

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

**CİLOSTAZOL'UN DENEYSEL İSKEMİK SOL KOLON
ANASTOMOZ MODELİNDE İYİLEŞMEYE ETKİSİ**

Dr. Metin VARLI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK**

**ZONGULDAK
2014**

TEZ ONAY TUTANAĞI

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

Tez Başlığı : Cilostazolun Deneysel İskemik Sol Kalın Anastomoz Modelinde İyileşmeye Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Metin VARLI

Tez Savunma Tarihi: 16/05/2014

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK

Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Ali Uğur EMRE
Üye

Prof. Dr. Öge TAŞÇILAR
Üye

UYGUNDUR
24/07/2014

Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Üye



ÖNSÖZ

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimim süresince, eğitimimde büyük katkı ve emekleri olan, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm sayın hocalarım; Prof. Dr. Mustafa Cömert, Doç. Dr. Öge Taşçılar, Doç. Dr. Hamdi Bülent Uçan, Doç. Dr. Ali Uğur Emre, Doç. Dr. Kemal Karakaya, Doç. Dr. Fatma Ayça Gültekin ve tıp eğitimimin temellerini aldığım İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'ndeki hocalarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren bana her konuda destek olmuş, yardımlarını esirgememiş, cerrahinin tüm sırlarını benimle paylaşmaktan çekinmeyen özel ve güzel insan, değerli hocam Doç. Dr. Güldeniz Karadeniz Çakmak'a sevgi ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hazırlanmasındaki desteklerinden ötürü Patoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Nilüfer ONAK KANDEMİR, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nden Doç. Dr. Ümmühani ÖZEL TÜRKCÜ ve Biyoistatistik Anabilim Dalından Öğr. Gör. Füzünan KÖKTÜRK'e şükranlarımı sunarım.

Ayrıca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Op. Dr. Sait TAYFUN, Op. Dr. İlhan Taşdöven, Op. Dr. Ufuk TALİ, Op. Dr. Onur MERDİVAN, Op. Dr. Demet SÜMER Op. Dr. Murat YÜLÜKLÜ, Op. Dr. Muzaffer Önder Öner, Op. Dr. Hüseyin Bayrak, Dr. Serap Çağlayan Çabalak, Op. Dr. Erkan Aksoy, Dr. Selçuk Özkan, Dr. Ali Gençoğlu, Dr. Eren Görkem GÜN, Dr. Kemal KANTARCI ile genel cerrahi yoğun bakım, ameliyathane ve servis hemşire ve personeline asistanlığım süresince göstermiş oldukları anlayış ve hoşgörülerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim değerli ailem; annem Makbule VARLI, babam Mehmet VARLI, ağabeylerim; Askeri VARLI, M. ZEKERİYA VARLI, Nuri VARLI, Dr. Fahrettin VARLI, ablalarım; Yüksel GÜLLER, Kevser ALPBOĞA, Aysel POLAT, Birsal GÜLDALI ve biricik kardeşim Muazzez VARLI'ya sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Hayat arkadaşım, can yoldaşım, öbür yanım şaziye KOYUNLU VARLI ve en büyük hazinem, meleğim Irmak VARLI; her şey için çok teşekkürler.

Dr. Metin VARLI

Zonguldak, 2014

ÖZET

Metin VARLI "Silostazol'un ratlarda deneysel iskemik sol kolonik anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi" Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel cerrahi, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2014.

Giriş-Amaç: Gastrointestinal sistem cerrahisinde anastomoz ile ilişkili komplikasyonlar oldukça kötü sonuçlar doğurmaktadır. Günümüze dek geliştirilmiş cerrahi, medikal ve teknik ilerlemelere karşın anastomoz kaçığının yüksek mortalite ve morbidite oranları araştırmacıları iyileşmeyi olumlu etkileyebilecek ajanlar üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir. İskemi iyileşmeyi olumsuz yönde etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Fosfodiesteraz inhibitörleri siklik AMP ve siklik GMP gibi hücre içi ikincil habercilerin inaktivasyonunu önleyen ve ilk olarak rat beyinde keşfedilmiş ajanlardır. Silostazol selektif fosfodiesteraz 3 inhibitörü olup periferik vasküler hastalıkta intermittan kladikasyo tedavisinde kullanılmaktadır. Temel etkisi arterlerde dilatasyon yaparak kan akımını arttırmak ve trombosit agregasyonunu baskılayarak koagülasyonu önlemek şeklindedir. Bu noktadan hareketle silostazolun anastomozlarda primer kaçık nedeni olarak görülen iskeminin negatif etkilerini ortadan kaldıracılabileceği hipotezini oluşturduk.

Çalışmamızın amacı oral Silostazol uygulamasının iskemi oluşturulmuş sol kolon anastomoz modelinde iyileşmeye olan etkisinin incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem: Otuz iki adet erkek Wistar albino cinsi rat randomize olarak, her biri 8'er denekten oluşan dört grup oluşturuldu. Deneklere normal ve iskemik sol kolon anastomozu uygulandı. Deney grubuna oragastrik yöntemle 10 mg/kg/gün dozunda silostazol verildi. Anastomoz iyileşmesi ameliyat sonrası 4. günde, patlama basıncı, doku hidroksprolin düzeyi, histopatolojik parametreler ve biyokimyasal analiz kullanılarak değerlendirildi.

Gruplar: Otuz iki adet rat randomize şekilde 4 gruba ayrıldı.

GRUP A: Standart anastomoz

GRUP B : Standart anastomoz+silostazol

GRUP C: İskemik anastomoz

GRUP D: İskemik anastomoz+silostazol

Bulgular: Silostazol uygulamasının 4. günde iskemi oluşturulmuş ve oluşturulmamış ortamlarda patlama basınçları ve doku hidroksiprolin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artışa yol açtığı görüldü ($p<0.05$). Histopatolojik incelemede iskemik anastomoz uygulanan silostazol almış grupta inflamasyon ve mukozal iskemi skoru anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Silostazol uygulanan normal anastomozlu grupta inflamasyon ve nötrofil oranı anlamlı düzeyde düşük bulunurken, iskemik anastomoz uygulanan grupta ise inflamasyon, nötrofil oranı ve mukozal iskemi skoru anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0.05$). Silostazol uygulanan gruplar kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında süper oksit dismutaz düzeyleri anlamlı yüksek, malondialdehid miktarları ise anlamlı olarak düşük bulundu.

Sonuç: Deneysel iskemik kolon anastomozu modelinde silostazol uygulamasının patlama basınçları, hidroksiprolin düzeyleri, biyokimyasal ve histopatolojik parametrelere olumlu etki yaparak anastomoz iyileşmesini arttırdığı görülmüştür. Doza bağlı değişikliklerin incelenebilmesi, iskemi etkisini azaltan doku koruyucu etki mekanizmasının ortaya konabilmesi ve neovaskularizasyon, inflamasyon, kollajen metabolizması ve iyileşmenin potent hücreleri üzerinde oluşturduğu olumlu etkiye neden olan hücresel olayların aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Kolon Anastomozu, Silostazol, Hidroksiprolin.

ABSTRACT

Metin Varlı “The effect of cilostazol on anastomotic healing in an experimental model of left colonic ischemia.” Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, General Surgery, Dissertation, Zonguldak 2014

Introduction and aim: There are resulted in rather with anastomosis related complications at gastrointestinal surgery. Until recently improved surgical, medical and technical progress, the high mortality and morbidity rates of anastomotic leakage researchers able to positively affect healing agents has led to work on. Ischemia is one of the most important factors affecting negatively on healing. Phosphodiesterase inhibitors are agents such as cyclic AMP and cyclic GMP prevent inactivation of an intracellular second Messenger and which was first discovered in rat brain. Cilostazol, a selective phosphodiesterase3 (PDE 3) inhibitor, is currently used in the treatment of peripheral vascular disease intermittent claudication. The main affect form is to increase blood flow by dilatation of arteries and to prevent coagulation by inhibiting platelet aggregation. From this point forth, we have created hypothesis that cilostazol, eliminates seen as the primary cause of the anastomotic leakage, in the negative effects of ischemia.

The aim of our study, oral administration of cilostazol ischemia in the left colon anastomosis healing was to examine the effects.

Materials and Methods: Thirty-two male Wistar albino rats were randomized to four groups of subjects each with 8 was created. Normal and ischemic left colon anastomosis was performed to subjects. Cilostazol was given to experimental group on 10 mg / kg / day with orogastric manner. 4 days after surgery anastomotic healing, bursting pressures, tissue hydroxyproline levels, histopathological and biochemical parameters were evaluated using analysis.

Groups: Thirty-two rats were randomized into 4 groups.

GROUP A: Standard anastomosis

GROUP B: Standard anastomosis + cilostazol

GROUP C: Ischemic anastomosis

GROUP D: Ischemic anastomosis + cilostazol

Results: Cilostazol administration, on day 4 was formed ischemia and was not formed ischemia environments, bursting pressures and tissue hydroxyproline levels were found to cause a statistically significant increase ($p < 0.05$). Histopathological examination of ischemic anastomosis cilostazol in the group, inflammation and mucosal ischemia score was significantly lower ($p < 0.05$). Cilostazol applied normal lumen group of patients, inflammation and neutrophil ratio significantly lower in ischemic anastomosis in group inflammation, neutrophil ratio, and mucosal ischemia score significantly lower ($p < 0.05$). Applied cilostazol group, compared with the control group, significantly higher levels of super oxide dismutase, malondialdehyde, significantly lower than the amount found.

Conclusion: Cilostazol in experimental models of ischemic colonic anastomosis application; bursting pressure, hydroxyproline levels, biochemical and histopathological to parameterize a positive effect has been shown to improve anastomotic healing. Dose-dependent changes can be examined, ischemia for suppressing tissue protective mechanism of action can be established and neovascularization, inflammation, metabolism of collagen and healing potent cells formed on the positive effect that causes the cellular event to clarify further studies are needed.

Keywords: Colon Anastomosis, Cilostazol, Hydroxyproline

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGRELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİL DİZİNİ	xiii
RESİM DİZİNİ	xiv
TABLO DİZİNİ	xv
GRAFİK DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Kalın Barsak Embriyolojisi	2
2.3. Kolon Anatomisi	3
2.4. Yara İyileşmesi	6
2.4.1. Hemostaz fazı	7
2.4.2. Enflamasyon fazı	8
2.4.3. Proliferasyon fazı	8
2.4.4. Remodelling fazı (Maturasyon Fazı)	8
2.4.5. Lokal faktörler	9
2.4.6. Sistemik faktörler	9
2.5. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi	10
2.5.1. Anastomoz iyileşmesi	12
2.5.2. Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler	13
2.6. Kolonda Anastomoz İyileşmesinin Değerlendirilmesi	16
2.6.1. Mekanik değerlendirme yöntemleri	17
2.6.2. Biyokimyasal yöntemler	17
2.6.3. Histolojik değerlendirme yöntemleri	17
2.6.4. Diğer Yöntemler	18

3. SİLOSTAZOL	19
3.1. Farmakolojik Özellikleri	20
3.1.1. Farmakodinamik özellikler	20
3.1.2. Farmakokinetik özellikler	20
3.2. Endikasyonları.....	20
4. YÖNTEM VE GEREÇ	21
4.1. Gruplar	21
4.2. Cerrahi işlem	23
4.3. Sakrifikasyon	25
4.4. Patlama Basıncı Ölçümü	25
4.5. Biyokimyasal İncelemeler.....	26
4.5.1. Doku hidroksiprolin düzeylerinin ölçümü	26
4.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini.....	27
4.5.3. AOPP düzeylerinin tayini.....	27
4.5.4. Serum TNF- α düzeylerinin ölçümü.....	27
4.5.5. Doku miyeloperoksidaz aktivitesinin ölçümü.....	27
4.5.6. Protein Tayini	28
4.6. Histopatolojik Değerlendirme	28
4.7. İstatistiksel İnceleme.....	28
5. BULGULAR.....	30
5.1. Anastomoz Patlama Basıncı Değerleri	30
5.2. Doku Hidroksiprolin Düzeyleri ($\mu\text{g}/\text{mg}$ doku)	32
5.3. SOD (U/mg protein).....	34
5.4. MPO (U/ gr doku)	35
5.5. Histopatolojik İnceleme	37
5.5.1. Fibroblast maturasyonu	42
5.5.2. Kollajen depozisyonu.....	43
5.5.3. Neoanjiyogenezis	44
5.5.4. Adezyon	45
6.TARTIŞMA	46
7. SONUÇ	49
8. KAYNAKLAR	50

9. EKLER.....	60
Ek 1. Etik Kurul Onayı.....	60

SİMGRELER VE KISALTMALAR

IL-1	: İnterleukin 1
Mmol	: Mikromol
ml	: Mililitre
NO	: Nitrik oksit
O ₂	: Oksijen
GİS	: Gastrointestinal sistem
SMA	: Süperior mezenterik arter
İMA	: İnterior mezenterik arter
İKA	: İleokolik arter
OKA	: Orta kolik arter
SA	: Sigmoid arter
SRA	: Süperior rektal arter
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa
PDGF	: Trombosit kökenli büyüme faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
TGF	: Dönüştürücü büyüme faktörü
İGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
(e)NOS	: Nitrik oksit sentaz
COX-2	: Siklooksijenaz-2
EK	: Ekstrasellüler protein kinaz
MMP	: Matriks metalloproteinaz
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
ADP	: Adenozindifosfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
MPO	: Doku Miyeloperoksidaz aktivitesi

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. Kolonun bölümleri.....	3
Şekil 2. Sıçanda kalın barsak anatomisi	4
Şekil 3. SMA: Superior mezenterik arter, İMA: İnferior mezenterik arter, İKA: İleokolik arter, SağKA: Sağ kolik arter, OKA: Orta kolik arter, SolKA: Sol kolik arter, SA: Sigmoid arterler, SRA: Superior rektal arter.	5
Şekil 4. Yara iyileşmesinin dönemleri fizyopatolojisi	7
Şekil 5. 6 - [4 - (1-cyclohexyl-1 <i>H</i> -tetrazol-5-yl) butoxy] - 3,4 – dihydro – 2 (1 <i>H</i>) - quinolinone.....	19

RESİM DİZİNİ

Sayfa

Resim 1. Sıçanın viseral anatomisi	4
Resim 2. Gastrik gavaj uygulaması.....	22
Resim 3. Anestezi altındaki denek.....	22
Resim 4. İskemi oluşturulan denek.....	23
Resim 5. İskemik anastomoz hattı.....	24
Resim 6 Anastomoz hattı.....	24
Resim 7. Patlama basıncı ölçülmesi.....	26
Resim 8. Grup A (Standart anastomoz) olgularına ait mikrofotografda iltihabi granülasyon dokusunda yoğun akut inflamasyon izlenmekle birlikte neo-vaskülarizasyonun yetersiz olduğu dikkati çekmektedir (Hematoksilen-Eozin, x200).....	40
Resim 9. GRUP B (Standart anastomoz + Silostazol) olgularına ait mikrofotografda yüzeyde inkomplet epitelizasyon, stromada ise orta derecede mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu görülmektedir. Subepitelyal alanda fibroblast maturasyonu ve ekstrasellüler kollajen birikimi dikkati çekmektedir (Hematoksilen-Eozin, x100).....	40
Resim 10. GRUP C: (İskemik anastomoz) olgularına ait mikrofotografda anastomoz hattında epitelizasyonun olmadığı dikkat çekmektedir. Defekt alanında yoğun akut inflamasyon içeren derin ülser krateri izlenmektedir (Hematoksilen-Eozin, x50).....	41
Resim 11. GRUP D: (İskemik anastomoz + Silostazol) olgularına ait mikrofotografda orta derecede kronik tipte inflamasyon yanı sıra çok sayıda yeni gelişmiş damar yapıları izlenmektedir (Hematoksilen-Eozin, x200).....	41

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler(17, 21,41).....	10
Tablo 2. Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler.	15
Tablo 3. Ehrlich-Hunt sayısal skalası (95).	28
Tablo 4. Anastomoz sonrası 4. gündeki patlama basıncı değerleri ve standart sapmaları	30
Tablo 5. Anastomoz sonrası 4. gündeki doku hidrokspirolin değerleri ve standart sapmaları	32
Tablo 6. Anastomoz sonrası 4. gündeki doku SOD değerleri ve standart sapmaları.34	
Tablo 7. Anastomoz sonrası 4. gündeki doku MPO değerleri ve standart sapmaları.	36
Tablo 8. Standart anastomoz yapılan grup ile standart anastomoz yapıp silostazol verilen grubun histopatolojik olarak istatistiksel verileri.	38
Tablo 9. İskemik anastomoz yapılan grup ile İskemik anastomoz yapıp silostazol verilen grubun histopatolojik olarak istatistiksel verileri.	39

GRAFİK DİZİNİ

Sayfa

- Grafik 1.** Gruplar Patlama basıncı bakımından değerlendirildi; iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). GRUP B (Standart anastomoz + Silostazol) grubunun değeri Grup A (Standart anastomoz) gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu..... 31
- Grafik 2.** Grup C ve D' ye göre anastomoz patlama basınç değerlerinin dağılımı... 31
- Grafik 3.** Grup A ve B' ye göre doku hidrokspirolin düzeyi değerlerinin dağılımı. 33
- Grafik 4.** Grup C ve D' ye göre doku hidrokspirolin düzeyi değerlerinin dağılımı Hidrokspirolin bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). Grup D (iskemik anastomoz + Silostazol) grubunun değeri Grup C (iskemik anastomoz) gruba göre anlamlı anlamlı derecede yüksek bulundu. 33
- Grafik 5.** SOD bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.279$).. 34
- Grafik 6.** SOD bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.010$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu. 35
- Grafik 7.** MPO bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.028$). Grup B (standart anastomoz+silostazol) değeri Grup A (standart anastomoz)'ya göre anlamlı derecede düşük bulundu..... 36
- Grafik 8.** MPO bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.021$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede düşük bulundu. 37
- Grafik 9.** Fibroblast maturasyonu bakımından gruplar (GRUP A ve GRUP B) arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p= 0.234$)..... 42
- Grafik 10.** Fibroblast maturasyonu bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p= 0.038$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu. 42
- Grafik 11.** Kollajen depozitleri bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.021$). Grup B (standart anastomoz+silostazol) değeri

- Grup A (standart anastomoz)'ya göre anlamlı derecede yüksek bulundu. 43
- Grafik 12.** Kollajen depozitleri bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu (**p=0.015**). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu. 43
- Grafik 13.** Neoanjiyogenezis bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0.007) Grup B (standart anastomoz+silostazol) değeri Grup A (standart anastomoz)'ya göre anlamlı derecede yüksek bulundu. 44
- Grafik 14.** Neoanjiyogenezis bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı (p=0.279). 44
- Grafik 15.** Adezyon bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı (p=0.328). 45
- Grafik 16.** Adezyon bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu (p=0.010). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede düşük bulundu. 45

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Anastomoz kaçağı, komplikasyonlar içinde (fistül, kanama, anastomoz darlığı) en ciddi olanı, en sık görüleni ve mortalitesi en yüksek olanıdır.(3) Tüm GİS göz önüne alınırsa anastomoz kaçağı açısından en hassas bölge kolondur.(4.) Proksimalden distale gittikçe kaçak riski artar, ince barsak rezeksiyon-anastomoz sonrası kaçak riski %1 iken, kolon anastomozlarında sonra bu risk %16'ya yaklaşır. (9,10) Anastomoz iyileşmesini lokal ve sistemik birçok faktör etkileyebilmektedir. (26) Lokal faktörler: Kanlanma, anastomoz hattında gerginlik olmaması, doku uçlarının sağlıklı olması, bakteriyel kontaminasyon, anastomoz distalinde tıkanıklık, radyasyon, barsak hazırlığı ve antibiyotik kullanımı sayılabilir. (26) Sistemik faktörler: şok, sepsis, asidoz, hipovolemi, kan transfüzyonu, immun yetmezliği, habis hastalıklar, karaciğer yetmezliği, anemi, hipoksi olarak sıralanabilir. (26) Anastomoz iyileşmesini etkileyen diğer faktörler arasında; anastomoz hazırlığında kolonun kaba ve fazla immobilizasyonu, hemostazda gereksiz koter kullanımı, kolon içeriğinin bulaşmasını engellemek için klemlerin uzun süreli ve fazla sıkı tutulması, çok sık aralıklı sütürler ve staplerler anastomozu besleyen damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemi oluşur.(12,45)

Silostazol hücre içi cAMP seviyelerini tip 3 fosfodiesterazı inhibe ederek artırır (62). Hücre içi cAMP'deki artış silostazolun antitrombosit ve vazodilatatör özelliklerinin kaynağıdır.(64) Silostazol artan cAMP seviyeleri ile bağlantılı olarak endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) fosforilasyonunu artırır ve insan aortik endotel hücrelerinde, endotel tüp oluşumunu artırır.(61) Silostazol kladikasyo tedavisinde kullanılan bir fosfodiesteraz tip III inhibitörüdür.(63) Biz bu çalışmamızda; silostazol'un ratlarda deneysel iskemik sol kolon anastomoz iyileşmesi üzerine etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

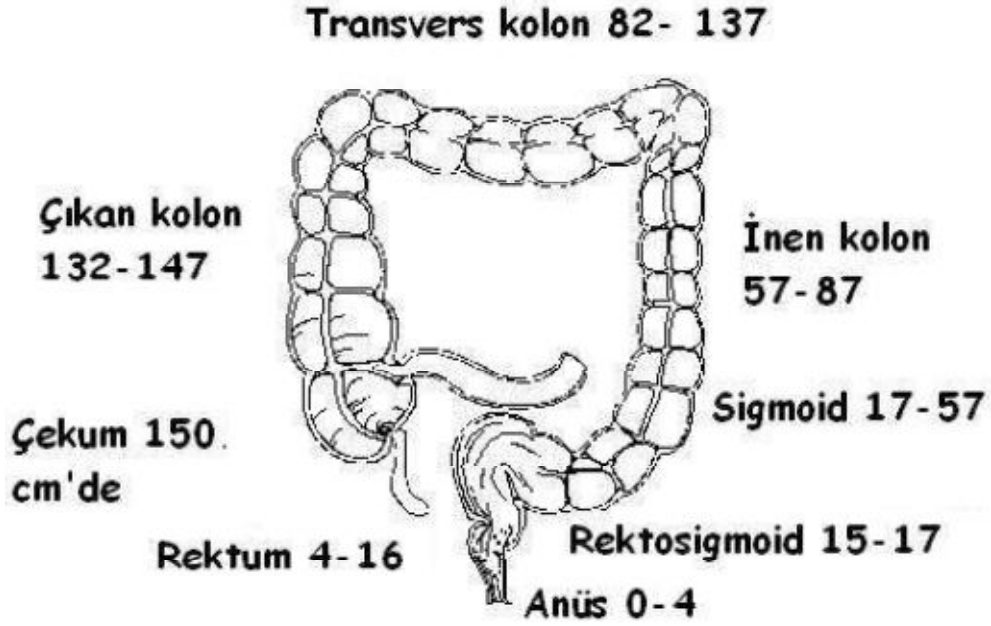
1710 yılında, Littré ilk başarılı kolon cerrahisini gerçekleştirmiştir. Kolon rezeksiyonunu ise 1832 yılında Kaybord yapmıştır (1). Hartmann; 1923 yılında tıkanmaya neden olmuş distal kolon kanserinde; Hartmann operasyonunu tanımlamıştır (2).

Anastomoz kaçağı, komplikasyonlar içinde (fistül, kanama, anastomoz darlığı) en ciddi olanı, en sık görüleni ve mortalitesi en yüksek olanıdır (3). Tüm GİS göz önüne alınırsa anastomoz kaçağı açısından en hassas bölge kolondur.(4.) Proksimalden distale gittikçe kaçak riski artar, ince barsak rezeksiyon-anastomoz sonrası kaçak riski %1 iken, kolon anastomozlarında sonra bu risk %16'ya yaklaşır. (9,10) Anastomoz iyileşmesinde dokunun vaskülarizasyonu ve oksijenizasyonu primer faktörlerdendir (6, 8). Anastomoz kaçağını azaltmak için, doku kanlanmasının iyi olması, enfeksiyonun önlenmesi, radyasyon öyküsünün olmaması önem arz eder. Bunun yanında anastomoz hattında gerilim olmaması, malnütrisyon, iskemi, acil ameliyat gibi birçok faktör anastomoz iyileşmesine etki eder (11-16).

2.2. Kalın Barsak Embriyolojisi

Sindirim sistemde epitelyum endodermden, kas ve periton içerikleri mezodermden köken alır. Kalın barsağın daha proksimal kısmını oluşturan çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun yarısı orta barsaktan (midgut); transvers kolon son yarısı, inen kolon, sigmoid, rektum ve anüs alt barsaktan (hindgut) köken alır (5).

2.3. Kolon Anatomisi



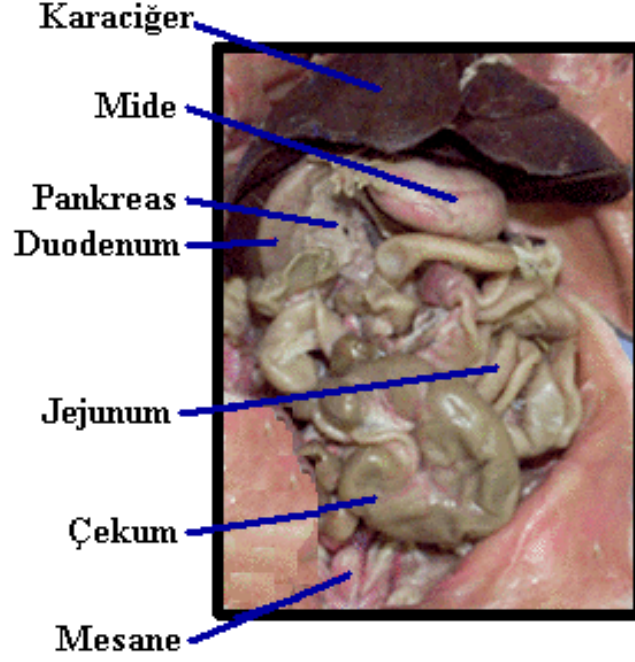
Şekil 1. Kolonun bölümleri.

Şekil 1’de de görüldüğü gibi tüm kalın barsak çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid ve rektumdan oluşur. Yetişkinde uzunluğu 120-200 cm arasında olup ileoçekal valften anüse kadar uzanır.

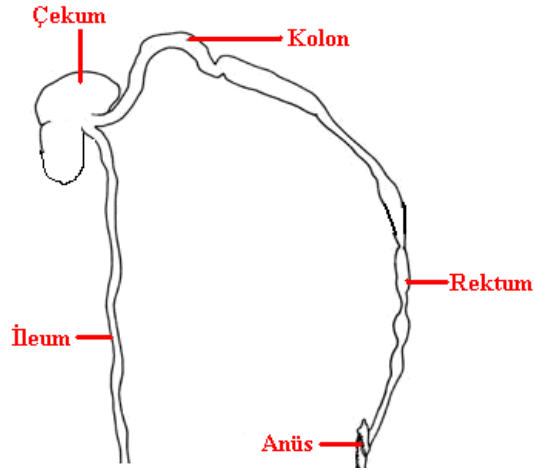
Kolon enine kesintinde en dışta longitüdinale kas tabakası bulunur. Kolon tenyaları bu kas liflerinin birleşmesi ile oluşur. 5-6 mm genişliğe sahip tenyalar rektosigmoid köşede rektumun longitüdinale kas liflerine karışarak kaybolurlar. Kolon üzerindeki cepleşmelere haustralar denir. Kolon üzerinde abdominal boşluk tarafındaki periton ile kaplı yağ depolarına apendiks epiploika denir (5).

Sağ kolonu oluşturan yapılar; çekum, apendiks, çıkan kolon, fleksura hepatica ve transvers kolon başlangıcı. Sol kolonu ise; transvers kolon distali, splenik fleksura, inen kolon, sigmoid ve rektum oluşturur. Terminal ileum ile kolon arasında kapak görevi olan yapıya kolon kapağı, Bauhin kapağı veya ileoçekal valf denir. Bu kapak ileal içeriğin çekuma geçişine izin verirken çekum içeriğinin ileuma geçişini

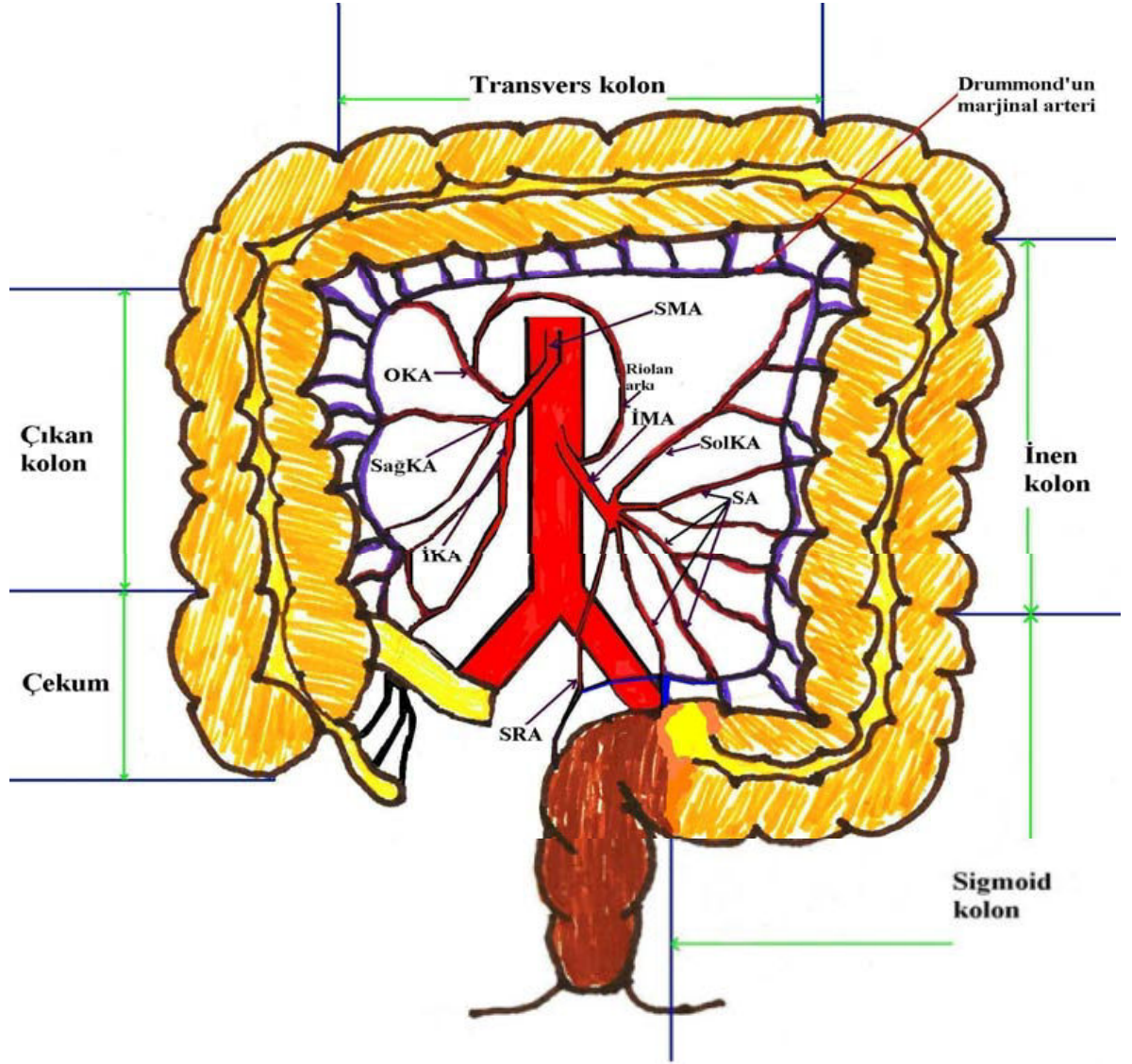
önler. İki kat mukozaya sahip olan bu yapı sirküler kaslardan meydana gelmiştir (5). Kalın barsağın çapı proksimalden distale giderek azalır. Sigmoid kolon 2,5-3 cm ile en dar kısımdır (1,56). İçten dışa doğru sıralarsak kolon duvarı: mukozaya, submukozaya, muskularis propria ve serozal tabakadan oluşur (14).



Resim 1. Sığanın viseral anatomisi (25).



Şekil 2. Sığanda kalın barsak anatomisi (25).



Şekil 3. SMA: Superior mezenterik arter, İMA: İnferior mezenterik arter, İKA: İleokolik arter, SağKA: Sağ kolik arter, OKA: Orta kolik arter, SolKA: Sol kolik arter, SA: Sigmoid arterler, SRA: Superior rektal arter.

Süperior mezenterik arter (SMA) ve inferior mezenterik arter (İMA) aortadan çıkar ve kolonun kanlanmasını sağlar. SMA ve İMA dallarından çıkan yan dallar kolonun yanı başında birbirleriyle anastomoz yaparak boylu boyunca uzanan Drummond'un marjinal arterini meydana getirirler. Arterler kolon duvarına girmeden hemen önce vasa rekta adını alırlar. Orta kolik arter ile sol kolik arter arasında Riolan arkı bulunur. Bu kollateraller cerrahi teknik için önemlidir (12,56-59).

Kolonun görevleri depolama, emilim, salgılama ve taşımadır (1). Proksimal kolonda elektrolit ve su emilimi daha belirgindir. İnce barsak yaklaşık 100 ml gaz içerirken kolonda gaz miktarı daha fazladır. Bir kısmı mukozadan emilip akciğerlerden atılırken, 400-1200 ml gaz flatus olarak vücuttan atılır. Gaz %30-90 yutulan havadan kaynaklanan azottur.

Doğum esnasında steril olan kolon hızla florasını kazanmaya başlar. Flora çevresel ve diyetel özelliklere göre değişkenlik gösterebilir. Yaklaşık olarak 400 farklı bakteri çeşidi barındırabilir. Neredeyse tamamı anaerop olan kolon florasında en çok bulunan *Bacteroides fragilis*'dir. Aerobiklere örnek olarak Coliform'lar (en baskını *Escherichia coli*'dir) ve enterococ'lar (en baskını *Streptococcus faecalis*'dir) verilebilir. Kolondaki bakteriler safra tuzlarının konjugasyonunda vazifelidirler. Bunun yanında bazı vitaminlerin yapımında ("K" vitamini), kolon gazlarının yapım ve emiliminde, kolon motilitesi düzenlemelerinde rol oynarlar.

Kolon hareketi 2 çeşittir; 1) Kolon içeriğinin karışmasını sağlar. Tek bir haustra içinde meydana gelir. Birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişebilir. Bu hareket sıvı elektrolit değişimi için gereklidir. 2) Kolon içeriğini distale doğru ilerlemesini sağlayan hareketler, birden fazla haustranın kasılması, kütleli itme ve peristaltizm olarak üç çeşittir (1,14).

2.4. Yara İyileşmesi

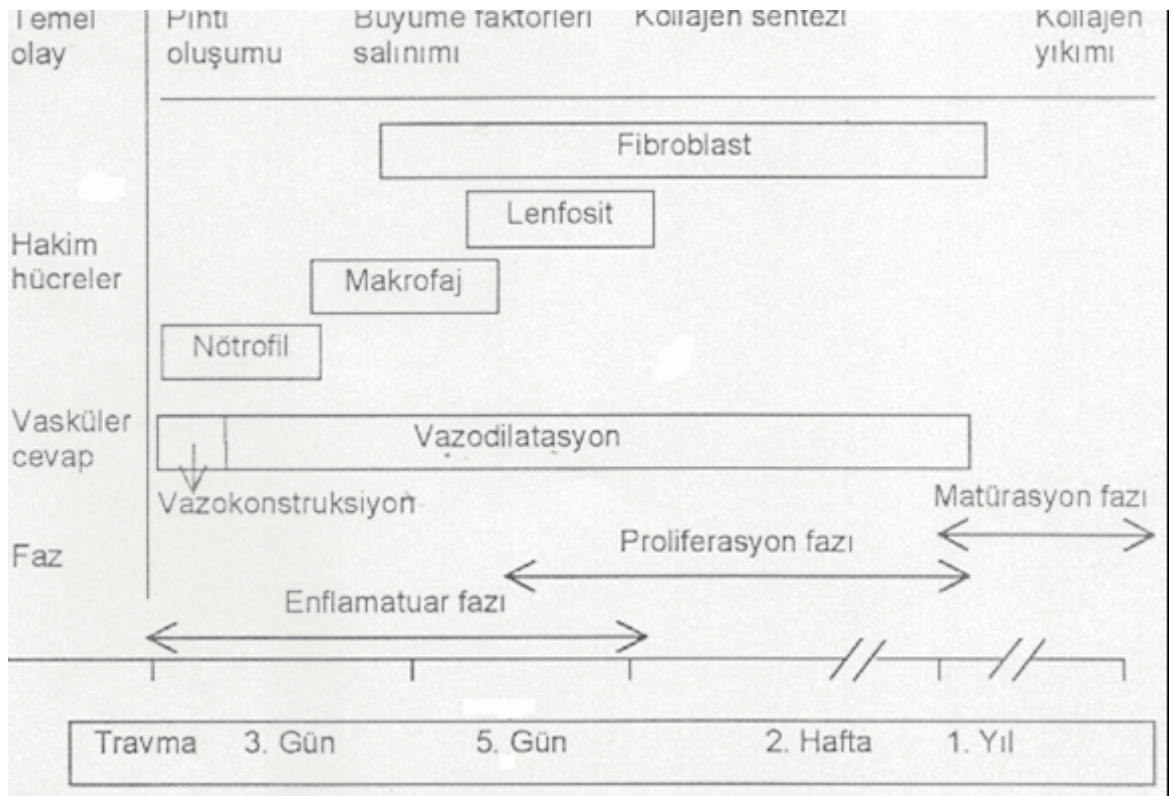
Dokuda hücreli ve anatomik olarak ahengin bozulması yara olarak tanımlanabilir (1). İyileşme etken maruziyetinden hemen sonra başlar ve 4 evrede devam eder. Bu evreler keskin sınırlar ile birbirinden ayrılamazlar. İç içe geçmiş durumdadırlar (17).

1. Hemostaz (0 ---- 15-20 dakika)
2. Enflamasyon (0 ---- 4-5 gün)
3. Proliferasyon (3----- 14 gün)
4. Remodeling (14 ---- 180 gün)

2.4.1. Hemostaz fazı

Yaralanma sırasında damar bütünlüğü bozulur ve damar içeriği ekstravazal aralığa geçer. Bu alanda bulunan trombin ve fibriler kollajen trombositleri uyarır (13).

Trombosit içerisinde bulunan bazı ajanları dışarı salar bunlar arasında; adenzindifosfat (ADP), alfa granülleri, tromboksan A2, 5-hidroksitriptofan, fibrinojen, fibronektin, trombospondin ve vonWillebrand faktör yer alır (19). Fibrinojen, fibronektin ve trombospondin trombosit agregasyonunu sağlar, von Willebrand faktörü trombositin fibriler kollajene adezyonunu sağlar böylece bir tıkaç oluşur.(20,) Bunun dışında yine trombositlerden salgılanan PDFG (Platelet-Derived Growth Factor) -ki bir büyüme faktörüdür- fibroblastlar için hem mitojenik hem de kemotaktiktir (97).



Şekil 4. Yara iyileşmesinin dönemleri fizyopatolojisi (18).

Bütün bu olaylar intrinsik ve ekstrinsik yollar üzerinden, pıhtılaşma ile sonuçlanır. İntrinsik ve ekstrinsik yollar fibrinojeni fibrine dönüştürüp tıkaç oluşumunu sağlayan trombin enzimini meydana getirmek içindir (20).

2.4.2. Enflamasyon fazı

Lökositlerin başrolüdür Nötrofiller (lökositler içinde en fazla bulunandır) buraya ilk ulaşan hücrelerdir. Koagülasyon kaskatı sonrası meydana gelen kemotaktik faktörler (kallikrein, fibrinopeptidler, fibrin degradasyon ürünleri vb.) nötrofiller ve monositlerin yara alanına gelmesini sağlar (20). Yine kompleman elemanlarından IL-1, TNF- α , TNF- β , PF-4 artmış damar geçirgenliği ile birlikte nötrofil kemotaksisini uyarır (21). Nötrofiller elastaz ve kollajenaz enzimleri sayesinde kan damarlarının bazal membranından geçerler (20).

Monositler dokuda makrofaj adını alır, yara iyileşmesinin 2-3. günlerinde müdahil olurlar. Yara iyileşmesinde fagositoz sorumlu hücrelerdir. Mikrobik organizmaların fagositozu, nekrotik dokunun debridmanı, hücre dışı matris yapımı, fibroblast ve endotelial hücre yenilenmesinde yer alır (21). Aktive olan makrofajlar lenfositleri aktive eder. Lenfositlerden de INF, TNF- α , İL-1 gibi sitokinler salgılanır.(21) Erken döneminde nitrik oksidi sentezler. Deneysel çalışmalarda nitrik oksit (NO) sentezinin engellenmesinin yara iyileşmesini geciktirdiği gösterilmiştir (21).

2.4.3. Proliferasyon fazı

Proliferasyon fazında sağlam bölgedeki epitelyum yaraya doğru ilerleyerek yarayı doldurmak ister (21). Fibroblastlar asıl olarak yara iyileşmesinden sorumludurlar. Yara oluşumunun ilk 24 saati içinde yerini alır ve 3.-5. günde en fazla düzeye ulaşırlar (22). Kollajen, proteoglikan ve elastin; fibroblastlar tarafından üretilir. Bağ dokusunu bu üç yapı oluşturur. Kollajen en çok bulunan protein olup glisin, prolin ve lizin amino asitlerinin birleşiminden oluşur. Moleküler oksijen, demir (Fe), alfa ketoglutarat ve C vitamini kofaktör olarak rol aldığı reaksiyonda prolin ve lizin hidroksilaz enzimi sayesinde hidroksiproline dönüşür. Kollajenaz enzimi ise yıkımından sorumludur (23, 24).

2.4.4. Remodelling fazı (Maturasyon Fazı)

Kollajen birikimi dengeye ulaşıncı remodelin fazından bahsedilir. 2-3 hafta sonunda kollajen birikimi zirveyi görmüştür.(21) Fakat yapım kadar yıkımda önemlidir. Çünkü bu denge sağlanamadığında tümör benzeri yapılar oluşabilir (17). Yara

sağlamlığı kollajen gerilim gücü ile paralel olup bu da bir yıl boyunca artarak devam eder. Bir yılın sonunda maksimum gerilim gücü yaralanmadan önceki gücün %80'inden fazlasına ulaşamaz (24). Kollajen yıkımı inflamasyon fazında maksimum düzeydedir. Kollajenazın kaynağı; epitelyal hücreler, fibroblastlar, makrofajlar, lökositler ve keratinositlerdir (20).

2.4.5. Lokal faktörler

Ateroskleroza sekonder periferik arterlerde tıkalıcı hastalık

Vaskülit

Uzun süreli basınç

Venöz yetmezlik

Doku fibrozisi

Yabancı cisim

Barsak hazırlığı ve antibiyotik kullanımı

2.4.6. Sistemik faktörler

Beslenme, yaş

İlaçlar (Kemoterapötikler, glukokortikoidler ...)

İskemi

Anemi

Sigara

Radyasyon

Ödem

Diyabet

İmmun yetmezlik

Multipl travma

Şok, Sepsis

Asidoz

Renal yetmezlik, üremi

Karaciğer hastalığı ve yetmezliği

Vitamin ve/veya mineral eksikliği

Kan transfüzyonları

Alkolizm

Tablo 1. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler(17, 21,41)

2.5. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi

Bütün ameliyatlarda göz önünde bulundurulduğunda GİS ameliyatlarda birinci sırada yerini alır. Bu nedenle gastrointestinal sistemdeki yara iyileşmesi ve etkili faktörler hakkında bilgimiz artmadır. Fakat hala yüksek mortaliteye sebep buradaki anastomoz kaçakları nedeniyledir.(41) Anastomoz kaçak oranı klinikten kliniğe değişiklik göstermekte olup %5-69 arasında bildirilmiştir. Bu kadar geniş aralığın nedeni değerlendirme kriterlerinin farklılığıdır. Bilim dünyasındaki gelişmeler (cerrahi teknik ve anestezideki gelişmeler, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, preoperatif hasta hazırlığı ve postoperatif hasta bakımı) morbidite %9, mortalite %3-5 düzeyine kadar indirmiştir.(8) Anastomoz iyileşmesini anlamak için kolon duvarı katlarının anatomisinin bilinmesinde fayda vardır (25).

4 tabakadan oluşur:

- Mukoza
 - Epitel

- Lamina propria mukoza
- Lamina msklaris mukoza
- Submukoza
- Msklaris propria
- Sirküler
- Longitudinal
- Seroza

Tek katlı prizmatik epitel mukozanın en iç tabakasıdır. Bunu lamina propria mukoza çevreler; kan damarları, lenfatikler, sinir sonlanmaları yanında inflamatuvar ve mezenkimal hücreler burada yerleşmiştir. Mukozayı en dışta ince bir tabaka şeklinde lamina msklaris mukoza tamamlar (25).

Barsak anastomozu iyileşmesi, yara iyileşmesi ilkeleri ile benzer özelliktedir. Küçük farklılıklar gösterebilir. Anastomoz gerilimini en fazla taşıyan katman submukozadır. Submukozanın %68'i tip1 kollajen, %20'si tip 3 ve %12'si tip 5 kollajendir. Kollajenin yanında elastik lifler de bulunur (26).

Herrmann ve ark. Kolon anastomozu iyileşmesinin histolojik açıdan birbiri ile sınırları net ayırt edilemeyen 3 evrede incelemişlerdir (27):

Evre 1: 0-4 gün, inflamasyon ve dem evresi

Evre 2: 3-14 gün, proliferatif fibröz onarım evresi

Evre 3: 10-180 gün, reorganizasyon ve modelleşme evresi

İlk olarak hematom ve vazokonstrüksiyonu, vazodilatasyon ve kapiller permeabilededeki artış takip eder (26). İNFLAMASYON ve dem ilk dört gün boyunca vardır. İnvagine olan mukoza ve submukozada 24-48 saat içinde yaygın inflamatuvar yanıt ve dem gelişir. Nekroze olarak lümene düşer. İnvagine edilen kısım küçükse vücut sınırlayabilir. Tüm bunlar anastomozu aşırı inverte etmemek gerektiğini

gösterir.(28,29) Barsak duvarı tam olarak karşı karşıya getirmek mukozal eversiyon ve inversiyona oranla daha çok zaman kazandırır.(30) Serozanın nizami yaklaştırılması kaçak riskini azaltır (31,32).

2-3. günlerde anjiogenezis başlar.(4,7,34) Akabinde anastomoz bölgesinde granülasyon dokusu artar. Operasyon sonrası 3-5. günlerde daha çok anastomoz hattında olmak üzere tüm kolonda kollajenolitik aktivite artışı olur.(13,33) Anastomoz kaçağı için en önemli dönemdir. Konulan dikişler ve buradaki submukozanın dikişlerin gerilimi karşılayabilmesi anastomozun selameti için önem arz eder (13,33).

Anastomoz hattında kollajen 4. Gün itibarıyla başlamıştır. Hergün artarak yara kuvveti büyür. 7. günde normalin %50-60'lara ulaşan bu değer 10.günde %100'üne ulaşır (29,35, 36).

Kollajen sentez-yıkım dengesi anastomozun bütünlüğü ile ilgilidir. Submukozal kollajen ağı epitelyal rejenerasyonun en önemli belirteçlerindedir. Reorganizasyon sırasında, granülasyon dokusu azalır ve yerini düzenli hücre sıraları, düz kas hücreleri ve normal dokuya bırakır. Bu dönemde bir yıl sonra bile fark edilebilecek mükülaris mukoza ve mükülaris propria düzensizleşir. Bilimsel araştırmalar 7.günde, mekanik güç uygulamayla gelişen rüptürün, anastomoz hattı dışından kaynaklandığını söyler (27,53,13,12,37).

2.5.1. Anastomoz iyileşmesi

Anastomoz iyileşmesi kompleks bir mekanizma olup; inflamasyon, reepitelizasyon ve kollajen metabolizmasıyla ilgilidir. Anastomoz iyileşmesinin ilk aşamasını içeren primer inflamatuvar cevapta sitokinlerin salınımı ve lökositlerin migrasyonu ile kollajenlizi başlar. Anastomozdaki lokal bakteri kontaminasyonu yaralanan mukoza sınırlarında reepitelizasyona ve sekonder inflamatuvar cevaba neden olur. Sekonder inflamatuvar fazda da kollajen lizi devam eder. Anastomozun gerilme kuvveti, kollajen lizisinin azalmasına yeni kollajen sentezine, kollajen lifleri arasındaki köprülerin miktarına bağlıdır. Primer inflamatuvar cevap, mukozal reepitelizasyon, sekonder inflamatuvar cevap ve kollajen maturasyon hızı anastomoz iyileşmesinde en önemli faktörlerdir. Submukozal tabakada yerleşen kollajen

fibrilleri anastomozun gerilme kuvvetini sağlar. Dokuda yapılan hidroksiprolin tayinleri kollajen miktarını gösterir. Bu ölçüm uzun yıllardan beri bilinen anastomoz iyileşmesini ortaya koyan yöntemdir (38).

Kollajenin subgruplarından; I, III, IV, V, VII ekstrasellüler alanda bulunanlardır. Yara iyileşmesinde evre tayini bazı immunohistokimyasal metotlarla ölçülerek elde edilebilmektedir (39).

Yara iyileşmesi yara gerilim kuvvetinin normal değerlere ulaşması ile verifiye edilebilir. Erken dönemlerde hücreler arasında ve fibrin-fibronektin kompleksi arasındaki adezyon kuvveti yara gerilim kuvveti için en önemli faktörlerdir. Yara iyileşmesinin ilk 24 saatinden sonra fibroblastlar kollajen sentezlemeye başlar. Fakat 3. veya 4. günlerden sonra kollajen birikimi belirginleşir. Yaranın gerçek kırılma kuvveti ilk olarak bu dönemde ölçülebilir (40).

Postoperatif izleyen günlerde yara kuvveti giderek artar. Postoperatif 7.günde normalin %50-60'ına ulaşmışken, %100'üne ancak 10. günde ulaşır. Birinci haftada mukoza epiteli proliferasyonu ve submukozal vasküler proliferasyon izlenir.(98) Remodeling 10-180 gün arası sürebilir. Bu evrede granülasyonun dokusunu yerini daha düzenli hücre grupları almıştır (26).

2.5.2. Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler

Anastomozunun iyileşmesinde etkili olan lokal ve sistemik faktörler aşağıda gösterilmiştir (26).

2.5.2.1. Lokal faktörler

Kanlanma

Gerginlik olmaması

Doku uçlarının sağlıklı olması

Bakteriyel kontaminasyon

Anastomoz distalinde tıkanıklık

Radyasyon

Barsak hazırlığı ve antibiyotik kullanımı

Hipertermi

Cerrahi teknik ve dikiş materyali

Lokal infeksiyon

Hematom

Yabancı cisimler

Mekanik travmalar

Aşırı mobilizasyon

Malnütrisyon

2.5.2.2. Sistemik faktörler

Şok, sepsis, asidoz

Hipovolemi

Bazı İlaçlar (steroid, KT...)

Kan transfüzyonu

İmmun yetmezliği

Habis hastalıklar

Karaciğer yetmezliği

Sarılık

Obezite

Anemi

Vitamin ve/veya mineral eksikliği

Hipoksi

Üremi, Diyabet

Tablo 2. Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler.

Anastomoz hazırlığında kolonun kaba ve fazla immobilizasyonu, hemostazda gereksiz koter kullanımı, kolon içeriğinin bulaşmasını engellemek için klempelerin uzun süreli ve fazla sıkı tutulması, çok sık aralıklı sütürler ve staplerler anastomozu besleyen damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemi oluşur (12,45).

Kollajenin yapı taşlarından lizin ve prolinin hidroksilasyonu için yeterli oksijenizasyon önemlidir. Doku iskemik olduğunda iyileşmesi zayıflar ve enfeksiyona direnci azalır. 55mm Hg'nin altında olan oksijen basıncına sahip dokuda kaçak oranı %10, oksijen basıncı 25mm Hg'nin altına düştüğünde ise iyileşme olmaz (41,43,46).

Radyoterapi GİS'te fibrozis, striktür ve endarteritis obliteransa sekonder iskemiye neden olabilir. Radyasyon maruziyeti ve lokal hipertermi ekstraparitoneal kolon anastomozunda yara iyileşmesinin gecikmesine neden olur (26,49).

Preop mekanik barsak temizliği yapılması ve uygun antibiyotik kullanımı kaçak sıklığını önemli derecede azaltır (51,99).

Kullanılan sütür materyali yara iyileşmesi sırasında anastomoz bütünlüğü sağlanana kadar gücünü korumalıdır. Ayrıca sütür materyali enfeksiyonu önleyici olmalıdır. Bunun yanında düğüm güvenli bir şekilde oturtulmalıdır (47,48).

Ameliyat sırasında meydana gelen bulaş kolon florasının zenginliği nedeniyle lokal enfeksiyona neden olabilmekle birlikte bu da anastomoz kaçağına neden olabilecek önemli etkenlerdir (51). Enfeksiyon kollajenaz enziminin aktivitesini artırır ve kollajenin azalmasına neden olur (48,52,51).

Anastomoz güvenliğinden emin olmak, olası bir sıvı koleksiyonu boşaltmak için dren yerleştirilir. Bunun yanında drenler batın dışı ile retrograd bir yol oluşturur. Ayrıca anastomozu erode edebilir, adezyona neden olabilir (26).

İntraperitoneal sepsis insidansını arttıran nedenlerden biri olan kan transfüzyonu immün cevabı baskılayıp enfeksiyona yatkınlığı artırarak anastomoz iyileşmesini bozar.(26) İntrabdominal sepsis mevcut ise anastomozdan kaçınmak gerekir. Sepiste kollajen sentez kapasitesi belirgin bir şekilde azalmıştır (50,26).

Bazı ilaçlar (kemoterapotik ajanlar) kollejen sentezini doğrudan yada dolaylı yoldan engeller. Nötropenik hastalarda yara enfeksiyonu artmıştır. Bu da yara yeri iyileşmesinde enflamatuvar fazı uzatır (41). NSAID'ların kullanımı yara iyileşmesinin ilk 3 gününde kollajenolizi azaltırlar. Kortikosteroidler kollajen sentezini ve fibroblast proliferasyonunu baskılayarak nitrojen düzeyini azaltıp büyümeyi ve bağ dokusu metabolizmasını baskırlar. Kortikosteroidler antienflamatuvar olmalarından dolayı yara iyileşmesini geciktirirler (42).

İyileşmeyi olumsuz etkileyen nedenlerden biri de doku perfüzyonunu azaltan hipovolemidir (42). İleri yaş başlı başına iyileşmesi olumsuz etkiler (42). Bazı mineral eksikliğinde kollajen sentezi ve yara iyileşmesi bozulur. Örnek olarak; C ve E vitaminleri, demir (Fe+2) ve çinko (Zn) eksiklikleri verilebilir (42).

Büyüme hormonu ve epidermal groft faktor (EGF) fibroblast proliferasyonunu uyurarak kollajen sentezini arttırarak yara iyileşmesini hızlandırır (42,44).

Schrock ve arkadaşlarının çalışmasına göre elektif operasyonlarda, yara dudakları iyi hazırlanmış sağlıklı kolonda enfeksiyon ve diğer negatif faktörler de bulunmuyorsa, usulüne göre anastomoz yapıldığında tüm vakaların % 98'inin klinik olarak saptanabilen kaçak olmaksızın iyileşeceği beklenir (31).

2.6. Kolonda Anastomoz İyileşmesinin Değerlendirilmesi

Mekanik, biyokimyasal ve histolojik yöntemler olarak 3 ana başlık altına anastomoz iyileşmesi incelenebilir. Bunun yanında nadir de olsa diğer bazı yöntemler de

kullanılır. Histolojik inceleme doku düzeyinde iyileşme ölçümünde genelde her ne kadar kantitatif olmasa da önemli bir parametredir (30).

2.6.1. Mekanik değerlendirme yöntemleri

2.6.1.1. Patlama basıncı

Barsak duvarının lümen içi gaz veya sıvı nedeniyle artan basınca karşı direncini gösterir. Anastomoz yapıldıktan sonraki ikinci ve üçüncü günlerde en düşük değerlerde olan baltama basıncı daha sonra yedinci günde opere edilmemiş düzeye çıkar. 7. Günden sonra anastomoz hattı dışında bir barsak ansından olur. İyileşme göstergesi olarak bir haftadan sonra uygun bir yöntem olarak kullanılmaz. Daha erken dönemde iyileşmeyi değerlendirilmede kullanılması uygundur (12,13,53,54,55).

2.6.1.1. Kopma Direnci

2. haftaya kadar olan değerlendirmelerde uygun olan bu yöntemde anastomoz hattının bulunduğu barsak segmentinde uzun eksene paralel olan bir kesi ile standart genişlik ve uzunlukta bir şeridin iki ucuna karşıt yönde kuvvet uygulanması sonucu kopma meydana gelmesiyle ölçülür (26).

2.6.2. Biyokimyasal yöntemler

Biyokimyasal parametre olarak kollajen miktarı ölçümü anastomoz iyileşmesini değerlendirmede kullanılır. Doku kollajen miktarı ise hidroksiprolin düzeyinin ölçümü ile saptanır. Anastomoz sonrası ilk günde gerek kollajen yapımındaki azalma, gerekse ilk 12 saatte artan kollajenaz aktivitesine bağlı olarak en düşük seviyesine iner. Anastomoz için en kritik dönem bu dönemdir (12,29).

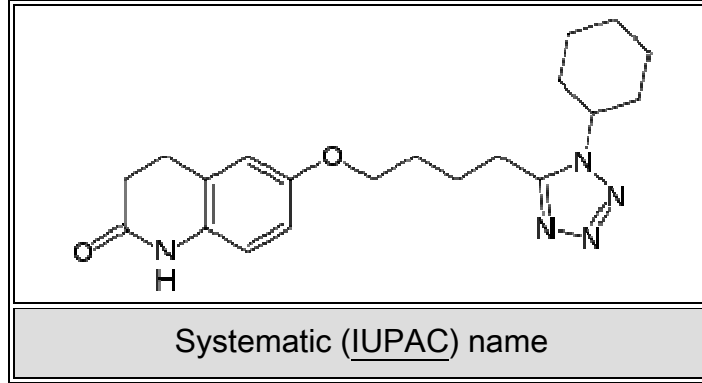
2.6.3. Histolojik değerlendirme yöntemleri

Anastomoz hattının hücresel infiltrasyonu, yeniden damar oluşumu (vaskülarizasyon) ve fibroblastik aktivitesi Işık mikroskobu ile incelenebilir. Kalitatif ve kantitatif skorlamalar kullanılarak yara iyileşmesinin durumu değerlendirilebilir. Elektron mikroskobu ile kollajen lifleri dahi değerlendirilebilmektedir (54).

2.6.4. Diğer Yöntemler

Sintigrafik olarak fibroblast aktivitesinin incelenmesi, doppler ultrasonografi, mikroanjiografi ve lokal ısı ölçümleri yöntemler sayılabilir (54).

3. SİLOSTAZOL



Şekil 5. 6-[4-(1-cyclohexyl-1*H*-tetrazol-5-yl)butoxy]-3,4-dihidro-2(1*H*)-quinolinone

Fosfodiesteraz farklı formları veya alt tipi ilk olarak 1972 yılında Uzunov ve Weiss tarafından fare beyinlerinden izole edilmiştir.(69) Kısa bir süre sonra çeşitli ilaçların beyinde ve diğer dokulardaki seçici olarak inhibe edilmesi gösterilmiştir.(70,71) Silostazol (6- [4- (1-cyclohexyl-1 H-tetrazol-5-yl) butoxy] - 3,4-dihidro-2- (1H) -quinolinone), hücre içi cAMP seviyelerini tip 3 fosfodiesterazı inhibe ederek artırır (62). Hücre içi cAMP'deki artış silostazolun antitrombosit ve vazodilatatör özelliklerinin kaynağıdır.(64) Silostazol artan cAMP seviyeleri ile bağlantılı olarak endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) fosforilasyonunu artırır ve insan aortik endotel hücrelerinde, endotel tüp oluşumunu artırır (61). Ayrıca, cAMP siklooksijenaz yolunun da inhibitörüdür; böylece TxA2 üretimini de düşürür. Damardaki düz kaslar içinde cAMP depolanmış hücreler arası Ca²⁺'nın salınımını inhibe eder ve böylece kasılan kasların aktivitelerini kısıtlar (65). Silostazol kladikasyon tedavisinde kullanılan bir fosfodiesteraz tip III inhibitörüdür (63).

Wihlitz ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmanın sonuçları silostazolun kanama süresini önemli miktarda uzatmadığını göstermiştir (66). Silostazol ayrıca trofik faktörleri ve anti-apoptotik sinyal yollarını aktive etmektedir (67). Bir araştırma göstermiştir ki, Silostazol tedavisi, başka antiplatelet ajan içermeden, peri infarkt bölgesindeki serebral kan akışını artırarak fokal iskemik beyin hasarını azaltmıştır. Nitrik oksit üretimindeki artış ve endoteliumdan prostoglandin salınımı da bunu desteklemiştir (68).

3.1. Farmakolojik Özellikleri

3.1.1. Farmakodinamik özellikler

Silostazol ve metabolitlerinden bazıları, fosfodiesteraz III (PDEIII) inhibe ederek hücre içi cAMP artmasına neden olur (62). Bu yolla trombosit agregasyonunun inhibisyonuna ve vazodilatasyona yol açar (64).

3.1.2. Farmakokinetik özellikler

Silostazolun GİS'ten emilimi yağlı yiyecekler ile birlikte alınınca artar. Doruk plazma konsantrasyonu (Cmaks) yaklaşık %90, eğri altındaki alan (EAA) ise yaklaşık %25 artar. Mutlak biyoyararlılığı bilinmemektedir. Silostazol başta 3A4 olmak üzere karaciğer sitokrom P450 enzimlerince metabolize edilir. Metabolitler daha çok idrar yoluyla vücuttan atılır. İki metaboliti aktiftir: 3,4-dehidro-silostazol ve 4'-trans-hidroksi-silostazol. Farmakokinetikleri dozla orantılı olarak değişir. Silostazol ve aktif metabolitlerinin eliminasyon yarı ömürleri yaklaşık 10 saat civarındadır. Silostazol ve aktif metabolitleri kronik kullanımda 2 kata kadar birikebilir ve birkaç günde kararlı kan konsantrasyonuna ulaşır. Silostazol ve iki majör aktif metabolitinin farmakokinetikleri, sağlıklı normal kişilerde ve periferik arter hastalığına bağlı intermitant klodikasyonlu hastalarda benzer bulunmuştur (96).

3.2. Endikasyonları

Daha önceki çoklu merkezli araştırmalar Silostazolun topallama(kladikasyo) mesafesini arttırdığını göstermiştir (93, 94).

4. YÖNTEM VE GEREÇ

Bu deneysel çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi (Zonguldak Karaelmas) Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu izniyle, BEÜ Tıp Fakültesi Deneyleti Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deneysel çalışmada ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen, 10-12 haftalık Wistar Albino türü 32 Adet erkek rat kullanıldı. Çalışma süresince denek sıçanlar; uygun ısı (21 ± 1 °C) ve neme (%50-60) sahip sabit çevre koşullarında, standart sıçan yemi ve günlük taze şehir şebeke suyu ile beslenip, yonga talaşlı yataklığın kullanıldığı saydam plastik kafeslerde tutuldu.

4.1. Gruplar

Ratlar randomize olarak 4 çalışma grubuna ayrıldı.

➤ GRUP A: Standart anastomoz:

Orogastrik entübasyon ile 10 ml/kg dozunda serum fizyolojik sağ kolon anastomozu öncesi birbirini takip eden 5 gün boyunca verildi. Sonrasında sol kolon anastomozu yapıp takip eden 4. günde ratlar sakrifiye edildi.

➤ GRUP B : Standart anastomoz + Silastazol:

Orogastrik entübasyon ile 10 mgr/kg dozunda silostazol sol kolon anastomozu öncesi birbirini takip eden 5 gün boyunca verildi. Sonrasında sol kolon anastomozu yapıp takip eden 4. günde ratlar sakrifiye edildi.

➤ GRUP C: İskemik anastomoz:

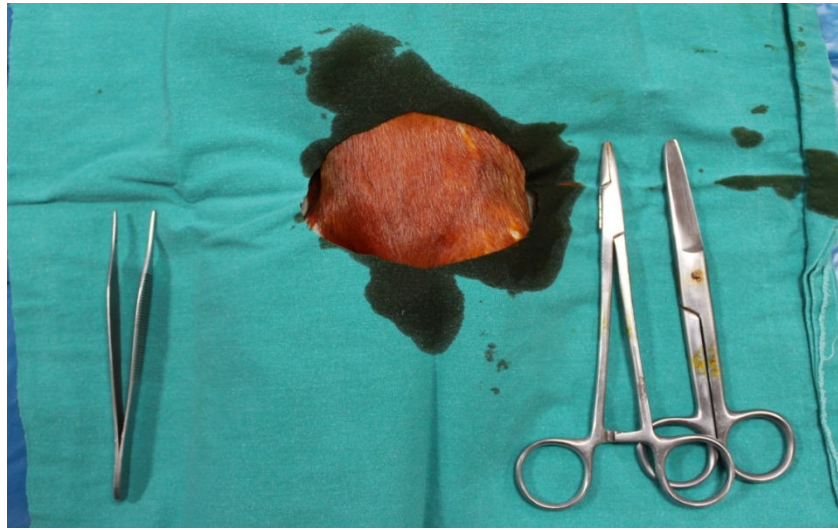
Orogastrik entübasyon ile 10 ml/kg dozunda serum fizyolojik sağ kolon anastomozu öncesi birbirini takip eden 5 gün boyunca verildi. Sonrasında iskemik sol kolon anastomozu yapıp takip eden 4. Günde ratlar sakrifiye edildi.

➤ GRUP D: İskemik anastomoz + Silastzol:

Orogastrik entübasyon ile 10 mgr/kg dozunda silostazol sol kolon anastomozu öncesi birbirini takip eden 5 gün boyunca verildi. Sonrasında iskemik sol kolon anastomozu yapıp takip eden 4. Günde ratlar sakrifiye edildi.



Resim 2. Gastrik gavaj uygulaması.



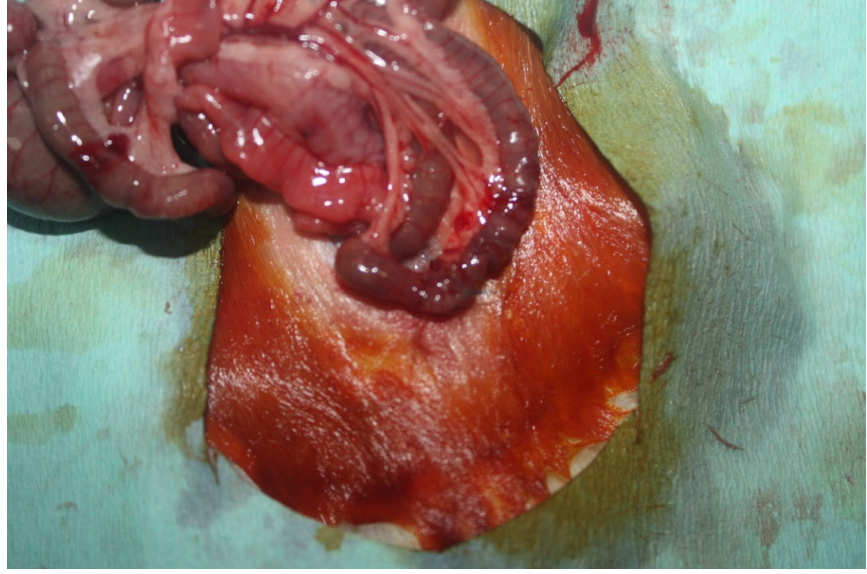
Resim 3. Anestezi altındaki denek.

4.2. Cerrahi işlem

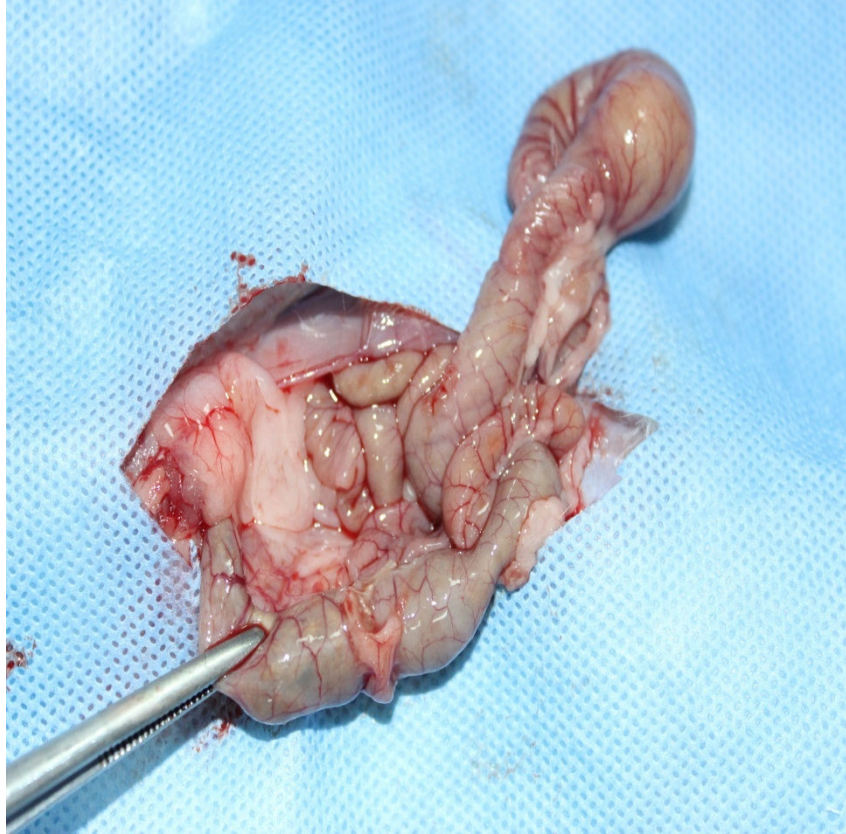
Ratlara barsak temizliği için herhangi bir işlem yapılmadı. Her rat için intramüsküler 50 mgr/kg Ketamin HCl (Ketalar® flakon, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Lüleburgaz, Türkiye) enjekte edilerek dissosiyatif anestezi sağlandı. Rat ameliyat masasına alınarak karın duvarı tıraş makinası ile tıraş edildi. Povidon iyot kullanılarak antisepsi sağlandı. Orta hattın 4cm uzunluğunda insizyonu ile laparotomi yapıldı. Sol kolon batın dışına alındı. Sol kolona, Grup A ve Grup B’de damar sistemi korunarak, Grup C ve Grup D’de anastomoz öncesi 3 cmlik inen kolon segmentinin vasküler arkı elektro koagülasyonla hasarlanarak anastomoz yapıldı. Bütün anastomozlar tek bir cerrah tarafından standart uç-uca anastomoz olacak şekilde 8 adet dikişle 6/0 poliprolen sütün kullanılarak tek tek ve invert edilerek yapıldı. Anasomotoz hattından İki santimetre proksimal ve distal kolonik içerik sağma yöntemi ile temizlendi. Postoperatif dehidrasyonu önlemek amaçlı laparotomi kapatılmadan önce arkın içine 5 ml ringer laktat solüsyonu verildi.



Resim 4. İskemi oluşturulan denek.



Resim 5. İskemik anastomoz hattı.



Resim 6. Anastomoz hattı.

Deneklere (Grup B ve Grup D) 10mgr/kg dozunda silostazol nazogastrik entübasyon ile verildi. Kontrol gruplarına (Grup A ve Grup C) aynı dozda serum fizyolojik verildi.

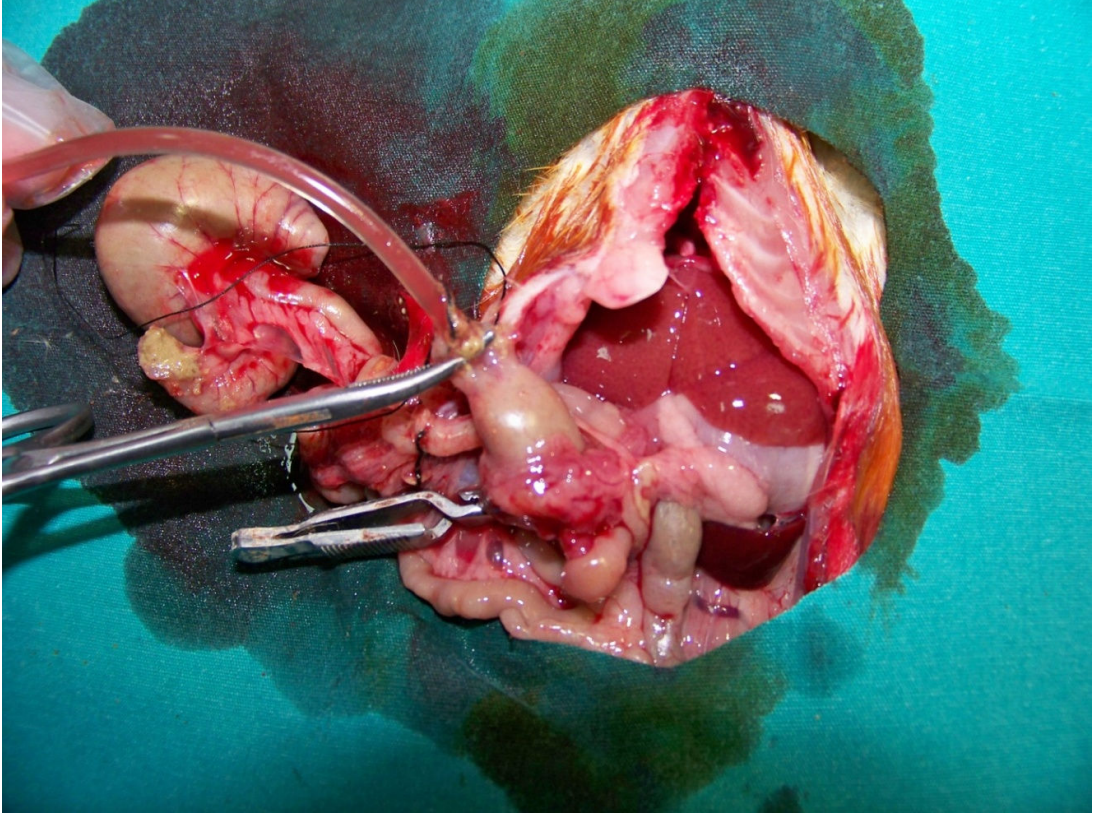
Silostazol orogastrik olarak verilirken distile su ile çözelti oluşturulup aynı gün verildi. Dört numara(Fr) beslenme tüpü kullanılarak hazırlanan çözelti ratlara verildi.

4.3. Sakrifikasyon

Tüm ratlar 4. günde yine yukarıda anlatılan genel anestezi yöntemi ile anestezi uygulamasının ardından batın orta hat laparotomi yapıldı. İntra kardiyak kan alma yöntemiyle sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrası patlama basıncı ölçüldü. Anastomoz hattı 2 cm proksimal ve 2 cm distalini içerecek şekilde rezeke edildi. İki eşit parçaya bölündü. Bir parça histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehid solüsyonuna konuldu, diğer parça hidroksiprolin düzeyi ölçümü için -80 °C'de donduruldu.

4.4. Patlama Basıncı Ölçümü

Patlama basıncını ölçmek için sıvı pompası (Infusion pump, Abbott, ABD), basınç transdüseri (Transpac IV, Abbott, ABD) ve monitör (Petas KMA 460 R, Ankara, Türkiye) temin edildi. Orta hat laparotomi sonrası anastomoz segmenti bulundu. Çevre yapışıklıklar korunarak anastomoz segmenti rezeke edildi. Anastomoz ayrışması, apse ve kaçak açısından incelendikten sonra anastomoz hattının distal ucuna mini klemp yerleştirildi. Proksimal uca ise içindeki fekal içerik uzaklaştırıldıktan sonra monitöre bağlanan basınç transdüseri ile 6 french kalınlığında katater konuldu. Herhangi bir kaçağı ortadan kaldırmak için 2/0 ipek sütür kullanılarak katater tespit edildi. Böylece kapalı bir sistem oluşturuldu. 50 ml/saat hızında olacak şekilde perfüzyon pompası ile distile su kolon segmenti içine verildi. Monitördeki ani basınç düşmesi veya patlama anındaki sıvı kaçağının olduğu değer kayıt altına alındı.



Resim 7. Patlama basıncı ölçülmesi.

4.5. Biyokimyasal İncelemeler

Biyokimyasal analizler Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla Sağlık Yüksekokulu, Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarında ölçüldü. Patlama basıncı ölçümünden sonra anastomoz hattından alınan kesitler -80 C°'de saklandı.

4.5.1. Doku hidroksiprolin düzeylerinin ölçümü

Doku örnekleri 6N HCl ile hidrolize edildi. Hidrolizasyon sonrası numunelerden 25 µL alınarak liyofilize edildi ve %50 (v/v) izopropil alkol ile çözüldü. Örneklerin üzerine kloramin-T eklenerek 10 dakika beklendi, daha sonra bu örneklerin üzerine Ehrlich solüsyonu eklenerek 50 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Reaksiyon sonrası oluşan renk değişikliği 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Aynı koşullar altında, 0.4, 0.8, 1.2 ve 1.6 µg'lik hidroksiprolin standartları çalışıldı.

Numune absorbanları standartlardan elde edilen eğri üzerinden hesaplandı. Sonuçlar $\mu\text{g/g}$ doku olarak verildi (72).

4.5.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini

Dokuları 1/10 oranında 20 mM fosfat tamponu içinde (pH:7.4) homojenize edildi. Homojenat 5000xg'de 30 dakika santrifüj edildi. Süpernatant, kloroform/etanol karışımı (3/5) ile 1/1 (v/v) oranında karıştırıldı. 10000 rpm'de +4 °C'de bir saat santrifüj edildi. Süpernatanda enzim aktivitesi ve protein tayini yapıldı (REF). % 50 inhibisyonun 1Ü aktivite sağladığı düşünülerek enzim aktivitesi hesaplandı. SOD enzim aktivitesi protein miktarlarına bölünerek sonuçlar Ü/mg protein olarak verildi (73).

4.5.3. AOPP düzeylerinin tayini

Serum AOPP düzeyleri Witko-Sarsat ve arkadaşlarının 1996'da tanımladığı spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. 200 μl plazma 1:5 oranında fosfat tampon solüsyonu (PBS; pH: 7,4) ile dilue edildi. Üzerine 10 μl KI ve 20 μl asetik asit eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm absorbansta PBS'ye karşı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. 0-100 μM Kloramin T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak $\mu\text{mol / L}$ olarak verildi (74).

4.5.4. Serum TNF- α düzeylerinin ölçümü

Serum TNF- α düzeyleri (Bendermed International, Inc., Camarillo, CA, USA) ELISA kiti ile çalışılmıştır. Sonuçlar pikogram/millilitre (pg/mL) olarak verilmiştir.

4.5.5. Doku miyeloperoksidaz aktivitesinin ölçümü

Dokular % 0.5 hekzaadesil trimetilamonyum bromid (HETAP) içeren 50mM fosfat tamponunda (pH:6.0) homojenize edildi. Daha sonra homojenatlar üç kez dondurulup çözüldükten sonra, 10.000xg 15 dakika +4 °C'de santrifüj edildi (30). Süpernatanda miyeloperoksidaz aktivitesi o-dianisidin redüksiyonu metoduna göre çalışıldı. Sonuçlar Ü/ gr doku olarak verildi (31,75).

4.5.6. Protein Tayini

Lowry metoduna (Ref 1) göre süpernatanda protein tayinleri yapıldı. Süpernatanlar 1/5 oranında seyreltilerek üzerlerine 2 mL reaktif karışımı (0.5 mL % 2'lik Na₂CO₃ içinde 0.1 N'lik NaOH, 0.5 mL %2'lik Na-K tartarat, 16.5 mL %1'lik CuSO₄) eklendi. Deney tüpleri karıştırıldıktan sonra, 15 dakika bekletildi. Daha sonra deney tüplerine 200 µl Folin ciocalteu's fenol eklenerek iyice karıştırıldı ve 1 saat karanlıkta bekletildi. Kör tüpleride süpernatanlar gibi çalışıldı ancak numune yerine distile su konuldu. Tüpler 750 nm'de köre karşı okundu. Sonuçlar standart eğri üzerinde hesaplanarak mg/mL olarak verildi (76).

4.6. Histopatolojik Değerlendirme

Doku parçaları %10'luk formaldehit solüsyonu içine konularak saklandı. 4-5 µm kalınlığında kesitler halinde hemotoksilen&eoizin ile boyanıp parafin bloklar hazırlandı. Tek bir patolog tarafından kör olarak ışık mikroskobunda(LEİCA DMLS) değerlendirildi. Mikroskopik bulgular ışık mikroskobisi altında değerlendirildi. Philips ve arkadaşları tarafından modifiye edilen bir Ehrlich-Hunt sayısal skalası kullanılarak skorlandı (95). Mikroskopik bulgular olarak kollejen depozisyonu, fibroblast matürasyonu, neoanjiogenezis, granülasyon dokusu incelenerek skorlandı. Kollejen depozisyonu, fibroblast matürasyonu, neoanjiogenezis, granülasyon dokusu skorlanması için her gruptaki denekler ayrı ayrı değerlendirildi.

Tablo 3. Ehrlich-Hunt sayısal skalası (95).

Stage	Kollejen depozisyonu/fibroblast matürasyonu/neoanjiogenezis/ granülasyon dokusu
0	Normal,yok
1	hafif
2	orta
3	şiddetli

4.7. İstatistiksel İnceleme.

Bu Çalışmada istatistiksel analizler için SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır. Çalışmada ölçümle belirtilen sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma ile,

kategorik değişkenler frekans ve yüzde ile gösterilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen değişkenlerin 2 grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Çalışmadaki tüm istatistiksel analizlerde p değerinin 0,05'in altında bulunması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

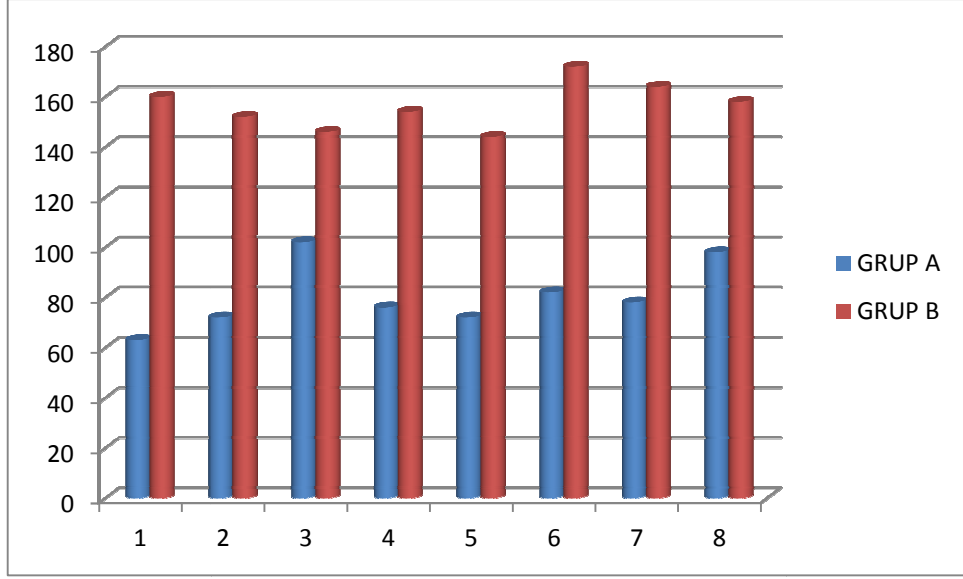
Yapılan tüm işlemler denekler tarafından iyi tolere edildi. Ameliyat sonrası yapılan laparotomilerde abse, makroskobik ve mikroskobik peritonit tespit edilmedi

5.1. Anastomoz Patlama Basıncı Değerleri

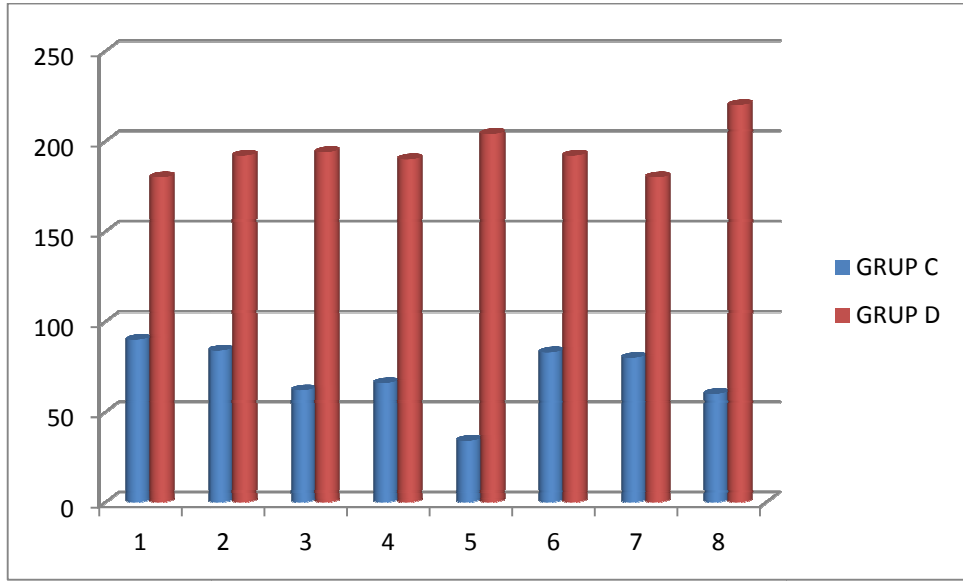
Hiçbir grupta anestezi ve cerrahi işleme bağlı ölüm olmamıştır. Anastomoz sonrası 4. gündeki patlama basınç değerleri ve standart sapmaları Tablo 4’de ve gruplara göre anastomoz patlama basınç değerlerinin dağılımı Grafik 1 ve 2’de gösterilmiştir. Grup D (iskemik anastomoz ve silostazol) patlama basıncı minimum 180 mmH₂O, maksimum 220 mmH₂O ile en yüksek değerler izlenmişken Grup C (iskemik anastomoz) minimum 34 mmH₂O, maksimum 90 mmH₂O ile en düşük değerler izlenmiştir. İskemik anastomoz olgularında silostazol uygulanan grubun patlama basıncı sadece iskemik anastomoz uygulanan gruba göre daha yüksek değerlere sahiptir. İskemik anastomoz yapılarak silostazol uygulanan grup ile sadece iskemik anastomoz uygulanan grup arasından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark saptandı (p<0.001). Standart anastomoz yapılan ratlarda patlama basıncı minimum 63 mmH₂O maksimum, 102 mmH₂O ile düşük değerler izlenmişken standart anastomoz yapıp silostazol uygulananlarda ise minimum 144 mmH₂O, maksimum 172 mmH₂O ile daha yüksek değerler izlenmiştir. Standart anastomoz uygulanan gruplarda silostazol uygulanması patlama basıncında istatistiksel olarak anlamlı derecede yükselme sağlamıştır (p<0.001).

Tablo 4. Anastomoz sonrası 4. gündeki patlama basıncı değerleri ve standart sapmaları

Gruplar	Ort. Pat. Bas.(PB, mmH ₂ O) ± std sap.	medyan	minimum	maksimum
Grup A	80,38 ± 13,352	77	63	102
Grup B	156,25 ± 9,285	156	144	172
Grup C	69,88 ± 18,287	73	34	90
Grup D	194,00 ± 13,049	192	180	220



Grafik 1. Gruplar Patlama basıncı bakımından değerlendirildi; iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). GRUP B (Standart anastomoz + Silostazol) grubunun değeri Grup A (Standart anastomoz) gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu.



Grafik 2. Grup C ve D' ye göre anastomoz patlama basınç değerlerinin dağılımı.

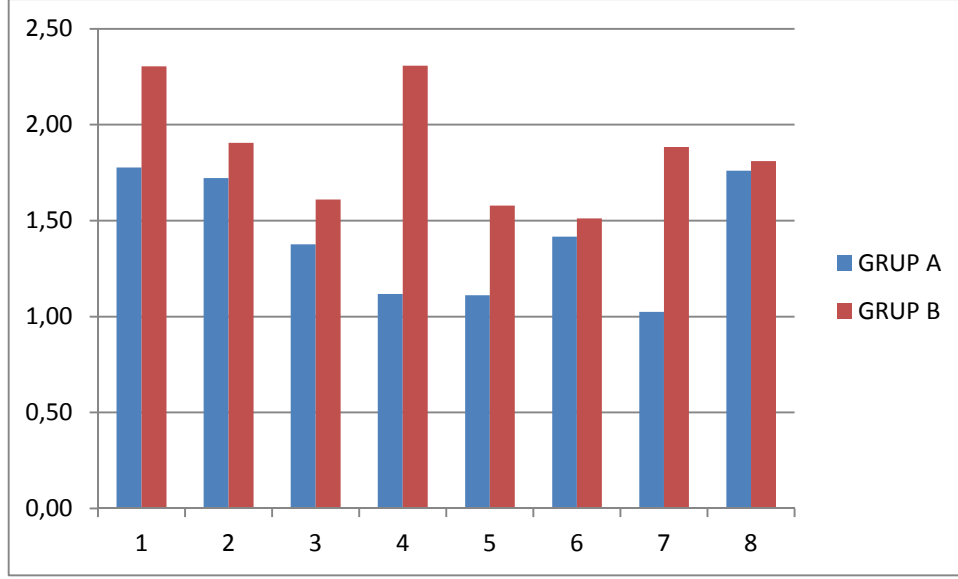
Grup D (iskemik anastomoz + Silostazol) grubunun değeri Grup C (iskemik anastomoz) gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$).

5.2. Doku Hidroksiprolin Düzeyleri ($\mu\text{g}/\text{mg}$ doku)

Anastomoz sonrası 4. gündeki doku hidroksiprolin değerleri ve standart sapmaları Tablo 5’de ve gruplara göre anastomoz patlama basınç değerlerinin dağılımı Grafik 3 ve 4’de gösterilmiştir. Standart anastomoz uygulanan gruplarda doku hidroksiprolin düzeyi silostazol uygulan olgularda 1,51-2,31 $\mu\text{g}/\text{mg}$ arasında tespit edilmişken silostazol uygulanmayan olgularda ise 1,02-1,78 $\mu\text{g}/\text{mg}$ arasında tespit edilmiştir. Standart anastomoz yapılan ratlarda silostazol uygulanan grup ile silostazol uygulanmayan grup arasında doku hidroksiprolin düzeyi değerlerinde istatistiksel olarak fark anlamlı bulundu ($p=0.015$). İskemik anastomoz yapılan gruplarda 1,09-1,39 $\mu\text{g}/\text{mg}$ arasında tespit edilen doku hidroksiprolin düzeyi silostazol uygulamasını takiben 1,59-2,23 $\mu\text{g}/\text{mg}$ düzeyine kadar çıktığı görülmüştür. İskemik anastomoz yapılan ratlarda da silostazol uygulamasının doku hidroksiprolin düzeyinde istatistiksel olarak anlamı artışa yol açtığı tespit edilmiştir ($p<0.001$).

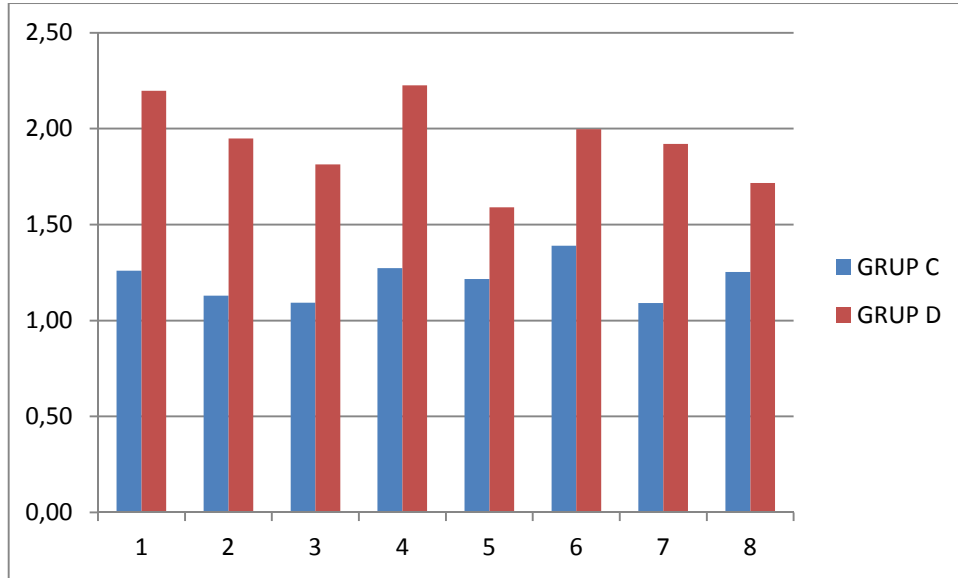
Tablo 5. Anastomoz sonrası 4. gündeki doku hidroksiprolin değerleri ve standart sapmaları

Gruplar	Ort. Doku hidroksiprolin ($\mu\text{g}/\text{mg}$ doku) \pm std sap.	medyan	minimum	maksimum
Grup A	1,4138 \pm 0,31227	1,40	1,02	1,78
Grup B	1,8638 \pm 0,30817	1,8450	1,51	2,31
Grup C	1,2125 \pm 0,10375	1,2350	1,09	1,39
Grup D	1,9275 \pm 0,22115	1,9350	1,59	2,23



Grafik 3. Grup A ve B' ye göre doku hidroksiprolin düzeyi değerlerinin dağılımı.

Hidroksiprolin bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.015$). Grup B (Standart anastomoz + Silostazol) grubunun değeri Grup A (Standart anastomoz) gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu.



Grafik 4. Grup C ve D' ye göre doku hidroksiprolin düzeyi değerlerinin dağılımı

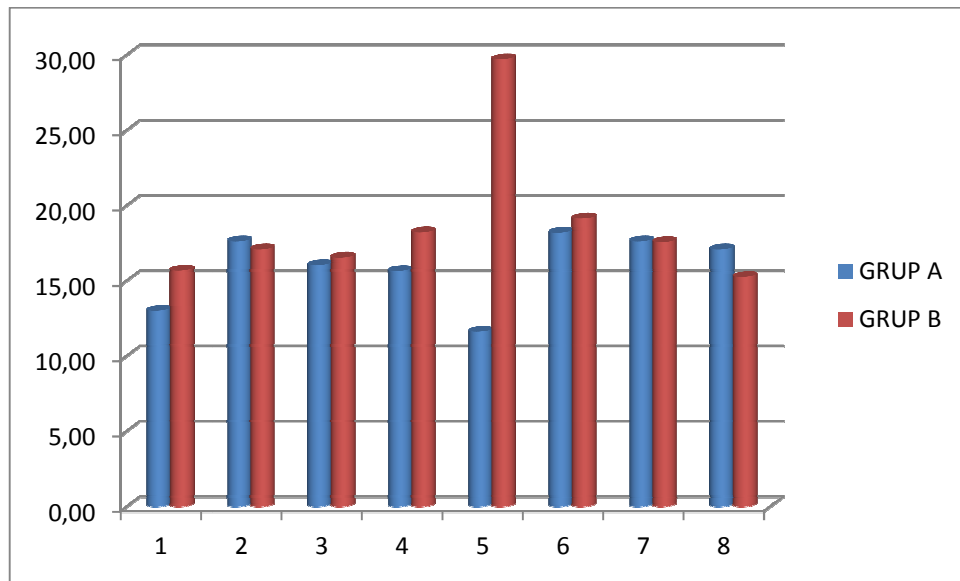
Hidroksiprolin bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). Grup D (iskemik anastomoz + Silostazol) grubunun değeri Grup C (iskemik anastomoz) gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

5.3. SOD (U/mg protein)

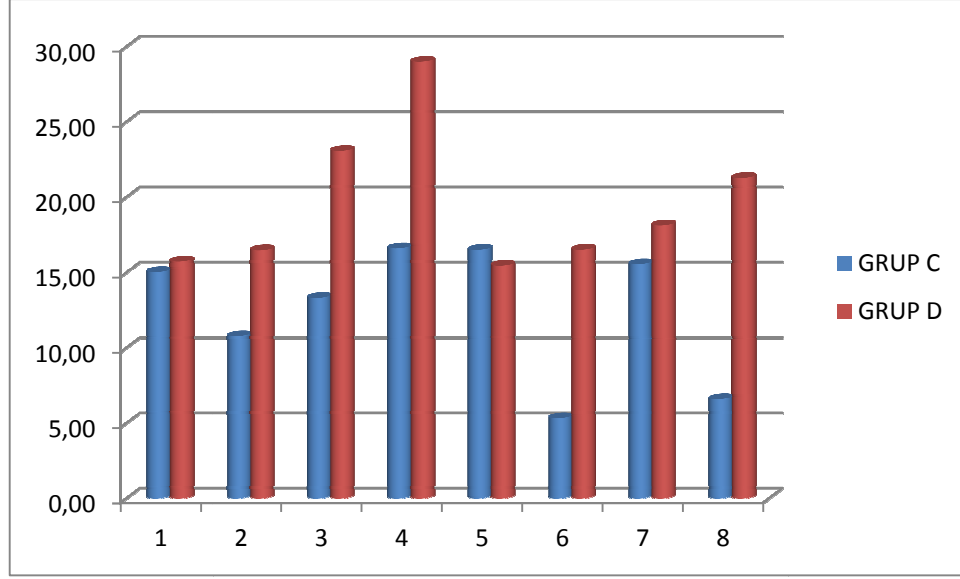
Standart anastomoz uygulanan gruplarda SOD (U/mg protein) düzeyi silostazol uygulanan olgularda 15,26-29,71U/mg protein arasında tespit edilmişken silostazol uygulanmayan olgularda ise 11,62-18,19 U/mg protein arasında tespit edilmiştir. İstatiksel olarak SOD düzeyi açısından standart anastomoz yapılan gruplar arasındaki farkı anlamlı bulunamadı ($p=0.279$). İskemik anastomoz yapılan gruplarda 5,32-16,59 U/mg protein arasında tespit edilen SOD (U/mg) protein düzeyi silostazol uygulamasını takiben 15,45-28,99 U/mg protein düzeyine kadar çıktığı görülmüştür. İskemik anastomoz yapılan olgulardan silostazol uygulanmış olan grubun SOD değeri diğer gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.010$).

Tablo 6. Anastomoz sonrası 4. gündeki doku SOD değerleri ve standart sapmaları.

Gruplar	Ort. SOD değeri \pm std sap.	medyan	minimum	maksimum
Grup A	15,8538 \pm 2,36974	16,56	11,62	18,19
Grup B	18,6500 \pm 4,64610	17,33	15,26	29,71
Grup C	12,4513 \pm 4,44920	14,16	5,32	16,59
Grup D	19,4475 \pm 4,73017	17,3150	15,45	28,99



Grafik 5. SOD bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.279$).



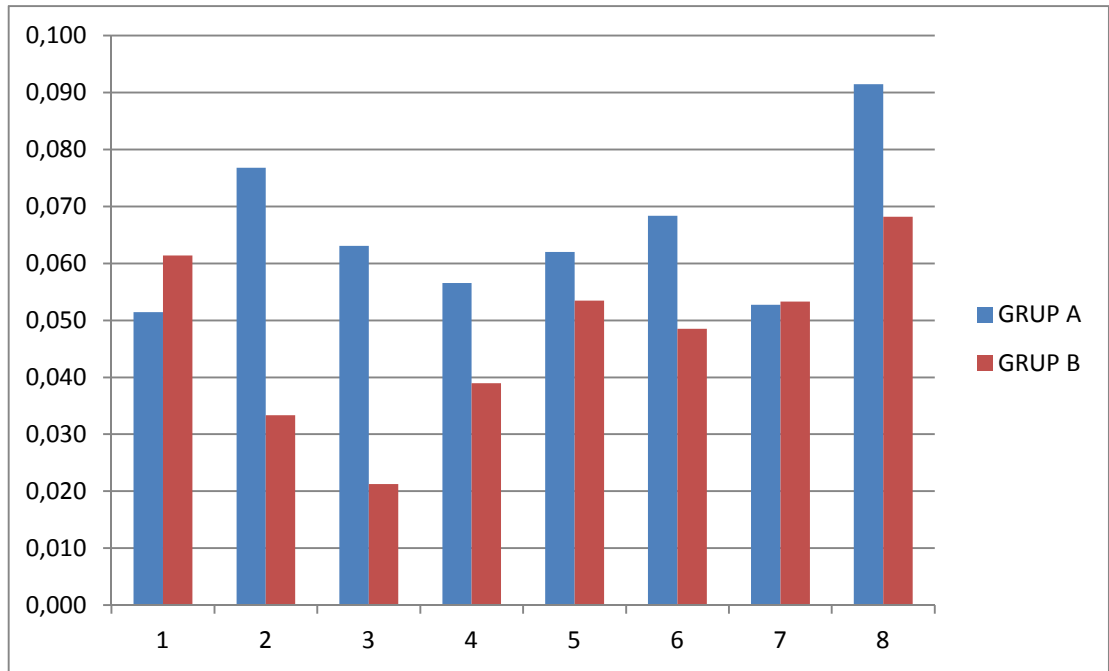
Grafik 6. SOD bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.010$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)’a göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

5.4. MPO (U/ gr doku)

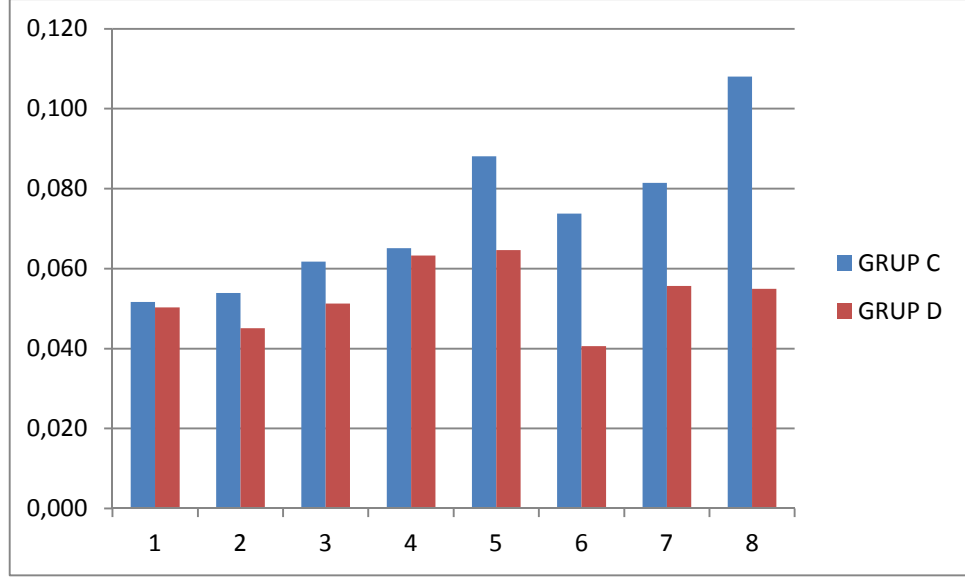
Standart anastomoz uygulanan gruplarda MPO (U/gr doku) düzeyi silostazol uygulanan olgularda 0,02-0,07 U/grdoku arasında tespit edilmişken silostazol uygulanmayan olgularda ise 0,05-0,09 U/gr doku arasında tespit edilmiştir. İstatiksel olarak MPO (U/gr doku) düzeyi standart anastomoz yapılan gruplar arasındaki farkı anlamlı bulundu ($p=0.028$). İskemik anastomoz yapılan gruplarda 0,05-0,11 U/gr doku arasında tespit edilen MPO (U/gr doku) düzeyi silostazol uygulamasını takiben 0,04-0,07 U/gr doku düzeylerinde ölçülmüştür. İskemik anastomoz yapılan olgulardan silostazol uygulanmış olan grubunun MPO değeri diğer gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0.021$).

Tablo 7. Anastomoz sonrası 4. gündeki doku MPO değerleri ve standart sapmaları.

Gruplar	Ort. MPO değeri ± std sap.	medyan	minimum	maksimum
Grup A	0,0653 ± 0,01334	0,0625	0,05	0,09
Grup B	0,0471 ± 0,01535	0,0510	0,02	0,07
Grup C	0,0730 ± 0,01891	0,0695	0,05	0,11
Grup D	0,0533 ± 0,00826	0,0530	0,04	0,07



Grafik 7. MPO bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.028$). Grup B (standart anastomoz+silostazol) değeri Grup A (standart anastomoz)'ya göre anlamlı derecede düşük bulundu.



Grafik 8. MPO bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.021$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede düşük bulundu.

5.5. Histopatolojik İnceleme

Grupların anastomotik yara iyileşmesi, granülasyon dokusu gelişimi ve lokal inflamatuvar cevabın histolojik değişiklikleri Tablo 8 ve 9'da skorlandı.

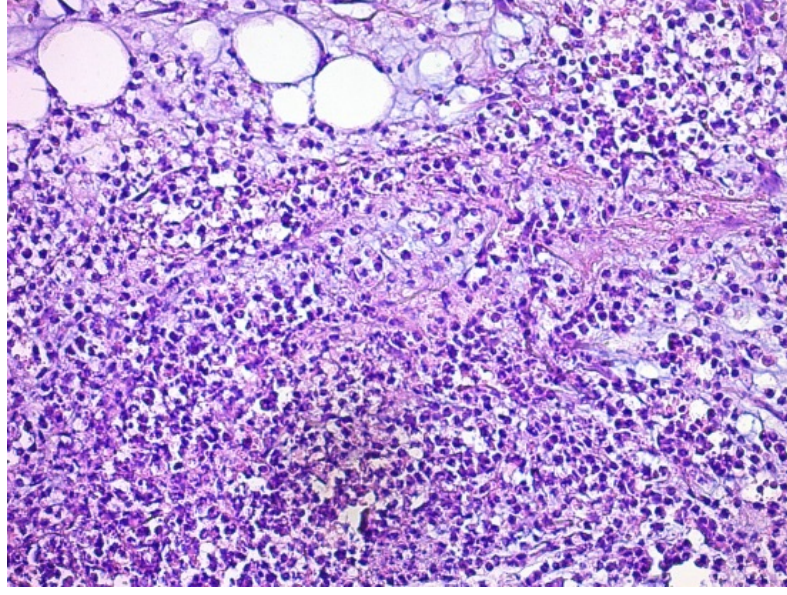
Philips ve arkadaşları tarafından modifiye edilen bir Ehrlich-Hunt sayısal skalası kullanılarak skorlandı.(95) Ayrıca neoanjiyogenezis, fibroblastik aktivite ve kollajen birikimi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu görülmüştür.

Tablo 8. Standart anastomoz yapılan grup ile standart anastomoz yapıp silostazol verilen grubun histopatolojik olarak istatikselsel verileri.

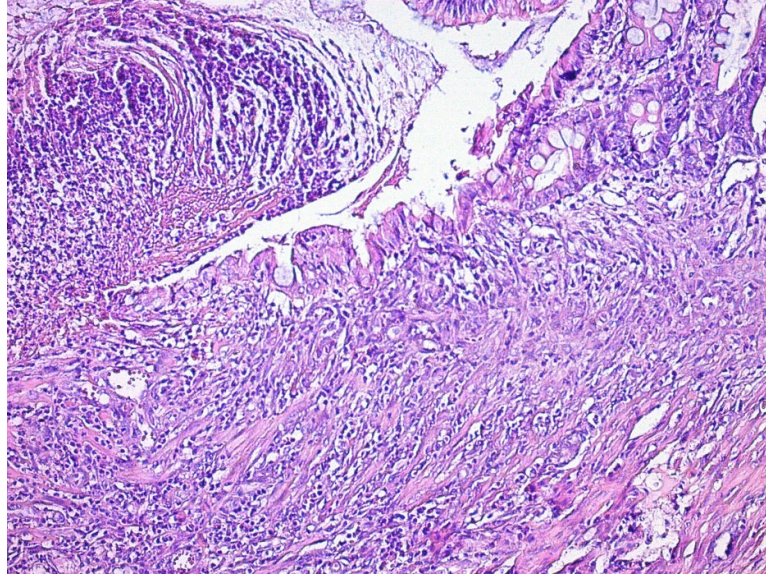
	Grup	Ortalama	N	Standart Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum
<i>Nekroz</i>	Standart anastomoz	1,63	8	,518	2,00	1	2
	Standart anastomoz+ Silostazol	1,25	8	,463	1,00	1	1
<i>PMNL</i>	Standart anastomoz	2,50	8	,756	3,00	1	3
	Standart anastomoz+ Silostazol	2,25	8	,463	2,00	2	3
<i>MNL</i>	Standart anastomoz	2,38	8	,518	2,00	2	3
	Standart anastomoz+ Silostazol	2,00	8	,000	2,00	2	2
<i>Ödem</i>	Standart anastomoz	2,50	8	,535	2,50	2	3
	Standart anastomoz+ Silostazol	2,13	8	,354	2,00	2	3
<i>Mukozal epitel</i>	Standart anastomoz	1,00	8	,535	1,00	0	2
	Standart anastomoz+ Silostazol	1,63	8	,518	2,00	1	2
<i>Sub/muskular is mukoza</i>	Standart anastomoz	1,38	8	,518	1,00	1	2
	Standart anastomoz+ Silostazol	1,63	8	,518	2,00	1	2
<i>Granülasyon dokusu</i>	Standart anastomoz	1,88	8	,354	2,00	1	2
	Standart anastomoz+ Silostazol	2,50	8	,535	2,50	2	3
<i>Neo-anjiyogenezis</i>	Standart anastomoz	1,63	8	,518	2,00	1	2
	Standart anastomoz+ Silostazol	2,63	8	,518	3,00	2	3
<i>Fibroblast</i>	Standart anastomoz	1,50	8	,535	1,50	1	2
	Standart anastomoz+ Silostazol	1,88	8	,354	2,00	1	2
<i>Kollajen depozisyonu</i>	Standart anastomoz	,50	8	,535	,50	0	1
	Standart anastomoz+ Silostazol	1,38	8	,518	1,00	1	2
<i>Adezyon</i>	Standart anastomoz	2,25	8	,886	2,50	1	3
	Standart anastomoz+ Silostazol	1,88	8	,354	2,00	1	2

Tablo 9. İskemik anastomoz yapılan grup ile İskemik anastomoz yapıp silostazol verilen grubun histopatolojik olarak istatikselsel verileri.

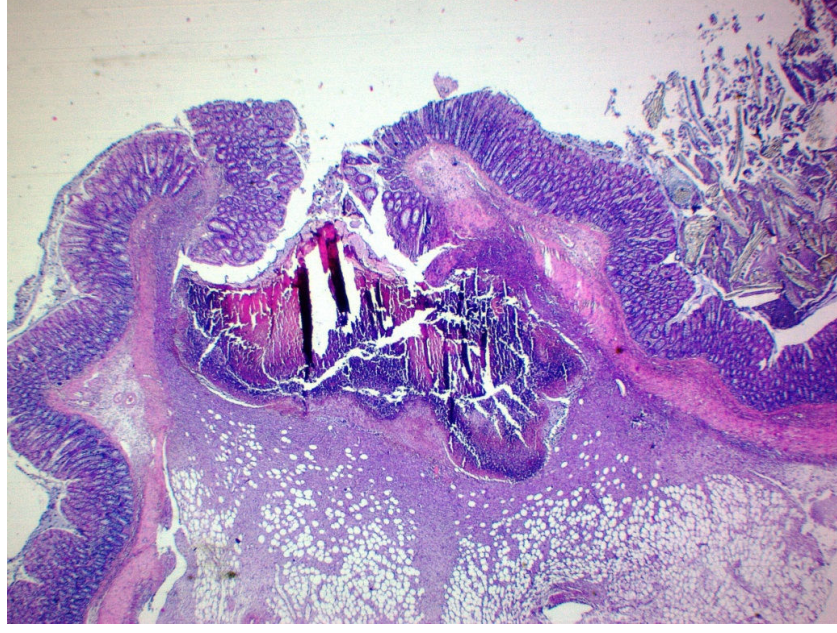
	Grup	Ortalama	N	Standart Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum
<i>Nekroz</i>	İskemik anastomoz	1,63	8	,518	2,00	1	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	1,38	8	,518	1,00	1	2
<i>PMNL</i>	İskemik anastomoz	2,50	8	,535	2,50	2	3
	İskemik anastomoz+ Silostazol	2,25	8	,463	2,00	2	3
<i>MNL</i>	İskemik anastomoz	2,38	8	,518	2,00	2	3
	İskemik anastomoz+ Silostazol	2,13	8	,354	2,00	2	3
<i>Ödem</i>	İskemik anastomoz	2,00	8	,000	2,00	2	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	2,13	8	,354	2,00	2	3
<i>Mukoza epitel</i>	İskemik anastomoz	1,13	8	,354	1,00	1	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	1,25	8	,463	1,00	1	2
<i>Sub/muskularis mukoza</i>	İskemik anastomoz	1,13	8	,354	1,00	1	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	1,38	8	,518	1,00	1	2
<i>Granülasyon dokusu</i>	İskemik anastomoz	2,00	8	,000	2,00	2	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	2,38	8	,518	2,00	2	3
<i>Neo-anjiyogenezis</i>	İskemik anastomoz	1,88	8	,354	2,00	1	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	2,25	8	,463	2,00	2	3
<i>Fibroblast</i>	İskemik anastomoz	1,25	8	,463	1,00	1	2
	İskemik anastomoz+ Silostazol	1,88	8	,354	2,00	1	2
<i>Kollajen depozisyonu</i>	İskemik anastomoz	,38	8	,518	,00	0	1
	İskemik anastomoz+ Silostazol	1,25	8	,463	1,00	1	2
<i>Adezyon</i>	İskemik anastomoz	2,75	8	,886	3,00	1	4
	İskemik anastomoz+ Silostazol	1,50	8	,535	1,50	1	2



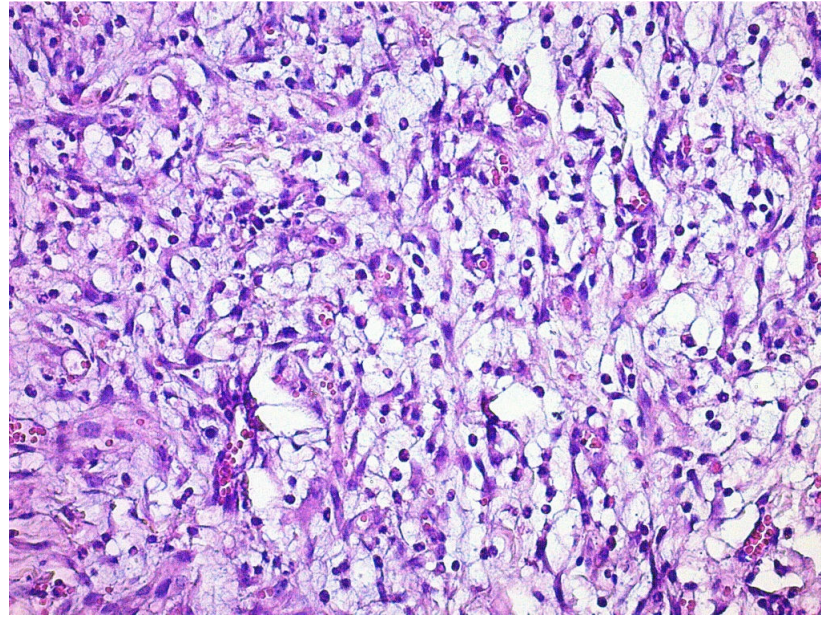
Resim 8. Grup A (Standart anastomoz) olgularına ait mikrofotografda iltihabi granülasyon dokusunda yoğun akut inflamasyon izlenmekle birlikte neovaskülarizasyonun yetersiz olduğu dikkati çekmektedir (Hematoksilen-Eozin, x200).



Resim 9. GRUP B (Standart anastomoz + Silostazol) olgularına ait mikrofotografda yüzeyde inkomplet epitelizasyon, stromada ise orta derecede mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu görülmektedir. Subepitelyal alanda fibroblast maturasyonu ve ekstrasellüler kollajen birikimi dikkati çekmektedir (Hematoksilen-Eozin, x100).

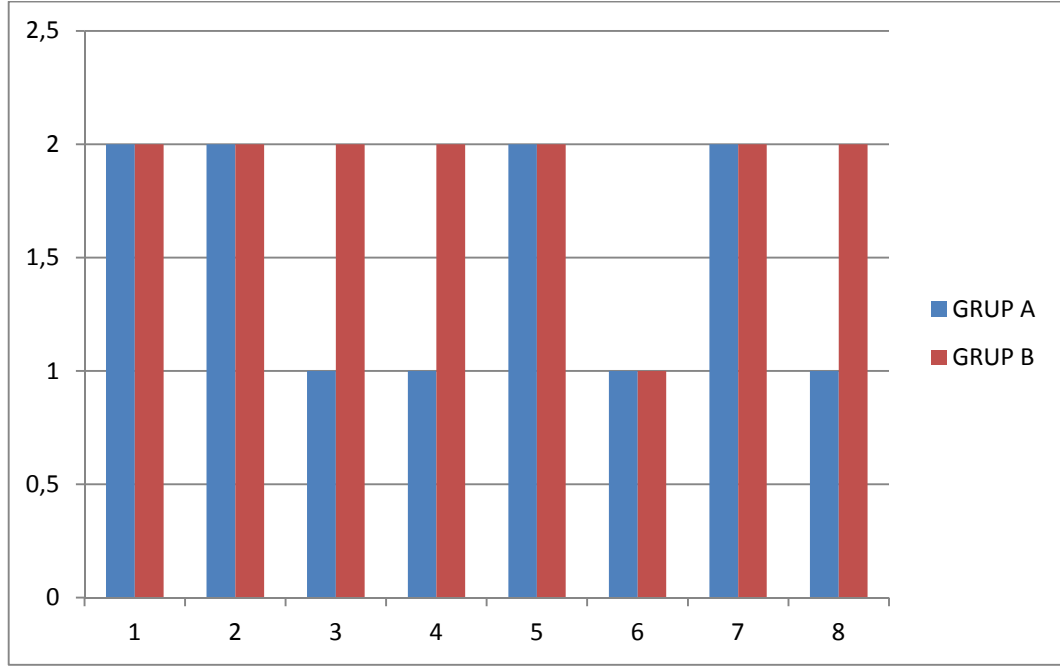


Resim 10. GRUP C: (İskemik anastomoz) olgularına ait mikrofotografda anastomoz hattında epitelizasyonun olmadığı dikkat çekmektedir. Defekt alanında yoğun akut inflamasyon içeren derin ülser krateri izlenmektedir (Hematoksilen-Eozin, x50).

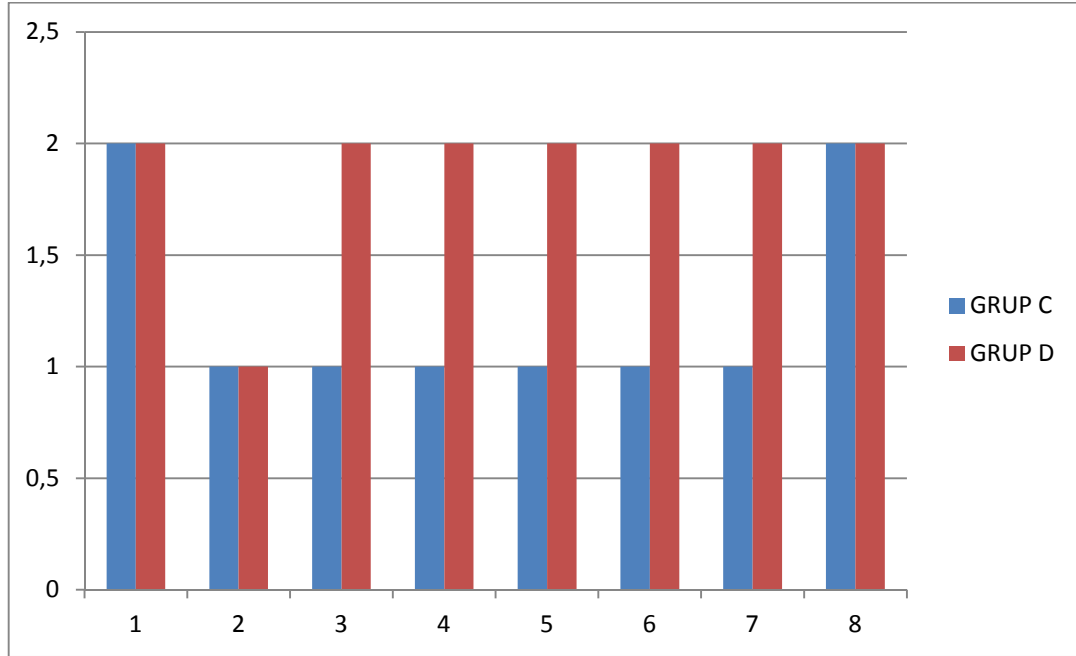


Resim 11. GRUP D: (İskemik anastomoz + Silostazol) olgularına ait mikrofotografda orta derecede kronik tipte inflamasyon yanı sıra çok sayıda yeni gelişmiş damar yapıları izlenmektedir (Hematoksilen-Eozin, x200).

5.5.1. Fibroblast maturasyonu

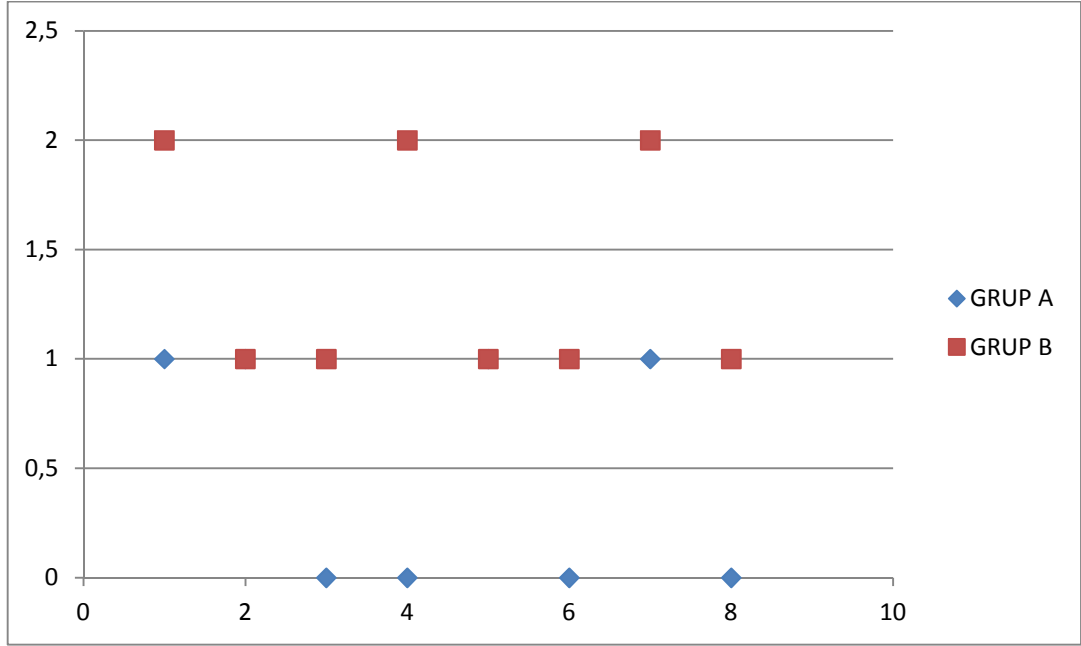


Grafik 9. Fibroblast maturasyonu bakımından gruplar (GRUP A ve GRUP B) arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p= 0.234$).

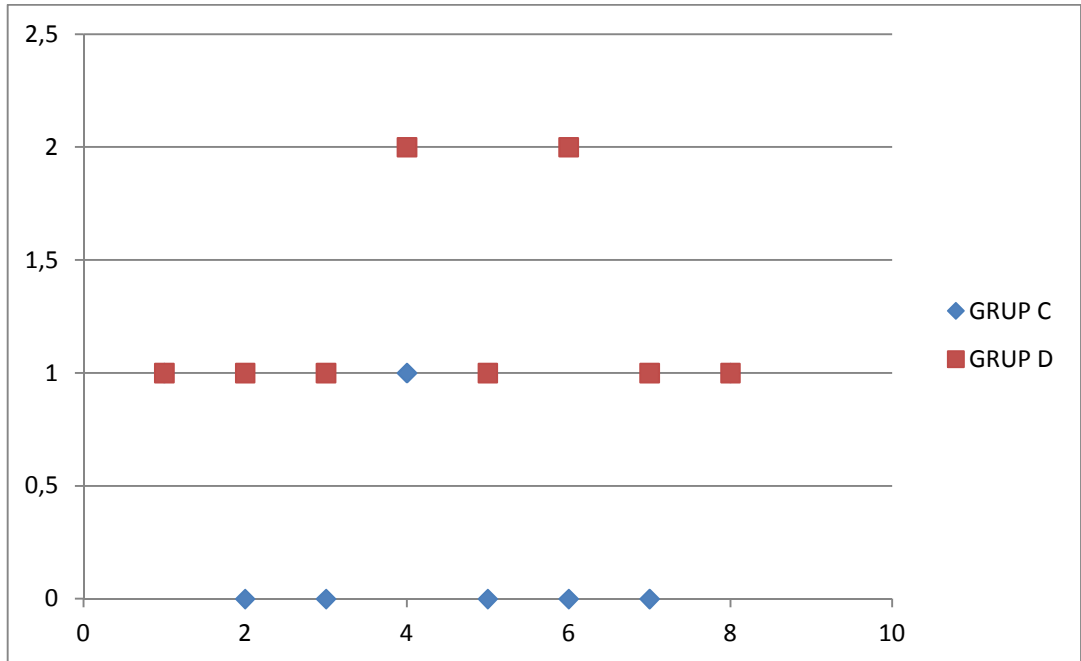


Grafik 10. Fibroblast maturasyonu bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p= 0.038$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

5.5.2. Kollajen depozisyonu

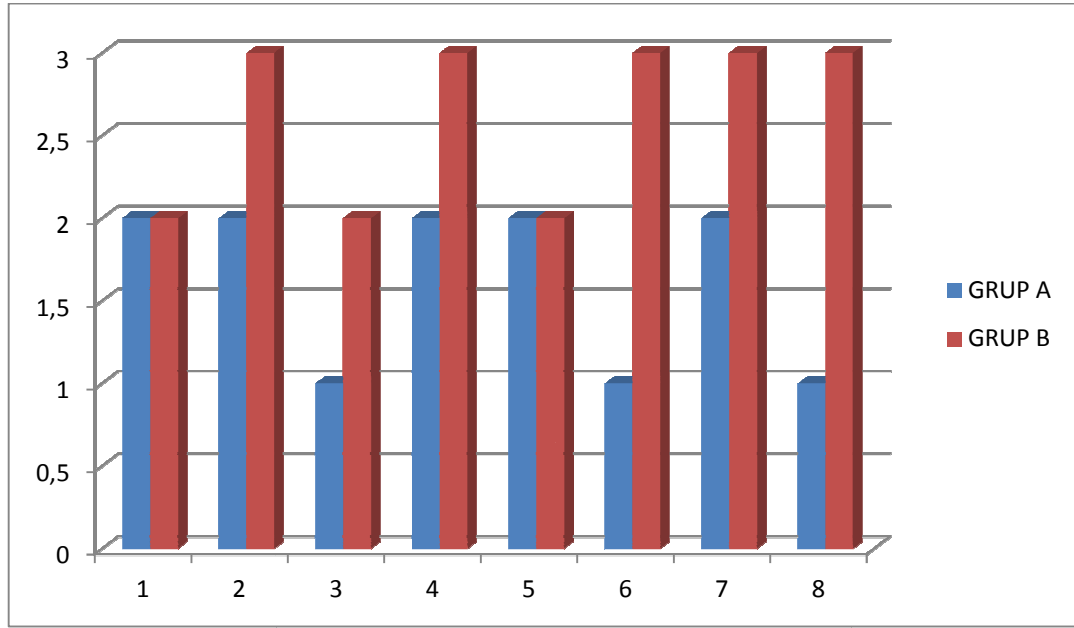


Grafik 11. Kollajen depozitleri bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.021$). Grup B (standart anastomoz+silostazol) değeri Grup A (standart anastomoz)'ya göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

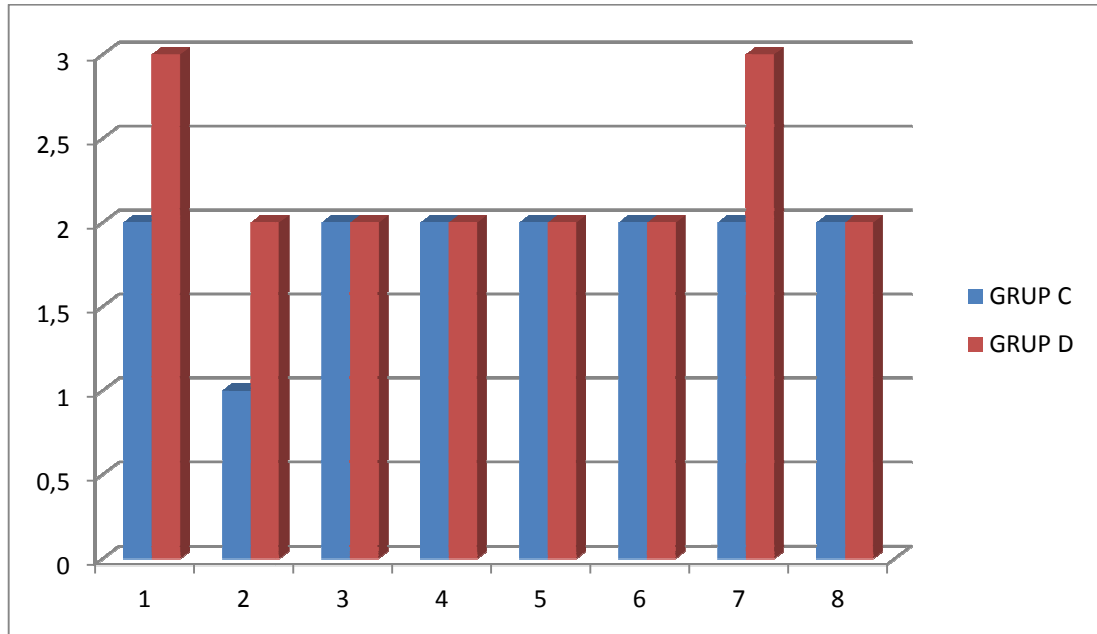


Grafik 12. Kollajen depozitleri bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.015$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

5.5.3. Neoanjiyogenezis

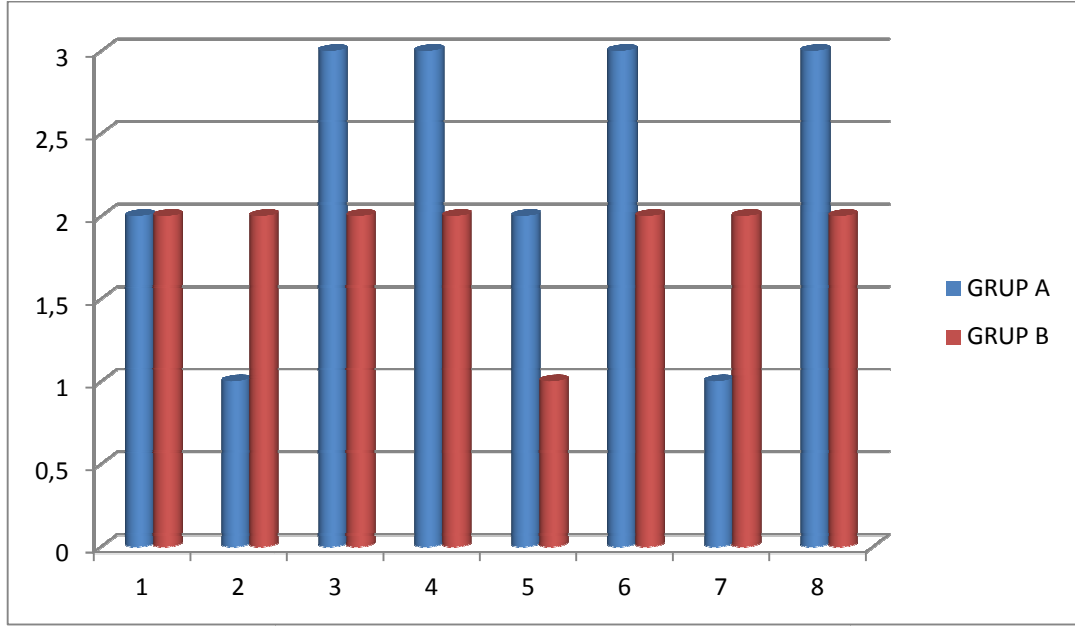


Grafik 13. Neoanjiyogenezis bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.007$) Grup B (standart anastomoz+silostazol) değeri Grup A (standart anastomoz)'ya göre anlamlı derecede yüksek bulundu.

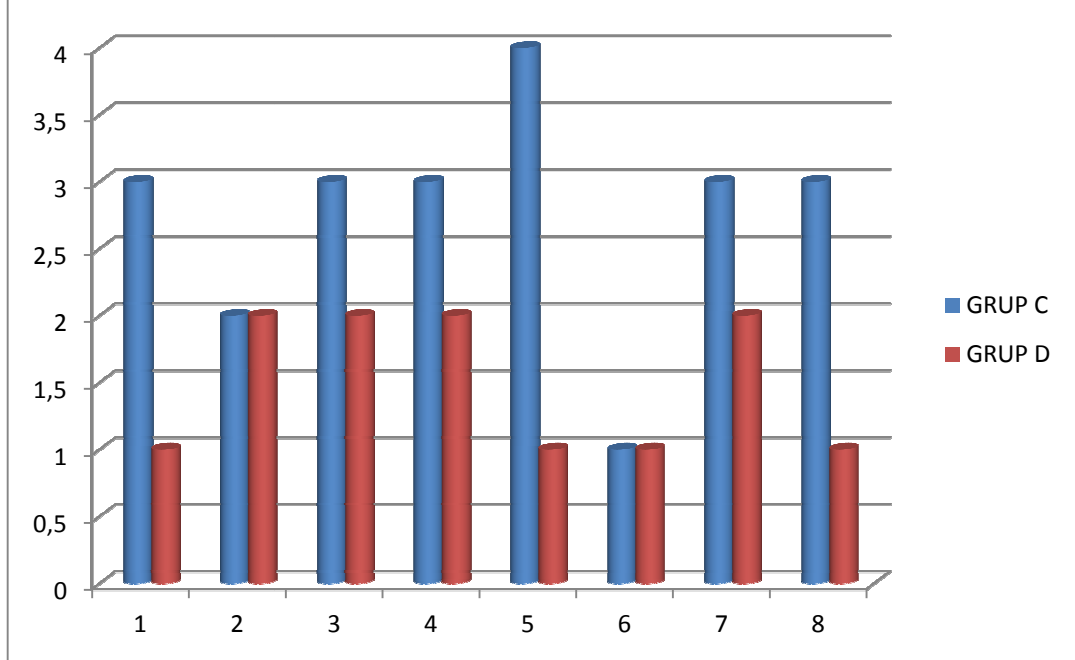


Grafik 14. Neoanjiyogenezis bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.279$).

5.5.4. Adezyon



Grafik 15. Adezyon bakımından gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p=0.328$).



Grafik 16. Adezyon bakımından iki grup arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.010$). Grup D (iskemik anastomoz+silostazol) değeri Grup C (iskemik anastomoz)'a göre anlamlı derecede düşük bulundu.

6.TARTIŞMA

Gastrointestinal sistem ameliyatlarında özellikle de kolon ameliyatlarında en sık görülen komplikasyonlarından biri anastomoz kaçaklarıdır (3). Anastomoz kaçakları yüksek morbidite ve mortaliteye neden olurlar. Günümüzde bu oran eskiye göre azalmakla birlikte hala azımsanmayacak kadar görülmektedir. Anastomoz hattında gerilim olmaması, yeterli kanlanma olması, profilaktik antibiyotik tedavisi ile birlikte etkili bir mekanik barsak hazırlığı yapılması, intestinal içeriğin karın içine bulaşının engellenmesi, uygun teknik ve suture materyali seçimi ile bunların yanında hastayla ilgili olan faktörler; yaş, obezite, malnütrisyon, üremi gibi etkenler anastomoz iyileşmesinde önemli olan faktörlerdir(42, 12, 77, 29). Ayrıca acil şartlarda ve iskemi durumunda kaçak riski oldukça artmıştır.(8) Fielding ve arkadaşları inceledikleri geniş vaka serisinde anastomoz kaçığı oranı %13 olarak bulmuştur. Başka bir çalışmada kaçığın radyolojik olarak incelenmesinde bu oranının %51'e dek yükselebildiği belirtilmiştir (9).

Dokunun yeterli oksijenizasyonu yara iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Kan hacmi, doku perfüzyonu ve arteriyal oksijen doygunluğu dokunun yeterli oksijenizasyonu için gereklidir. Kolonik anastomoz kaçaklarını engellemek adına çok çeşitli maddeler kullanılmıştır; koyun barsağı, kıkırdak plaklar, kaz trakeası, ham deri gibi. Bunların yanında değişik ilaçlar, cerrahi teknikler, protezler, yapıştırıcı maddeler de denenmiştir (13, 78, 79, 53, 80, 12, 81 82).

Madden ve arkadaşları yara iyileşmesinde kollajen miktarının yanı sıra, kollajenin sentez ve lizis oranlarının da bilinmesinin gerekliliğini savunmuştur (83). Cronin bir çalışmasında, anastomoz sonrası 3. günden itibaren anastomoz patlama basıncı için uygulanan kuvvetin giderek arttığını ve 7–10. günlerde en üst seviyeye ulaştığı, yine ilk 3 günde hidroksprolin miktarının %40 azaldığını ve 5. günde normale yaklaştığı, 10–14. günlerde normalin de üzerinde olduğunu bildirmiştir (84). Bir diğer çalışmada Jiborn ve arkadaşları kolon cerrahisi sonrası tüm kolonda kollajen miktarının azaldığını göstermiştir. Ameliyat sonrası ilk 4 gün içinde kollajen lizisi daha fazla iken 7. günde sentezin daha fazla olduğunu belirtmiştir. Sonuç olarak kollajen sentez ve yıkımdaki denge yara iyileşmesinde önemli bir tutar (85).

Doku yıkım ürünleri yara iyileşmesine olumlu etkiler sağlar. Doku yıkım sürecinde PGE1 nin yüksek konsantrasyonlarda olması nötrofiller üzerinden etki ederek erken fazdaki aşırı yıkımı engeller (86, 87).

Nötrofiller yara bölgesine ilk 3 saat içerisinde varırlar. Doku yıkımını da matriks metalloproteinazlarıyla (MMP-1, MMP-2 ve 9), yaparlar. Yıkım ve sentezin içi içe olduğu bu süreç yara iyileşmesinde önemli bir yer tutar (87, 88).

Anastomoz hattındaki kollajen miktarı anastomozun dayanıklılığını gösterir. Anastomoz hattındaki kollajen miktarını da doku hidroksprolin düzeyi ile belirlenebilir. Hipoksi varlığında hidroksprolinde azalma bilinen bir gerçektir. Bu çalışmada standart anastomoz uygulanan ratlarda; silostazol verilen grubunun doku hidroksprolin değeri sadece standart anastomoz yapılan gruba göre anlamlı anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.015$). İskemik anastomoz uygulanan ratlarda ise silostazol verildiğinde, silostazol verilmeyen iskemik anastomozlu ratlara göre doku hidroksprolin değeri anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). Silostazol böylesine bir etki oluşturması hidroksprolin konfigürasyonu üzerindeki etkisinin olumlu oluşunu düşündürmektedir.

Hendriks ve arkadaşları bir çalışmalarında barsak segmentinin artan intraluminal basınca karşı koyduğu duvar direnci olan patlama basıncının anastomoz iyileşmesinde çok önemli bir yer tuttuğunu göstermiştir. (89) Anastomoz için patlama basıncı yara iyileşmesinin 2-3günlerinde en düşük düzeyde olmasına karşın 7. günde ameliyat öncesi düzeye ulaşır (90, 91.). Yara iyileşmesinin erken döneminde kollajen düzeyindeki düşüş nedeniyle sütür materyali ve cerrahi teknik bu önemde çok önem arz eder. Bu durumu ortadan kaldırmak için bu çalışmada bütün anastomozlar aynı teknik kullanılarak ve aynı cerrah tarafından yapılmıştır. Bütün bunların ışığında silostazolun yara iyileşmesinde önemli yer tutan patlama basıncı üzerindeki etkisini ortaya konmuştur. Standart anastomoz yapıp fosfodiesteraz III inhibitörü verilen (Silostazol) grubunun patlama basıncı değerleri yalnızca standart anastomoz yapılan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.001$). Aynı şekilde iskemik anastomoz yapılarak fosfodiesteraz III inhibitörü (Silostazol) verilen grubun patlama basıncı değerleri iskemik anastomoz uygulanan grubunun patlama basıncı değerlerinden anlamlı derecede yüksek bulundu.

Yara iyileşmesinde anjiyogenez vazgeçilmezdir. Anjiogenezisin yetersiz olması iskekiye hatta organ yetmezliğine neden olabilir. Anjiogenezis proliferasyon fazında kapiller gelişimi ile olur. Bu dönemde etkin olan hücreler endotel hücreleri ve fibroblastlardır. Endotelyal hücreler anjiogenezisten, fibroblastlar ise yeni kollajen oluşumundan sorumludurlar. Silostazolun endotelyal hücre proliferasyonunu in vivoda arttırdığını Hwa Kyoung Shin ve arkadaşları ispatlamışlardır (60). Y. TANAKA ve arkadaşlarının bir çalışmasında Silostazol beyin iskemik hacmini düşürmekte, nörolojik defisitini iyileşmesini hızlandırmakta, ve peri infarkt alandaki yeni üretilen hücrelerin proliferasyonunu arttırmaktadır (92). Standart anastomoz yapılan ratlarda fosfodiesteraz III inhibitörü (silostazol) verilen ratlarda neoanjiyogenezis oluşumunun fosfodiesteraz III inhibitörü (silostazol) verilmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.007$). Fakat iskeki oluşturulan ratlarda anastomoz hattında neoanjiyogenezis açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p=0.279$).

Bu çalışmada silostazol uygulamasının iskemik anastomozda kolonik patlama basıncını ve doku hidroksiprolin düzeyini anlamlı olarak arttırdığı, mukozal iskeki oranını azalttığı, inflamatuvar infiltrasyonunu azalttığı görüldü.

7. SONUÇ

Kolon cerrahisinde anastomoz vazgeçilmezdir. Anastomoz kaçakları çeşitli morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Anastomoz iyileşmesini lokal ve sistemik birçok faktör etkileyebilmektedir. Anastomoz kaçakları tedavi süresini ve şeklini değiştirmekte bu da hem hastaya, hem hekime hem de ülke ekonomisine ayrıca bir külfet oluşturmaktadır. Bu nedenle anastomoz güvenliği konusu bütün kolorektal cerrahlarının ilgi odağı olmaktadır. Bu çalışmada bir fosfodiesteraz III inhibitörü olan silostazolun anastomoz güvenliği ve yara iyileşmesi üzerindeki etkisini araştırmak için bu çalışmayı yaptık.

Deneysel iskemik kolon anastomozu modelinde silostazol uygulamasının patlama basınçları, hidroksprolin düzeyleri, biyokimyasal ve histopatolojik parametrelere olumlu etki yaparak anastomoz iyileşmesini arttırdığı görülmüştür. Doza bağlı değişikliklerin incelenebilmesi, iskemi etkisini azaltan doku koruyucu etki mekanizmasının ortaya konabilmesi ve neovaskülarizasyon, inflamasyon, kollajen metabolizması ile iyileşmenin potent hücreleri üzerinde oluşturduğu olumlu etkiye neden olan hücresel olayların aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

- 1) Bozfakioğlu Y, Müslümanoğlu M. Kolon hastalıkları. Ed: Ü Değerli, YBozfakioğlu. Cerrahi Gastroenteroloji, 3. Baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1990; 142-168
- 2) Skandalakis JE, Kingsnorth AN, Colborn GL, et al. Large intestine and anorectum. Ed: JE Skandalakis. Skandalakis' Surgical Anatomy: The Embryologic and Anatomic Basis of Modern Surgery. Medical Publications Ltd, Greece, 2004; Vol II: 861-936
- 3) Hansen O, Schwenk W, HucKe HP, Stock W. Colorectal stapled anastomoses. Experiences and results. DisColonRectum 1996; 39: 30-6.
- 4) Brasken P. Healing of experimental colon anastomosis. Eur J Surg 1991;566 (Suppl):1-51.
- 5) Romolo J.L., Embryology and anatomy of the colon, Shackelford's Surgery of the alimentary Tract, Ed: George D. Zuideman 1996:(4):3-16.
- 6) Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. Br J Surg 1985;72:606-9.
- 7) Brasken P, Lehto M, Renvall S. Changes in connective tissue composition of the submucosal layer of colonic anastomosis. An immunohistologic study in rats. Acta Chir Scand 1989; 155:413-419.
- 8) Schrock TR, Deveney CW, Dumphy JE. Factors contributing to leak age of colonic anastomoses. AnnSurg 1973;177:513-8.
- 9)Fielding LP, Stewart-Brown S, Bleosovski L, Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large bowel cancer: a multicenter study. BrMed J 1980; 28: 411-4.

- 10) Nicholson ML, Beard JD, Horrocks M. Intra-operative inflow resistance measurement: a predictor of steal syndromes following femoro-femoral bypass grafting. *Br J Surg* 1988; 75: 1064-6.
- 11) Evenson AR, Shrikhande G, Fischer JE. Abdominal abscess and enteric fistula. Ed: MJ Zinner, SW Ashley. *Maingot's Abdominal Operations*, 11th edition. McGraw-Hill Companies, Inc, USA, 2007; 179-199
- 12) Kahya AS. Kolon obstrüksiyonu nedeniyle uygulanan rezeksiyon sonrası, düşük molekül ağırlıklı heparin, papaverin ve pentoksifilin anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri. *Uzmanlık Tezi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2001*
- 13) Ersoy YE. Sıçanlarda sol kolon anastomozunda, anastomoz iyileşmesi ve klemp hattı perfüzyonuna pentoksifilin ve papaverinin etkileri. *Uzmanlık Tezi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2003.*
- 14) Chang GJ, Shelton A, Schrock TR, et al. Large intestine. Ed: LW Way, GM Doherty. *Current Surgical Diagnosis and Treatment*, 11th edition. McGraw-Hill Companies, Inc, New York, 2003; 705-755.
- 15) Shikata J, Shida T. Effect of tension on local blood flow in experimental intestinal anastomoses. *J Surg Res* 1986; 40:105.
- 16) Takanishi DM, Michelassi F. Concepts in surgery of the large intestine. Ed: CEH Scott-Conner. *Chassin's Operative Strategy in General Surgery*, 3rd edition. Springer-Verlag, New York, 2002; 361-382.
- 17) Schilling JA. Wound Healing. *Surgical Clinics of North America*. 1976; 56 (4): 859-874
- 18) B kılıçoğlu, S kılıçoğlu, vç eren - sd ü. *Tıp fak. Derg*, 2005 12(1)/67-76.
- 19) Uluocak K. Kolon anastomoz yetmezliklerinin sebepleri ve önlenmesi. *Dirim* 1992; 67 sayı 1-2 sayfa: 34-42 13. Pablo Parra-Membrives.
- 20) Kirsner RS, Eaglstein WH. *Dermatologic Clinics*. 1993; 11 (4): 629-640.

- 21) Genel Cerrahi Cilt-1. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Konu 4. Yara İyileşmesi 51-68.
- 22) Christensen H, Chemnitz J, Christensen BC, Oxlund H. Collogenstructural organization of healing colonicanastomosesandtheeffect of growthhormone treatment. Dis. ColonRectum. 1995; 38:11
- 23) P.C.Champe, R.A. Harvey. Lippincott's İllustrated reviews serisinden: Biyokimya. Esmâ Gür (Çeviren). 2. baskı, İstanbul; 1997. 38-43.
- 24) Sayek İ. Temel Cerrahi. Engin A. 3. baskı, Ankara; 2004. 322-323.
- 25) Tali U. "Kore Redginsengi'nin ratlarda deneysel sağ kolonik anastomoz iyileşmesi üzerie etkisi" Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel cerrahi, Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2013.
- 26) Thorntorn FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg Clin North Am 1997; 77: 549-73.
- 27) Herrmann JB, Woodward SC, Puasky EJ. Healing of colonic anastomoses in the rat. Surg Gynecol Obstet. 1964; 119(2): 269-275.
- 28) Lavery I. Colonic Fistulas. Clin North Am 1996; 76: 1183-91.
- 29) Giray S. Preoperatif radyoterapi uygulanmış sıçanlarda kolon anastomozuna hiperbarik oksijen ve pentoksifilinin etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2000 İstanbul.
- 30) Ellison G. Wound healing in the gastrointestinal tract. Semin Vet Med Surg 1989; 4: 287-92.
- 31) Dizerega GS. The peritoneum and its response to surgical injury. Prog Clin Biol Res 1990; 358: 1-11.
- 32) La Calle JP, Sole JM, Pey GC, Garcia GP. Rotated intestinal anastomoses. Surg Gynecol Obstet 1982; 154: 662-6.

- 33) Hojer H, Wetterfors J. Systemic prophylaxis with doxycycline in surgery of the colon and rectum. *Ann Surg* 1978; 187:362-364.
- 34) Wang P, Ba ZF, Galardy RE, et al. Administration of a matrix metalloproteinase inhibitor after hemorrhage improves cardiovascular and hepatocellular function. *Shock* 1996; 6:377-382.
- 35) Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Mechanical and biochemical alterations in the intestinal wall adjacent to an anastomoses. *Am J Surg.* 1986;151:387-390.
- 36) Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Changes in collagen content of the small intestinal wall after anastomosis. *Am J Surg.* 1985;150:315-317.
- 37) Podolsky DK, Review article: Healing after inflammatory injury- Coordination of a regulatory peptide network. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:87-93.
- 38) Engin A. Yara iyileşmesi Temel Cerrahi Ed . Sayek İ. Güneş kitabevi Ltd Şti Ankara 1993, s:185.
- 39) Betz P., Nerhich a., Wilske J., Tübel J., Penning R., Eisermenger W. Immunohistochemical localization of collagen types I and VI in human skin wounds. *Int J Leg Med* 1993; 106:31-34.
- 40) Irvin T.T. Wound healing. Principles and practice. Chapman and Hall, London, 12-36, 1981.
- 41) Carrico TJ, Mehrhof Jr. AI, Cohen IK. Biology of Wound Healing. *Surgical Clinics of North America.* 1984; 64(4): 721-733.
- 42) Yarımkaaya A. İskemik kolon modelinde anastomoz iyileşmesine büyüme hormonu ve anabolic steroidlerin etkileri. Uzmanlık Tezi 2000
- 43) Foster ME, Laycock JRD, Silver IA. Hypovolemia and healing in colonic anastomoses. *Br. J. Surg.* 1985; 72:831
- 44) T.Karahasanoğlu, E.Altınlı, İ.Hamzaoğlu, M.Paksoy, T.Yeşildere, K.Alemdaroğlu. Effect of growth hormone treatment on the healing of left colonic

anastomoses in protein-malnourished rats. *British Journal of Surgery* 1998, 85, 931-933.

45) Chung RS. Blood flow in colonic anastomoses. Effect of stapling and suturing. *Ann Surg.* 1987;206:335.

46) Sheridan WG, Lowndes R, Young HL Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum.* 1987; 30:867.

47) Cömert M, Taner İF, Tekin E,. The Effect of pentoxifylline on the healing of intestinal anastomoses in rats with obstructive jaundice. *Surg Today* 2000; 30: 896-902.

48) Gude RP, Binda MM, Boquete AL, Bonfil RD. İnhibition of endotelial cell proliferation and tumor- induced angiogenesis by pentoxifylline. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 625-630.

49) Biert J, Senfert W, de Man B, et al. Combined preoperative irradiation and local hyperthermia delays early healing of experimental colonic anastomoses. *Arch Surg.* 1996; 131:1037.

50) Ahrendt GM, Tantry US, Barbul A. İntraabdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg.* 1996; 171: 102.

51) Feathers RS, Lewis AAM, Sagor GR, Amirak JD, Noone P. Prophylactic systemic antibiotics in colorectal surgery. *Lancet.* 1977; 8027:4-8(abstract) Nichols RL, Condon RE. Preoperative preparation of the colon. *Surg Gynecol Obstet.* 1971; 132(2): 323-327.

52) Hawley PR, Hunt TK, Dunphy JE. Etiology of colonic anastomoses. *Proc R Soc Med.* 1970; 63: 28-30.

53) Witte MB, Barbul A. Repair of full-thickness bowel injury. *Crit Care Med* 2003; 31:538-546.

- 54) Ethridge RT, Loeng M, Phillips LG. Wound healing. Ed: CM Townsend, RD Beauchamp, BM Evers, KL Mattox. Sabiston Textbook of Surgery, 18 th edition. Saunders, an imprint of Elsevier Inc, Philadelphia, 2008; 191-216.
- 55) Gökpınar İ, Gürleyik E, Pehlivan M, et al. Erken enteral ve glutaminli enteral beslenmenin kolon anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi: Deneysel çalışma. Ulus Travma Derg 2006; 12:17-21.
- 56) Buğra D. Anatomi. Ed: K Alemdaroğlu, T Akçal, D Buğra. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları, 2. baskı. Tasarım, Ofset Hazırlık, İstanbul, 2004; 1- 10.
- 57) Snell RS. The abdomen: Part II, The abdominal cavity. Ed: RS Snell. Clinical Anatomy for Medical Students, Fourth edition. Little, Brown and Company, USA, 1992; 207-305.
- 58) Kuzu MA, Ensari CÖ. Kolon, rektum ve anüs cerrahisi sonrası gelişen komplikasyonlar. Ed: İ Sayek. Temel Cerrahi, 3. baskı. Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 2004; 1278-1292.
- 59) Stumpf M, Cao W, Klinge U, et al. Collagen distribution and expression of matrix metalloproteinases 1 and 13 in patients with anastomotic leakage after large-bowel surgery. Langenbecks Arch Surg 2002; 386:502-506.
- 60) Hwa Kyoung Shin, Hye Rin Lee, Dong Hyung Lee, Cilostazol Enhances Neovascularization in the Mouse Hippocampus After Transient Forebrain Ischemia Journal of Neuroscience Research 88:2228–2238 (2010).
- 61) Hashimoto A, Miyakoda G, Hirose Y, Mori T. 2006. Activation of endothelial nitric oxide synthase by cilostazol via a cAMP/protein kinase A- and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent mechanism. Atherosclerosis 189:350–357.
- 62) Kimura Y, Tani T, Kanbe T, Watanabe K. 1985. Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. Arzneimittelforschung 35:1144–1149.

- 63) Cleanthis M. , Bhattacharya V., Smout J., Ashour H., Stansby G. Combined aspirin and Cilostazol Treatment is Associated with Reduced Platelet Aggregation and Prevention of Exercise-Induced Platelet Activation; *Eur J Vasc Endovasc Surg* (2009) 37, 604e610.
- 64) Tjon JA, Riemann LE. Treatment of intermittent claudication with pentoxifylline and cilostazol. *Am J Health Syst Pharm* 2001 Mar 15;58(6):485e93 [quiz 494e6].
- 65) Kariyazono H, Nakamura K, Shinkawa T, Yamaguchi T, Sakata R, Yamada K. Inhibition of platelet aggregation and the release of P-selectin from platelets by cilostazol. *Thromb Res* 2001 Mar 15; 101(6):445e53.
- 66) Wilhite DB, Comerota AJ, Schmieder FA, Throm RC, Gaughan JP, Rao AK. Managing PAD with multiple platelet inhibitors: the effect of combination therapy on bleeding time. *J Vasc Surg* 2003 Oct;38(4):710e3.
- 67) Choi JM, Shin HK, Kim KY, Lee JH, Hong KW (2002) Neuroprotective effect of cilostazol against focal cerebral ischemia via antiapoptotic action in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 300:787–793.
- 68) Ito H, Hashimoto A, Matsumoto Y, Yao H, Miyakoda G (2010) Cilostazol, a phosphodiesterase inhibitor, attenuates photothrombotic focal ischemic brain injury in hypertensive rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 30:343–351.
- 69) Uzunov, P. and Weiss, B.: Separation of multiple molecular forms of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase in rat cerebellum by polyacrylamide gel electrophoresis" *Biochim. Biophys. Acta* 284:220-226, 1972.
- 70) Weiss, B.: Differential activation and inhibition of the multiple forms of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Adv. Cycl. Nucl. Res.* 5:195-211, 1975.
- 71) Fertel, R. and Weiss, B.: Properties and drug responsiveness of cyclic nucleotide phosphodiesterases of rat lung" *Mol. Pharmacol* 12:678-687, 1976.

- 72) Jamall IS, Finelli UN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues. *Anal Biochem.* 1981;112:70-75.
- 73) Yi-Sun, S., Oberley, L.W. Li , Y.: A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clin. Chem.*, 34 (13) , 497-500 . (1988).
- 74) Witko-Sarsat V, Friedlander M, Khoa TN, Capeillère-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, Dayer JM, Jungers P, Drüeke T, Descamps-Latscha B. Advanced Oxidation Protein Products as Novel Mediators of Inflammation and Monocyte Activation in Chronic Renal Failure. *J Immunol.* 1998; 161: 2524-32.
- 75) Bradley P, Priebat D , Christensen R , Rothstein G . 1982 . Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker . *Journal of Investigative Dermatology* 78 : 206 – 209 .
- 76) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Biochem* 193: 145-157.
- 77) Thornton FJ, Barbul A. Healing in the Gastrointestinal Tract. *Surgical Clinics of North America.* 1997 (3):549-573.
- 78) Güzel S. İskemik kolon modelinde anastomoz iyileşmesine hiperbarik oksijen ve pgg-glukanın etkileri. Uzmanlık Tezi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 2003.
- 79) İpek T. Yara iyileşmesi. Ed: S Aydın, T Akça, T Çolak. *Cerrahi Hastalarda Tanı ve Fizik Muayene.* Nobel Kitabevi, Adana, 2008; 451-457.
- 80) Verhofstad MH, Bisseling TM, Haans EM, et al. Collagen synthesis in rat skin and ileum fibroblasts is affected differently by diabetes-related factors. *Int J Exp Pathol* 1998; 79:321-328
- 81) Bertagnolli MM, Mahmoud NN, Daly JM. Colorectal Carcinoma, Surgical. *Aspects of Colorectal Carcinoma.* Hematology/oncology Clinics of North America 1997; 11:655-677.

- 82) Kanellos I, Mantzoros I, Demetriades H, et al. Sutureless colonic anastomosis in the rat: a randomized controlled study. *Tech Coloproctol* 2002; 6:143-146.
- 83) Madden JW, Peacock EE. Studies on the biology of collagen during wound healing. Role of collagen synthesis and deposition in cutaneous wounds of the rat. *Surgery* 1968; 64: 288–294
- 84) Croinin K, Jackson DS, Dunphy JE. Specific activity of hydroxyproline tritium in the healing colon. *Surg Gyn Obst* 1968; 126:1061 –1065.
- 85) Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *Am J Surg* 1980; 139: 398–405.
- 86) Zengin K, Apaydın B, Ünal E, Akı H : Deneysel distal kolon obstrüksiyonlarında preoperatif antegrad serum fizyolojik ve sukralfat lavajlarının primer barsak anastomozu üzerine etkileri. *Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi*. 1998; 8: 5-10.
- 87) Henry G, Garner WL. Inflammatory mediators in wound healing. *Surg Clin North Am*. 2003;83(3):483-507.
- 88) Jonsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. *Am J Surg*. 1983;145(6):800-803.
- 89) Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990;33(10): 891-901.
- 90) 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 Mar;139(3):406-13.
- 91) Braskén P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg Suppl*. 1991;(566):1-51.
- 92) Y. Tanaka, R. Tanaka, M. Liu, N. Hattori and T. Urabe Cilostazol Attenuates Ischemic Brain Injury and Enhances Neurogenesis in the Subventricular Zone of

Adult Mice After Transient Focal Cerebral Ischemia *Neuroscience* 171 (2010) 1367–1376.

93) Thompson PD, Zimet R, Forbes WP, Zhang P. Meta-analysis of results from eight randomized, placebo-controlled trials on the effect of cilostazol on patients with intermittent claudication. *Am J Cardiol* 2002 Dec 15;90(12):1314e9.

94) Robless P, Mikhailidis DP, Stansby GP. Cilostazol for peripheral arterial disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(1). CD003748.

95) Philips JD, King CS, Fonkalsrud EW, et al. Effect of chronic corticosteroid and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg* 1992;163:71.

Inoue T, Sohma R, Morooka S. Cilostazol inhibits the expression of activation-dependent membrane surface glycoprotein on the surface of platelets stimulated in vitro. *Thromb Res* 1999; 4: 137–143.

Otsuka Pharmaceuticals. Data on file. FDA Advisory Committee Meeting Dossier.

96) Schrör, K. (2002), The pharmacology of cilostazol. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, Volume 4, Issue Supplement s2, pages S14–S19, March 2002

97) Katz MH, Alvarez AF, Kirsner RS, et al. Human wound fluid from acute wounds stimulates fibroblast and endothelial cell growth. *J Am Acad Dermatol*. 1991;25:1054-1058

98) Hermann JB, Woodward SC, Puaski EJ. Healing of colonic anastomoses in the rat. *Surg Gynecol Obstet* 1964; 119: 269-75.

99) Nichols RL, Condon RE. Preoperative preparation of the colon. *Surg Gynecol Obstet*.1971; 132(2): 323-327.

9. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



T.C.
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

TOPLANTI TARİHİ : 23/12/2010
TOPLANTI NO : 2010/11

- 6- Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, 2010-38-23/12 Protokol nolu "Cilostazolun Deneysel İskemik Sol Kolon Anastomoz Modelinde İyileşmeye Etkisi" konulu çalışmasının ZKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı