differential inhibition of collagenase and interleukin-1alpha gene expression in cultured corneal fibroblasts by TGF-beta, dexamethasone, and retinoic acid. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999 Apr; 40(5): 887-96.
54. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet.* 1968 Apr; 126(4): 747-53.
55. Graham MF, Drucker DE, Diegelmann RF, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. *Gastroenterology.* 1987 Feb; 92(2): 400-5.
56. Martens MF, Huyben CM, Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. *Gut.* 1992 Dec; 33(12): 1664-70.
57. Martens MF, Hendriks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut.* 1991 Dec; 32(12): 1482-7.
58. Mast BA. Healing in other tissues. *Surg Clin North Am.* 1997 Jun; 77(3): 529-47.
59. Schrock T, Cerra F, Hawley PR, Hunt TK, Nichols RL, Samson RB. Wounds and wound healing. *Dis Colon Rectum.* 1982 Jan-Feb; 25(1): 1-15.
60. Hogstrom H, Haglund U, Zederfeldt B. Tension leads to increased neutrophil accumulation and decreased laparotomy wound strength. *Surgery.* 1990 Feb; 107(2): 215-9.
61. Foster ME, Laycock JR, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1985 Oct; 72(10): 831-4.

62. Yasue N, Guth PH. Role of exogenous acid and retransfusion in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology*. 1988 May; 94(5 Pt 1): 1135-43.
63. Carrico TJ, Mehrhof AI Jr, Cohen IK. Biology of wound healing. *Surg Clin North Am*. 1984 Aug; 64(4): 721-33.
64. Oğuz M. Genel cerrahi tanı ve tedavi ilkeleri. Ankara 2000, s:131-144.
65. Foster RS Jr, Costanza MC, Foster JC, Wanner MC, Foster CB. Adverse relationship between blood transfusions and survival after colectomy for colon cancer. *Cancer*. 1985 Mar 15; 55(6): 1195-201.
66. Foster RS Jr. Blood transfusions for surgical cancer patients: more harm than good? *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1987 Oct; 23(10): 1435-7.
67. Efron JE, Frankel HL, Lazarou SA, Wasserkrug HL, Barbul A. Wound healing and T-lymphocytes. *J Surg Res*. 1990 May; 48(5): 460-3.
68. Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE. Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg*. 1973 May; 177(5): 513-8.
69. Tadros T, Wobbes T, Hendriks T. Blood transfusion impairs the healing of experimental intestinal anastomoses. *Ann Surg*. 1992 Mar; 215(3): 276-81.
70. Kaplan J, Sarnaik S, Gitlin J, Lusher J. Diminished helper/suppressor lymphocyte ratios and natural killer activity in recipients of repeated blood transfusions. *Blood*. 1984 Jul; 64(1): 308-10.
71. Getzen LC. Clinical use of everted intestinal anastomoses. *Surg Gynecol Obstet*. 1966 Nov; 123(5): 1027-36.
72. Cummings BJ. Effect of preoperative irradiation on the healing of colorectal anastomoses. *Am J Surg*. 1985 May; 149(5): 695-7
73. Morgenstern L, Sanders G, Wahlstrom E, Yadegar J, Amodeo P. Effect of preoperative irradiation on healing of low colorectal anastomoses. *Am J Surg*. 1984 Feb; 147(2): 246-9.
74. Christensen H, Oxlund H, Laurberg S. Postoperative biosynthetic human growth hormone increases the strength and collagen deposition of experimental colonic anastomoses. *Int J Colorectal Dis*. 1991 Aug; 6(3): 133-8.
75. Irvin TT, Hunt TK. Pathogenesis and prevention of disruption of colonic anastomoses in traumatized rats. *Br J Surg*. 1974 Jun; 61(6): 437-9.

76. Hesp FL, Hendriks T, Lubbers EJ, de Boer HH. Wound healing in the intestinal wall. Effects of infection on experimental ileal and colonic anastomoses. *Dis Colon Rectum*. 1984 Jul; 27(7): 462-7.
77. Goligher JC, Graham NG, De Dombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg*. 1970 Feb; 57(2): 109-18.
78. Hendriks T, Walter J, Mastboom B. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum*. 1990 Oct; 33(10): 891-901.
79. Phillips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW, Zeng H, Dindar H. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg*. 1992 Jan; 163(1): 71-7.
80. Brennan SS, Foster ME, Morgan A, Leaper DJ. Prostaglandins in colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum*. 1984 Nov; 27(11): 723-5
81. de Oliveira PG, Soares EG, Aprilli F. Influence of misoprostol, a synthetic prostaglandin E1 analog, on the healing of colonic anastomoses in rats. *Dis Colon Rectum*. 1994 Jul; 37(7): 660-3.
82. Graham MF, Diegelmann RF, Elson CO, Lindblad WJ, Gotschalk N, Gay S, Gay R. Collagen content and types in the intestinal strictures of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1988 Feb; 94(2): 257-65.
83. Wahl SM, Hunt DA, Wakefield LM, McCartney-Francis N, Wahl LM, Roberts AB, Sporn MB. Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987 Aug; 84(16): 5788-92.
84. Mustoe TA, Landes A, Cromack DT, Mistry D, Griffin A, Deuel TF, Pierce GF. Differential acceleration of healing of surgical incisions in the rabbit gastrointestinal tract by platelet-derived growth factor and transforming growth factor, type beta. *Surgery*. 1990 Aug; 108(2): 324-9; discussion 329-30.
85. Slavin J, Nash JR, Kingsnorth AN. Effect of transforming growth factor beta and basic fibroblast growth factor on steroid-impaired healing intestinal wounds. *Br J Surg*. 1992 Jan; 79(1): 69-72.
86. Christensen H, Oxlund H. Growth hormone increases the collagen deposition rate and breaking strength of left colonic anastomoses in rats. *Surgery*. 1994 Sep; 116(3): 550-6.
87. Roediger WE. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*. 1980 Sep; 21(9): 793-8.

88. 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 Apr; 82(4): 461-4.
89. Ward MW, Danzi M, Lewin MR, Rennie MJ, Clark CG. The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1982 Jun; 69(6): 308-10.
90. Graham MF, Willey A, Adams J, Yager D, Diegelmann RF. Role of ascorbic acid in procollagen expression and secretion by human intestinal smooth muscle cells. *J Cell Physiol.* 1995 Feb; 162(2): 225-33.
91. LeVeen HH, Wapnick S, Falk G, Olivas O, Bhat D, Gaudre M, Patel M. Effects of prophylactic antibiotics on colonic healing. *Am J Surg.* 1976 Jan; 131(1): 47-53.
92. Ahrendt GM, Gardner K, Barbul A. Loss of colonic structural collagen impairs healing during intra-abdominal sepsis. *Arch Surg.* 1994 Nov; 129(11): 1179-83.
93. Ahrendt GM, Tantry US, Barbul A. Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg.* 1996 Jan; 171(1): 102-7; discussion 107-8.
94. Bucknall TE. The effect of local infection upon wound healing: an experimental study. *Br J Surg.* 1980 Dec; 67(12): 851-5.
95. Wang F, Millet I, Bottomly K, Vignery A. Calcitonin gene-related peptide inhibits interleukin 2 production by murine T lymphocytes. *J Biol Chem.* 1992 Oct 15; 267(29): 21052-7.
96. Brain SD. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology.* 1997 Oct; 37(2-3): 133-52.
97. Mitsuhashi M, Payan DG. The mitogenic effects of vasoactive neuropeptides on cultured smooth muscle cell lines. *Life Sci.* 1987 Mar 2; 40(9): 853-61.
98. Poyner DR. Calcitonin gene-related peptide: multiple actions, multiple receptors. *Pharmacol Ther.* 1992; 56(1): 23-51.
99. Rolandelli RH, Koruda MJ, Settle RG, Rombeau JL. Effects of intraluminal infusion of short-chain fatty acids on the healing of colonic anastomosis in the rat. *Surgery.* 1986 Aug; 100(2): 198-204.
100. Tekin F, Ersoy E, Kantarcı S. Hemostaz ve Kan Transfüzyonu. Ankara; 2000; 86-88
101. Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE. Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg.* 1973 May; 177(5): 513-8.

102. Rousselot L, Slattery JR. Immediate complications of surgery of the large intestine. *Surg Clin North Am.* 1964 Apr; 44: 397-410.
103. Carrico TJ, Mehrhof Al Jr, Cohen IK. Biology of wound healing. *Surg Clin North Am.* 1984 Aug; 64(4): 721-33.
104. Rots WI, Mokoena T. Successful endoscopic closure of a benign gastrocolonic fistula using human fibrin sealant through gastroscopic approach: a case report and review of the literature. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003 Dec; 15(12): 1351-6.
105. Tischler M. Platelet rich plasma. The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts. *N Y State Dent J.* 2002 Mar; 68(3): 22-4.
106. Laato M. The effect of epidermal growth factor on granulation tissue formation in the rat. *Acta Chir Scand Suppl.* 1988; 546: 1-44.
107. Hirata K, Konishi T, Ueda Y, Kurosaki S, Tomisaki I, Nasu K, Mitsuhashi K, Miyauchi D, Yamaguchi M, Itoh H. Healing in the intestinal anastomosis--comparison of the Albert-Lembert and Gambee methods. *J UOEH.* 2000 Mar 1; 22(1): 1-6.