

1993
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

ZAYIFLATILMIŞ KOLON ANASTOMOZLARINDA
KÖK HÜCRE VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN ETKİLERİ;
DENEYSEL ÇALIŞMA

UZMANLIK TEZİ

Dr. Burçin Doruk Oktay

Ankara, 2016



1993
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

ZAYIFLATILMIŞ KOLON ANASTOMOZLARINDA KÖK HÜCRE
VE TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN ETKİLERİ;
DENEYSEL ÇALIŞMA

UZMANLIK TEZİ

Dr. Burçin Doruk Oktay

Tez danışmanı: Doç. Dr. Yahya Ekici

Ankara, 2016

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimimde tecrübe ve bilgi birikimi ile bana yol gösteren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mehmet HABERAL, bölüm başkanı sayın Prof. Dr. Gökhan MORAY, hocalarım Prof. Dr. Esat HERSEK, Prof. Dr. Sedat YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Bu çalışmada emeği geçen başta tez danışmanım Doç. Dr. Yahya EKİCİ olmak üzere sabır ve hoşgörü ile beni daima daha iyi bir cerrah olmaya teşvik eden, hekimliğimi tüm yönleri ile geliştirmem ve cerrahi sanatının prensiplerini öğrenmemde bana destek olup yetişmemde çok büyük katkısı olan tüm hocalarıma, deneysel çalışmamdaki yardımları nedeniyle Genel Cerrahi Anabilim dalından Uzman Dr. Tugan TEZCANER'e, Asistan Dr. Dilşah ERSÖZ'e, Plastik Cerrahi Anabilim dalından Doç. Dr. Çağrı UYSAL'a, Patoloji Anabilim dalından Dr.Pelin BÖRCEK ve Asistan Dr. Çiğdem BALCI'ya veteriner hekim Didem BACANLI, araştırma merkezi çalışanları Sezai KÖLCÜK ve Adem KURTÇUOĞLUNA'na, teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgi,hoşgörü ve desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Burçin Doruk Oktay

ÖZET

Kolorektal cerrahiler gastrointestinal sistem cerrahisi içerisinde başta kolorektal tümörler olmak üzere önemli bir yer teşkil etmektedir. Yapılan çalışmalar sonucu yeni teknikler ve farklı tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Cerrahi işlemlerin hastalıkların tedavisinde yüz güldürücü sonuçları olmasına rağmen meydana gelen komplikasyonlar can sıkıcı sorunlar oluşturmaktadır. Bu komplikasyonlardan en önemlilerinden bir tanesi anastomoz kaçaklarıdır. Yapılan birçok çalışmanın amacı güvenli kolon anastomozu sağlayarak, komplikasyonları azaltmaktır.

Kolorektal kanserlerde neoadjuvan veya adjuvan kemoterapiler sonucu cerrahi sonrası yara iyileşmesi bozulmakta dolayısıyla anastomozda kaçak oranları artmaktadır. Anastomoz iyileşmesinde hedeflerden en önemlisi doku bütünlüğünü doğru tekniklerle koruyarak doku kanlanmasını ve anastomoz sağlamlığını arttırmaktır.

Trombositten zengin fibrin (TZF) dokulardaki biyolojik bütünlüğü sağlaması, endotel hücre göçünü kolaylaştırması ve içerdiği büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde anjiyogenez ve yara iyileşmesine etki ederek enfeksiyöz ve inflamatuvar olayların regülasyonunda oldukça önemli trombosit konsantrasyonudur. Adipoz kökenli kök hücreler elde edilmiş biçimleri ve çoklu dokulara farklılaşma özellikleri nedeni ile gündemdeki en potansiyel kök hücrelerden biridir. Adipoz doku kökenli kök hücre farklılaşarak yeni hücrelere dönüşebildiği gibi yeni damar oluşumunu arttırdığı da birçok çalışmada gösterilmiştir.

Neoadjuvan veya adjuvan kemoterapi ile cerrahi sonrası anastomoz bölgelerinde bozulan yara yeri iyileşmesi, yeni damar oluşumunun engellenmesi üzerine anastomoz sağlamlığı azalmakta ve kaçak kaçınılmaz olmaktadır.

Çalışmada 90 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her biri 20'şer sıçan bulunduran 4 grup oluşturuldu. Dört grubun her biri 10'ar adet sıçandan oluşan iki alt gruptan oluşuyordu. Kök hücre ve trombositten zengin fibrin için 10 adet sıçan kullanıldı. Tüm gruplardaki sıçanların inen kolonu tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra anastomoz yapıldı. Kontrol grubuna rezeksiyon ve anastomoz sonrası sadece intraperitoneal 3-5cc serum fizyolojik uygulandı, 5-Fu grubuna anastomoz sonrası intraperitoneal 5-Fu, TZF+5-Fu grubuna anastomoz sonrası anastomoz çevresine trombositten zengin fibrin ve intraperitoneal 5-Fu, TZF+Kök hücre+5-Fu grubuna anastomoz çevresine trombositten zengin fibrin+kök hücre ve intraperitoneal 5-Fu uygulandı, 1 hafta boyunca kontrol grubu hariç diğer 3 gruba intraperitoneal 5-Fu

verilmeye devam edildi. İntraperitoneal verilen 5-Fu miktarı sıçanların kilolarına göre ayarlandı. Tüm sıçanlar işlemden sonraki 7. günde sakrifiye edildi. Anastomoz patlama basıncı, histopatolojik değerlendirme ve damarlanmanın anjiyografik olarak değerlendirilmesi planlandı. İmmünohistokimyasal olarak çalışma grubunda DiI ile işaretli adipoz kökenli kök hücrelerin takibi için floresan mikroskopta inceleme yapıldı.

Çalışmadaki sıçanların kiloları deney öncesi değerlendirildiğinde 4 grupta da anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,852$). Grupların ilk ve son kiloları değerlendirildiğinde ortalama kilo kaybı yönünden anlamlı farklılık saptandı ($p<0,001$). Kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubunda kilo kaybı istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,001$ ve $p<0,001$), 5-Fu grubuna göre 5-Fu+TZF ve 5-Fu+TZF+Kök hücre gruplarında daha az miktarda kilo kaybı tespit edildi ($p=0,009$ ve $p<0,001$), 5-Fu+TZF grubuna göre 5-Fu+TZF+Kök hücre grubunda da daha az kilo kaybı görüldü ($p<0,001$). Kontrol ve 5-Fu+TZF+Kök hücre grupları arasında kilo kaybı istatistiksel olarak benzerdi ($p=0,753$).

Karın içi yapışıklıklar değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubunda yapışıklık istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,007$ ve $p<0,001$), 5-Fu+TZF grubunun yapışıklık derecesi 5-Fu ve 5-Fu+TZF+Kök hücre grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,039$ ve $p=0,005$). Kontrol grubu ile 5-Fu+TZF+Kök hücre grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,051$), 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubunda 5-Fu+TZF+kök hücre ve kontrol grubuna göre belirgin şekilde perforasyon, fistülizasyon, karın içi apse ve anastomoz ayrılması izlendi.

Anastomoz patlama basınçları açısından karşılaştırma yapıldığında kontrol grubu ve TZF+5-Fu+kök hücre grubunda diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı, 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubunda belirgin anastomoz ayrılması nedeniyle patlama basınç ölçümü yapılamadı. Kontrol grubunda patlama basıncı ortalaması $147,9 \pm 20,02$ mmHg, TZF+5-Fu+kök hücre grubunda $150 \pm 28,1$ mmHg bu iki grup arasında istatistiksel olarak fark saptanmadı. Anjiyografik değerlendirmede milimetrekareye düşen damar sayısı hesaplandı, kontrol grubunda $21,7 \pm 3,2$ adet, 5-Fu grubunda $15 \pm 4,6$ adet ve TZF+kök+5-Fu hücre grubunda $23,9 \pm 4,1$ adet damar izlendi, kwalitatif olarak kontrol ve kök hücre grubunda damarlanmanın diğer iki gruba nazaran artmış olduğu tespit edildi. Histopatolojik değerlendirmede ise reepitelizasyon ($p=0,002$), fibrozis ($p<0,001$), iskemik nekroz ($p<0,001$) ve inflamasyon, nötrofil, lenfosit ve dev hücre ($p=0,177$ - $p=0,562$) anlamlı farklılık saptanmadı. Kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu+TZF+Kök hücre gruplarında arasında vasküler proliferasyon istatistiksel anlamlı olarak ($p=0,019$) tespit

edildi. Floresan mikroskopi ile yapılan değerlendirmede kök hücrenin hem endotel hücresine dönüşümü hem de villöz yapılar arasında olduğu tespit edildi.

Gruplar arasında mortalite oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p < 0,001$) kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubunda mortalite oranı istatistiksel anlamlı olarak yüksekti ($p = 0,018$ ve $p = 0,003$), TZF+5-Fu+kök hücre grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubunda mortalite istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti ($p = 0,018$ ve $0,003$). Kontrol grubu ile TZF+5-Fu+kök hücre grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmamızın sonucunda 5-Fu'nun inflamasyonu arttırıp epitelizasyonu ve anjiyogenezi azaltması anastomoz düzeyinde yara iyileşmesini bozmuştur. TZF'nin salgıladığı büyüme faktörleri ile kök hücrenin endotel hücresine farklılaşarak ve sitokin salgısını arttırması anastomoz bütünlüğü sağlamıştır. Trombositten zengin fibrin (TZF) kök hücre olmadan sadece 5-Fu ile birlikte kullanıldığında ise büyüme faktörlerinin etkinliğinin oldukça az olduğu tespit edilmiştir. Kök hücre, cerrahi sonrası kullanılacak kemoterapötiklerin etkisi sonrası dokularda yara yeri iyileşmesinde anlamlı farklılık yaratmıştır.

Anahtar kelimeler: Kolon anastomozu, 5-Fu, Trombosit zengin fibrin, Kök hücre

ABSTRACT

Colorectal procedures have an important place among the gastrointestinal system procedures with those carried out for colorectal tumors in the first place. New techniques and different treatment modalities are developed as a result of the studies carried out. While the surgical procedures have satisfactory results, the complications occurring result in bothersome problems. One of the most important complications is the leakage from the anastomosis line. The aim of many studies carried out is to ensure safe colon anastomosis to reduce complications.

In colorectal cancers, wound healing after surgery becomes impaired as a result of neoadjuvant or adjuvant chemotherapy, and therefore, the ratio of leakage from anastomosis increases. The most important one among the targets for the healing anastomosis is protecting the integrity of tissue with correct techniques to increase the blood supply for the tissue and to improve the strength of the anastomosis.

A rather important factor is the platelet concentration for the platelet-rich fibrin (PRF) to ensure biologic integrity in tissues, to make the endothelial cell migration easier and to regulate the infectious and inflammatory events through the growth factors and cytokines it contains by effecting the angiogenesis and wound healing. Stem cells originating from the adipose tissue are among the stem cells with the greatest potential with their method of harvesting and ability of differentiating to multiple tissues. It has been shown in many studies that adipose tissue-origin stem cells can differentiate to new cells and also increase the formation of new vessels.

Strength of anastomosis is reduced and leakage becomes inevitable as a result of impairment of wound healing in anastomosis areas after neoadjuvant or adjuvant therapies and surgery and prevention of the new vessel formation.

Ninety Sprague-Dawley type male rats were used in the study. Four groups were created each containing 20 rats. Ten rats were used for stem cells and platelet-rich fibrin. After incising and making a resection on the descending colon of the rats in all the groups for the full thickness, anastomosis was created. In the control group, resection and only intraperitoneal 3-5cc saline following the anastomosis were applied in the surroundings of the anastomosis, intraperitoneal 5-Fu was applied to the 5-Fu group in the surroundings of the anastomosis, platelet-rich fibrin and intraperitoneal 5-Fu was applied in the surroundings of the anastomosis to the PRF+5-Fu group, and platelet-rich fibrin + stem cell and intraperitoneal 5-Fu group was applied to the PRF + stem cell + 5-Fu group in the

surroundings of the anastomosis; and after this, administration of intraperitoneal 5-Fu was continued for 1 week for the 3 groups except for the control group. The dosage of 5-FU administered intraperitoneally was adjusted according to the weights of the rats. All the rats were sacrificed at day 7 following the procedure. Each of the four groups comprised two subgroups including 10 rats. It was planned to evaluate the anastomosis bursting pressure, histopathologic evaluation and vascularization with angiography. In the immunohistochemical study, fluorescent microscope was used to examine the follow-up of the adipose tissue-origin stem cells labeled with DiI in the study group.

When weights of the rats in the study were evaluated before the experiment, there are no significant differences among the 4 groups ($p=0.852$). Significant differences were found between the groups in the baseline and final weights ($p<0,001$). The weight loss was found significantly higher in the 5-Fu and 5-Fu+PRF groups as compared to the control group ($p<0.001$ and $p<0.001$), while the weight loss was smaller in the 5-Fu+PRF and 5-Fu+PRF+ Stem cell groups as compared to the 5-Fu group ($p=0.009$ and $p<0.001$, respectively) and the observed weight loss in the 5-Fu+PRF+ Stem cell group was smaller as compared to the 5-Fu+PRF group ($p<0.001$). The weight loss between the control and 5-Fu+PRF + Stem cell groups was similar ($p=0,753$).

As regards the intraabdominal adhesions, statistically significant differences were found among groups. Adhesions in the 5-Fu and 5-Fu+PRF groups were statistically higher as compared to the control group ($p=0.007$ and $p<0.001$, respectively), and the level of adhesion in the 5-Fu+PRF group was significantly higher as compared to the 5-Fu and 5-Fu+PRF + Stem cell groups ($p=0.039$ and $p=0.005$). No statistically significant differences were seen between the control group and the 5-Fu+PRF + Stem cell group ($p=0.051$), marked perforation, fistulization, intraabdominal abscess formation and breaking of the anastomosis were observed in the 5-Fu and 5-Fu+PRF groups as compared to the 5-Fu+PRF + stem cell and control groups.

Upon comparison regarding the anastomosis bursting pressures, statistically significant differences were found between the control group and the PRF+5-Fu + stem cell groups as compared to the other two groups, while it was not possible to measure pressure in the 5-Fu and 5-Fu+PRF groups because of marked dissociation of the anastomosis. The mean bursting pressure was 147.9 ± 20.02 mmHg in the control group, and 150 ± 28.1 mmHg in the PRF+5 Fu + stem cell group, and no statistically significant differences were found between these two groups. In the angiographic evaluation, the number of vessels per square millimeters were calculated: 21.7 ± 3.2 vessels were

observed in the control group, $15 \pm 4,6$ vessels were observed in the 5-Fu group, and 23.9 ± 4.1 vessels were observed in the PRF + stem cell+5-Fu group, and it was found that vascularization in control and stem cell groups were qualitatively increased as compared to the other two groups. In the histopathologic examination, no statistically differences were found in re-epithelization ($p=0.002$), fibrosis ($p<0,001$), ischemic necrosis ($p<0.001$) and inflammation, and neutrophils, lymphocytes and giant cells ($p=0,177$ - $p=0.562$ respectively). Statistically significant ($p=0.019$) difference was found in the 5-Fu and 5-Fu+PRF+Stem cell group as compared to the control group. In the evaluation made using fluorescent microscopy, it was found that stem cells were present in the conversion to endothelial cells and within the villous structures.

There are statistically significant differences between the groups as regards mortality rates ($p<0.001$), and mortality rate was significantly higher in the 5-Fu and 5-Fu+PRF groups as compared to the control group ($p=0.018$ and $p=0.003$), while the mortality was significantly higher in the 5-Fu and 5-Fu+PRF groups as compared to the PRF+5-Fu+stem cell group ($p=0.018$ and 0.003). No statistically significant differences were found between the control group and the PRF+5-Fu+stem cell group.

It has been concluded in our study that increase of inflammation and decrease in angiogenesis by 5-Fu causes impairment of wound healing on anastomosis level. Integrity of the anastomosis was ensured through the growth factors secreted by PRF and through the differentiation of stem cells to endothelial cells and increasing the sitokin secretion. It has been found that effectiveness of growth factors was rather small when platelet-rich fibrin (PRF) was used only with 5-Fu without stem cells. Stem cells have created significant difference in the wound healing after the effects of the chemotherapeutical agents following surgery.

Keywords: Colon anastomosis, 5-Fu, Platelet-rich fibrin, Stem cell

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	x
KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
TABLolar DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolon embriyolojisi	3
2.2. Kolon anatomisi	3
2.2.1. Çekum.....	4
2.2.2. Çıkan kolon.....	4
2.2.3. Transvers kolon.....	5
2.2.4. İnen kolon.....	5
2.2.5. Sigmoid kolon.....	5
2.2.6. Rektum.....	5
2.2.7. Kolon arterler,venöz drenaj ve lenfatikleri.....	6
2.3. Kolon fizyolojisi	9
2.4. Kolon histolojisi	10
2.5. Kolorektal kanserler	11
2.5.1. Etyoloji.....	12
2.5.2. Tümör gelişimi.....	15
2.5.3. Klinik bulgular.....	15
2.5.4. Tanı yöntemleri.....	16
2.5.5. Patolojik değerlendirme.....	17
2.5.6. Tümör yayılımı.....	17
2.5.7. Evreleme	18
2.5.6. Tedavi.....	19
2.5.7. Prognoz.....	23
2.6. Anastomoz Tarihçesi.....	25

2.6.1. Anastomoz teknikleri.....	25
2.6.2. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi	26
2.6.3. Anastomoz iyileşmesini etkileyen faktörler.....	27
2.6.4. Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesini	29
2.7. Kök hücre	30
2.7.1. Mezenkimal kök hücreler.....	33
2.7.2. Kök hücre kaynağı olarak adipoz doku	35
2.7.3. Kök hücrelerin potansiyel kullanım alanları.....	36
2.7.4. Kök hücrelerin dokularda takibi.	37
2.8. Trombositten Zengin Fibrin (TZF).....	37
2.8.1. Fibrin nedir?.....	37
2.8.2. Trombositten Zengin Fibrin (TZF).....	38
2.8.3. Trombositten Zengin Plazma (TZP).. ..	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	40
3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı	43
3.2. Cerrahi işlem.....	44
3.3. Adipoz doku temini	44
3.4. Mezenkimal Kök Hücrenin Takibi	45
3.5. Trombosit Zengin Fibrinin Hazırlanışı ve Uygulanması.....	47
3.6. Anastomoz patlama basıncı ölçümü	48
3.7. Patolojik değerlendirme.....	50
3.8. Anjiyografi protokolü.....	53
3.9. İstatiksel Yöntem	54
3.10. İşaretli kök hücrelerin tespiti	54
3.11. Karın içi yapışıklıkların değerlendirilmesi	55
4. BULGULAR	56
4.1. Anastomoz Patlama Basıncı	56
4.2. Histopatolojik Değerlendirme.....	56
4.3. İmmünohistokimyasal bulgular	56
4.4. Anjiyografik Değerlendirme.....	58
4.5. İstatiksel bulgular.....	59
5. TARTIŞMA.....	72
6. SONUÇ.....	78
KAYNAKÇA	79

KISALTMALAR

ADKKH	: Adipoz doku kökenli kök hücre
ADP	: Adenozin Difosfat
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
APR	: Abdominoperineal rezeksiyon
AJCC	: American Joint Comitte On Cancer
BT	: Bilgisayarlı tomografi
Ca	: Karbonhidrat antijeni
CaCl	: Kalsiyum Klorid
CD	: Farklanma Kümeleri
CEA	: Karsinoembriyonik antijen
Cm	: Santimetre
CFSE	: Karboksifloresein diasetat süksinimidil ester
DiI	: 1,1'-Dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
EÖH	: Endotel öncü hücre
EGF	: Endotelyal Büyüme Faktörü
FAP	: Familyal adenomatöz polipozis
FACS	: Floresan Yardımlı Hücre Sayımı
FBS	: Fetal Buzağı Serumumu
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
Fu	: Fluorourasil
GFP	: Yeşil Floresan Protein
Gr	: Gram
HKH	: Hematopoetik Kök Hücre
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
HNPCC	: Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser
HS	: İnsan serumu
ICG	: International Collaborative Group
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-1	: İnterlökin-1

IL-6	: İnterlökin-6
IL-8	: İnterlökin-8
ISCT	: Uluslararası Hücresel Tedavi Birliği
İMA	: İnférieur mezenterik arter
İMV	: İnférieur mezenterik ven
Kİ	: Kemik İliği
KİKKH	: Kemik İliği Kökenli Kök Hücre
KRK	: Kolorektal kanserler
MCG	: Mikrogram
MKH	: Mezenkimal Kök Hücre
MR	: Manyetik Rezonans
Mm Hg	: Milimetre civa
NSAİİ	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
PBS	: Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik
PDAF	: Trombosit kaynaklı anjiogenezis faktörü
PDEGF	: Trombosit kaynaklı endotelial büyüme faktörü
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PLA	: İşlenmiş Lipoaspirat
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
PRF	: Platelet rich fibrin
PRP	: Platelet rich plazma
RNAi	: Ribonükleik asit interferans
SMA	: Superior mezenterik arter
SMV	: Superior mezenterik ven
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü β
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü α
TSP-1	: Thrombospondin-1
TZF	: Trombositten zengin fibrin
TZP	: Trombositten zengin plazma
UICC	: Uluslararası Kanser Birliği
VEGF	: Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kolon anatomisi	3
Şekil 2. Kolon arterleri,venöz drenajı.....	6
Şekil 3. Kolon duvarı anatomisi	11
Şekil 4. Fluorourasil ampül.	22
Şekil 5. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	43
Şekil 6. Adipoz doku temini öncesi hazırlık.....	45
Şekil 7. Adipoz dokunun homojenizasyonu	47
Şekil 8. Metilen mavisiyle boyanan hücrelerin ışık mikroskobu altında sayılması.....	48
Şekil 9. JMS BP-100 infüzyon pompası ,Siemens SC 9000XL monitör.....	49
Şekil 10. Anastomoz sonrası rezeksiyon yapılan barsak segmentleri.....	49
Şekil 11. Anastomoz patlama basıncı ölçümü.....	50
Şekil 12. Trombositten zengin fibrin (PRF).....	51
Şekil 13. Kolon anastomozu üzerine TZF tatbik edilmesi	51
Şekil 14. Kök hücre	52
Şekil 15. Kolon anastomozu üzerine kök hücre tatbik edilmesi	52
Şekil 16. İntrakardiyak baryum verilmesi.....	53
Şekil 17. Endotelde kök hücre	57
Şekil 18. Villus komşuluğunda kök hücre.....	57
Şekil 19. Kolon anastomoz anjiyografi görüntüleri.....	58
Şekil 20. Anjiyografi öncesi plağa sabitlenmiş bağırsak anastomozları	59
Şekil 21. Grupların deney öncesi kiloları.....	60
Şekil 22. Grupların kilo kaybı.....	61
Şekil 23. Grupların yapışıklık derecesi yönünden ortalamaları.....	62
Şekil 24. Grupların patlama basıncı.....	62
Şekil 25. Grupların fibrozis değerleri ortalamaları.....	63
Şekil 26. Grupların anjiyogenez değerleri ortalamalar.....	64
Şekil 27. Grupların reepitelizasyon değerleri ortalamaları.....	65
Şekil 28. Grupların iskemik nekroz değerleri ortalamaları.....	66
Şekil 29. Grupların histiyosit hücre dağılımları.....	69
Şekil 30. Grupların nötrofil hücre dağılımları.....	70
Şekil 31. Grupların lenfosit hücre dağılımları.....	71
Şekil 32. Grupların mortalite dağılımları.....	72

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Dukes sınıflaması ve TNM evrelemesi.....	19
Tablo 2. Anastomoz iyileşmesine etki eden faktörler... ..	28
Tablo 3. Deney gruplarının dağılımı.....	43
Tablo 4. Yapışıklıkların değerlendirilmesi.....	56
Tablo 5. Gruplara göre deneklerin işlem öncesi vücut ağırlıkları	59
Tablo 6. Gruplara göre deneklerin kilo kayıpları.....	60
Tablo 7. Grupların yapışıklık derecesi yönünden gözlemlerin dağılımı.....	62
Tablo 8. Gruplara göre deneklerin patlama basıncı düzeyleri	63
Tablo 9. Grupların fibrozis değerleri ortalaması.....	64
Tablo 10. Grupların anjiyogenez değerleri ortalamaları.....	65
Tablo 11. Grupların reepitelizasyon değerleri ortalamaları.....	66
Tablo 12. Grupların iskemik nekroz değerleri ortalamaları.....	67
Tablo 13. Grupların histopatolojik açıdan incelenmesi.....	68
Tablo 14. Gruplara göre deneklerin mortalite oranları.....	69
Tablo 15. Grupların histiyosit hücre oranları.....	70
Tablo 16. Grupların nötrofil hücre oranları.....	71
Tablo 17. Grupların lenfosit hücre oranları.....	72
Tablo 18. Grupların mortalite oranları.....	73

1. GİRİŞ

Kolorektal kanserler gastrointestinal sistemin en çok rastlanan kanseridir. Erkek ve kadınlarda görülen kanserlerin yaklaşık % 10-15'ini kolorektal kanser oluşturmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de kansere bağlı ölüm nedenleri arasında kolorektal kanser ikinci sırada yer almaktadır (1). Kolorektal kanserler dışında kolitler, travma, inflamatur bağırsak hastalıkları (İBS), mekanik bağırsak tıkanıklığı ve rekürren divertikülit başta olmak üzere birçok hastalıkta kolon cerrahisi uygulanmaktadır (2).

Kolon cerrahisinde komplikasyon görülme insidansı %10-30 arasında değişmektedir (3-7). Fistül, kanama, anastomoz darlığı gibi ve bunlar içinde şüphesiz en önemlilerinden biri anastomoz kaçağıdır. Anastomoz kaçaklarının olası nedenleri arasında iskemi, cerrahi teknik, anastomoz hattında gerginlik olması, lokalize enfeksiyon ve anastomoz distalinde obstrüksiyon sayılabilir (4).

Treitz ligamentinden distale doğru gidildikçe anastomoz kaçağı ve diğer anastomoz komplikasyonları görülme riski artar. Proksimal ince barsak anastomozları sonrası kaçak riski %1 iken, aşağı anterior kolon rezeksiyonlarından sonra bu risk %16'ya kadar çıkabilmektedir (5,6). Klinik ve radyolojik olarak fark edilemeyen asemptomatik kaçaklar vardır ki, bunların gerçek sıklığı bilinmemektedir. Fark edilenlerden iki-üç kat fazla oldukları öne sürülmektedir (8,9). Anastomoz kaçaklarını önlemek için çeşitli anastomoz teknikleri önerildiği gibi, bunun dışında çeşitli yöntemler de önerilmiştir. Antibiyotik profilaksisi, ameliyat öncesi barsak hazırlığı, proksimal ostomilerle fekal diversiyon bunlardan birkaçıdır (10).

Günümüze kadar olan süreçte çok çeşitli teknikler, materyaller ve cihazlar geliştirilmiş ve denenmiştir (11). Cerrahi teknikteki ilerlemelere rağmen halen anastomoz kaçakları %5-15 arasında görülmektedir. Cerrahi gelişmelere rağmen literatürde anastomoz kaçaklarının mortalitesi halen %10 ile %32 arasında değişmektedir (12).

Bütün bu çalışmaların amacı anastomoz komplikasyonlarını önlemek ve azaltmaktır. Çünkü bu yöntem çeşitliliğine rağmen halen barsak anastomoz komplikasyonları devam etmektedir ve postoperatif ölümlerin yarısından fazlası anastomoz kaçağına bağlı sepsis nedeniyle olmaktadır (13).

Kök hücre, bir canlının vücudunda çok uzun bir süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen farklılaşmamış hücrelere verilen addır. Bu yüzden aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşebilirler. Vücudumuzdaki hücreler bölündükleri zaman yine kendileri gibi bir hücre oluştururlar. Oysa kök hücrelerin bu hücrelerden farklı olarak belirlenmiş bir fonksiyonları yoktur, aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşebilirler (13).

Mezenkimal kök hücreler (MKH), birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli dayanıklı hücrelerdir. Salgıladıkları çözünür faktörler, hücreler arası veya hücre dışı matriks ile yakın ilişki halinde bulunmaları nedeniyle içinde buldukları dokuya özel hücrelerin fonksiyonlarına önemli katkı sağlarlar. MKH kaynakları kemik iliği (Kİ) ve adipoz dokulardır (14).

Trombositten zengin fibrin (TZF) iyileşmeyi hızlandırıcı ve arttırıcı etkisi olan doğal kan dokusundan elde edilen, yapısında bol miktarda trombosit ve lökosit içeren fibrin matriks yapısı anlamını taşımaktadır. Trombositten zengin fibrin (TZF) içinde büyüme faktörleri de barındırmaktadır.

Flourourasil (5-Fu), pirimidin nükleotid sentezinde hız kısıtlayıcı bir enzim olan timidilat sentetazı inhibe ederek etki eden fluorine olmuş bir pirimidindir (15). Yapılan çalışmalarda flourourasil ile birlikte lökovorin uygulamasında kolorektal kanserinde %50'den fazla tümör küçülmesi ve ortalama sağkalım oranı yaklaşık 6 aydan 12 aya çıkmıştır (64).

Flourourasilin (5-Fu) DNA, RNA sentezini inhibe etmesi sonucu meydana gelen tümör hücrelerindeki küçültücü etkisiyle birlikte normal hücrelerde meydana gelen fonksiyonel bozukluklar kolorektal cerrahi sonrası yapılan anastomozlardaki yara iyileşmesini bozmakta, anastomoz kaçakları artmaktadır (16).

Çalışmamızdaki amaç kemoteropatik ajan 5-Fu' nun hücre fonksiyonlarında yarattığı bozulmuş etki üzerine güncel iki etken olan TZF ve adipoz doku kökenli kök hücrenin (ADKKH) kolon anastomozu üzerine uygulanması sonucu zayıflatılmış kolon anastomozları üzerinde TZF ve kök hücrenin etkilerini değerlendirmektir.

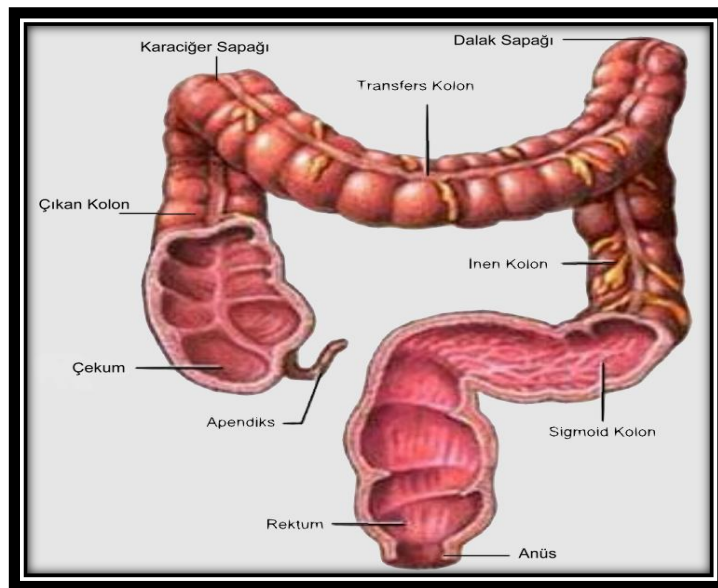
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon emriyolojisi

Primitif bağırsak dördüncü gestasyonel haftada gelişir, ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut), son bağırsak (hindgut) olmak üzere üçe ayrılır. Mid gut dan, ince bağırsaklar ve transvers kolonun proksimali, hind gut dan transvers kolonun orta kısmından başlayarak anüsün proksimaline kadar kalın barsaklar ve alt ürogenital sistem gelişir (17). Gestasyonel gelişim esnasında midgut abdominal kavite dışına çıkarken superior mezenterik arter etrafında saat yönünün tersine 270 derecelik dönüşünü tamamlayarak abdominal kavitedeki son halini alır. Hind gut ise 6. haftada anatomik septumla ventralde ürogenital sinüs ile dorsalde rektuma bölünen kloaka ile sonlanır (17).

2.2. Kolon anatomisi

Kolon, ileumdan anüse dek uzanan yaklaşık 130-200 cm. uzunluğunda 2,5-8,5 cm çaptadır. Sırayla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolon ile devam ederek rektosigmoid bölgede rektumla birleşir (Şekil 1). Kolonun retroperitoneal kısımları çıkan, inen kolon, hepatic ve splenik fleksuraların arka yüzleri iken intraperitoneal kısımları transvers kolon, çekum ve sigmoid kolondur (17-18).



Şekil 1. Kolon anatomisi

Kolon duvarı mukoza, submukoza, iç sirküler kas, dış longitudinal kas ve serozadan oluşur. Kas tabakalarından en dışta olan longitudinal kas tabakasıdır. Bu lifler birbirlerinden eşit uzaklıkta üç bölgede yoğunlaşarak kolonun tenyalarını meydana getirirler. Aralarında 120 derece olan tenyalar apendikte birleşir.

Tenyaların genişliği 5-6 mm olup, rektosigmoid köşede şerit özelliklerini yitirerek rektumun longitudinal kas liflerine karışırlar (17). Tenyaların boyu kolon boyundan daha kısa olduğu için kolon üzerinde cepleşmeler meydana gelir ki, bunlara da kolonun haustraları denilmektedir.

2.2.1. Çekum

Kalın bağırsağın ilk bölümüdür, ortalama çapı 4-8 cm arasında olup kolonun en geniş yeridir. Terminal ileum; çekuma 'ileoçekal valv' adı verilen kalınlaşmış bir invajinasyon yoluyla boşalır. İleoçekal valv mekanizmasıyla ileum içeriğinin kolona hızlı geçişi ve regürjitasyonu önlenmiş olur. Appendiks, ileoçekal valvin yaklaşık 3 cm. aşağısından çekumdan çıkan ve kör sonlanan bir yapıdır. Çekumun aslında mezenteri yoktur, ancak yine de çoğu kaynakta intraperitoneal olarak kabul edilir, çünkü önemli kısmı mobildir (19).

2.2.2. Çıkan kolon

Çekumdan başlayıp karaciğerin sağ lobunun alt yüzüne kadar uzanan yaklaşık 15–20 cm'lik kolon segmentidir. Karaciğer alt yüzünde sola doğru dönerek hepatik fleksurayı yapar. Ön ve yan kısımları peritonla kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir. Doğrultusu aşağıdan yukarıya ve önden arkaya doğru eğiktir (19). Çıkan kolon arkada iliak kas, iliolumbar ligament, kuadratus lumborum kası, transversus abdominus kasının başlangıcı, sağ böbrek fasyası, uyluğun lateral kutanöz siniri, ilioinguinal ve iliohipogastrik sinirlerle komşudur. Önde ise ince bağırsaklar, omentum majus ve karın duvarı ile temastadır (19).

2.2.3. Transvers kolon

Transvers kolon, ortalama 40-50 cm. olup kolonun en mobil ve en uzun olan kısmıdır. Hepatik ve splenik fleksuralar arasında uzanır ve intraperitonealdir. Omentum majus transvers kolonun üst kesimine tutunur (20).

Mezusu ile pankreas ve sol böbrek kapsülüne asılarak karnı alt üst iki bölüme ayırır. Bu oluşum enfeksiyonun batın içi yayılımı açısından önemli bir bariyer oluşturur. Mide ile kolon arasında gastrokolik ligaman bulunur. Bu bağ açılarak mide arka yüz ve pankreasa ulaşılabilir.

2.2.4. İnen kolon

Splenik fleksuradan başlayıp pelvis girişinde sigmoid kolona kadar uzanır. Ortalama 25-30 cm uzunluğundadır. İnen kolonun ön ve yan yüzü peritonla kaplı olup retroperitoneal yerleşimlidir (20). İnen kolon arkada iliak kas, iliolumbar ligament, kuadratus lumborum kası, transversus abdominus kasının başlangıcı, sol böbrek fasyası, uyluğun lateral kutanöz siniri, ilioinguinal ve iliohipogastrik sinirlerle komşudur. Önde ise ince bağırsaklar, omentum majus ve karın duvarı ile temastadır (21).

2.2.5. Sigmoid kolon

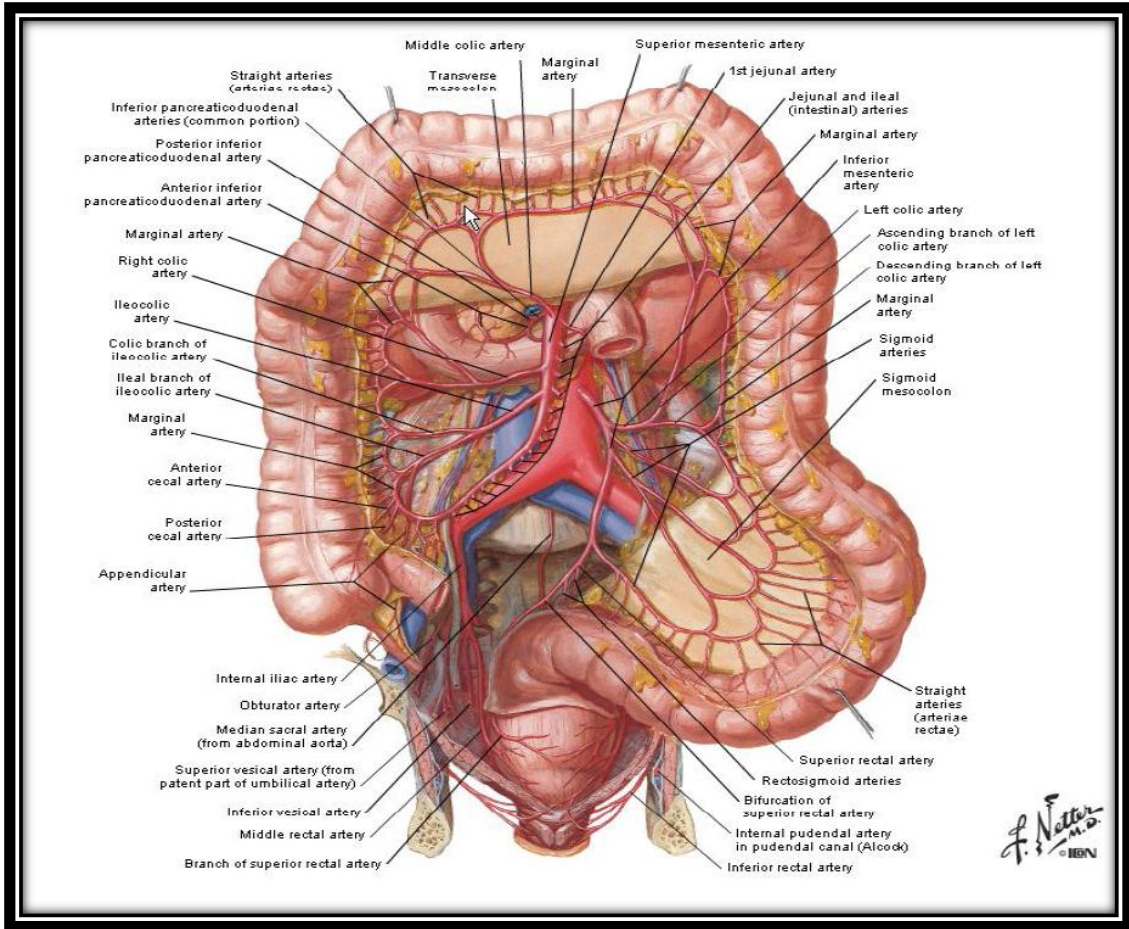
Ortalama 30-40 cm uzunluğundadır. Rektosigmoid köşeden sonra rektum olarak devam eder. Tüm yüzeyleri periton ile örtülüdür. Sigmoid kolonun arka tarafındaki yapılar; sol eksternal ve internal iliac damarlar, sol gonodal damarlar, sol üreter ve sakral pleksus köklerini içerir (21).

2.2.6. Rektum

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

longitudinal bir kas tabakasını şekillendirmek üzere birleşen kolonun tenya kolileri düzeyi olarak tanımlanır (20).

Anal kanal pelvik diyafram ile anal sınır arasında yaklaşık 4 cm uzunluğundadır. Anatomik anal kanal, anal sınırdan dentat sınıra kadar uzanır. Cerrahi anal kanal ise anal sınırdan puborektalisin rektal tuşe ile palpe edilebilen sirküler alt sınırını oluşturan anorektal halkaya kadar uzanan bir yapı olarak tanımlanır. Anorektal halka dentat sınırın 1,5-2 cm üzerindedir (20).



Şekil 2. Kolon arterleri, venöz drenajı

2.2.7. Kolon arterleri, venöz drenajı ve innervasyonu

Kolonun beslenmesi abdominal aorttan kaynaklanan ana iki damardan sağlanır. Çekum ve çıkan kolon, superior mezenterik arterin (SMA) iki dalı tarafından beslenir (Şekil 2). İleokolik ve sağ kolik arter; bu arterlerin oluşturduğu arkuslardan çıkan vasa rektalar kolon duvarına mediyal yüzden girerler. Vasa rekta, kolon yüzeyine ulaştığında

kısa ve uzun dallara ayrılır. Kısa dallar kolonun mediyal veya mezenterik tarafında, uzun dallar da kolonun lateral ve antimezenterik tarafında dağılırlar. Uzun dallardan ayrılan küçük dallar epiploik apendikslere gönderilir. Transvers kolon da benzer şekilde, superior mezenterik arterin dalı olan orta kolik arter tarafından beslenir (22).

Inferior mezenterik arter (İMA), SMA'nın altından infrarenal aortadan çıkarak inen kolon sigmoid kolon ve üst rektumu sırası ile sol kolik, sigmoidal ve süperior rektal arter dalları ile besler (Şekil 2).

İMA süperior rektal arter olarak devam eder ve internal iliak arterin medial rektal arter dalı ile ve internal pudental arterin inferior rektal arter dalı ile birleşerek anastomoz yapar. İnsanların %38'inde aksesuar orta kolik arter vardır. Sol kolik arter, insanların %86'sında splenik fleksuraya kadar çıkar, %14'ünde fleksuranın uzağında marjinal arterle birleşir (22).

Drummond'un marjinal arteri, ileokolik, sağ kolik, orta kolik, sol kolik ve sigmoidal arter dalları arasındaki bir seri anastomozdan oluşmuş bir arkustur (Şekil 2). Marjinal arter, barsak duvarından 1-8 cm uzakta, kalın barsağın mezenterik kenarına hemen hemen paralel bir seyir izler. İMA'nın sol kolik dalı ile SMA'nın orta kolik dalı arasındaki sabit olmayan anastomozlar ise Riolan arkı olarak adlandırılır (21).

Rektum ve Anal kanalın arterleri; bunlar süperior, medial, inferior ve median sakral arterlerdir. Süperior rektal arter İMA'nın terminal dalı olup, arteria iliaca kominis sinistrayı çaprazladıktan sonra oluşur ve rektumun arka duvarına doğru iner. S3 seviyesinde ikiye ayrılarak üst ve orta rektumu besler. Orta rektal arter, arteria iliaca internadan çıkar, erkekte rektumun kas yapısı ve prostat bezini besler. Kadınlarda bazen olmayabilir, yerini uterin arter alır. Denonvillier fasyası boyunca geçer ve anorektal halka seviyesinde anorektal yüzden rektal duvara girerler. Inferior rektal arter internal pudental arterden çıkar, öne ve mediale doğru ilerleyerek anal kanalın pektinat çizgi distalinde kalan kısmı beslerler (23). Median sakral arter aort bifurkasyonunun hemen altında çıkar ve periton arkasından alt lomber vertebraların, sakrumun ve koksiksin ön yüzünden aşağı doğru iner. Rektum arka duvarına birkaç küçük dal verir (21).

Apendiks ve çekum bölgesindeki venöz dönüş, ileokolik ven yoluyla superior mezenterik vene (SMV) ulaşır. Çıkan kolon ve hepatik fleksuradaki venöz dönüş, vena kolika dekstra yoluyla, transvers kolon venöz dönüşü ise middle kolik ven yoluyla SMV'ye doğrudur. Splenik fleksuradaki venöz dönüş, hem vena kolika media ile hem de vena kolika sinistra yoluyla olmaktadır. İnen kolon venöz dönüşü, vena kolika sinistra yoluyla, sigmoid kolon venöz dönüşü ise vena sigmoidea yoluyla inferior mezenterik vene

(İMV) doğrudur. İMV, inen kolon, sigmoid kolon ve proksimal rektumu drene eder. Treitz ligamanının solunda retroperitoneal lokalizasyonda gider, pankreasın posteriorunda splenik venle birleşir (21). Rektumun venöz drenajı arterlerine paralel seyreder, portal ve sistemik (kaval) dolaşımın her ikisine birden boşalır.

Rektumun üst kısmı süperior rektal ven aracılığıyla İMV'ye drene olur. Bu drenaj portal sistemidir (Şekil 2). Orta ve alt bölge ise middle rektal ven ve inferior rektal ven aracılığıyla internal pudental vene oradan da internal iliak ven yoluyla sistemik dolaşıma drene olurlar. Süperior rektal ven (portal) ile middle ve inferior rektal venler (sistemik) arasında anastomozlar bulunmaktadır ve bunlar bir portosistemik şant meydana getirirler.

Dentat hattın üzerinde üç submukozal hemoroidal yapı vardır. Sol lateral, sağ posterolateral ve sağ anterolateral internal hemoroidal venler süperior rektal vene drene olur. Dentat hattın altında eksternal hemoroid venler pudental venlere drene olur (23).

Kolon, submukoza ve muskularis mukozada lokalize sirküler dizilmiş lenfatik kanallarla çevrilidir. Bu nedenle tümörler barsağı genellikle çepeçevre sarma eğilimindedirler. Bu segmental yapı tümörlerin longitudinal intramural yayılımını sınırlar. Submukozal ve serozal zonlara dairesel ilerlemeler yine annüler lezyonlarla sonuçlanır. Lenfatiklerde arterleri takip eder. Epikolik lenf bezleri, küçüktür ve hemen kolon duvarı üzerinde seröz membranın altında yerleşmişlerdir. Parakolik lenf bezleri barsak duvarı ile marjinal arter arasında bulunurlar. Mezokolik (intermezenterik) lenf bezleri kolonun esas damarları SMA, İMA boyunca uzanırlar (Şekil 2). Mezenter kökü (principal) lenf bezleri süperior ve inferior mezenterik arter kökü etrafındaki ve aortik düğümler ile sol lomber düğümleri içerir.

Rektum ve anal kanal lenf yolları, biri pektinat çizginin üstünde, diğeri de altında olmak üzere iki duvar dışı pleksus oluşturur. Üst pleksus, arka rektum düğümlerinden süperior rektal arter boyunca bir düğüm zincirine ve İMA boyunca aortik gangliyonlara drene olur. Orta ve inferior rektal arteri takip eden lenf gangliyonları ise hipogastrik gangliyonlara ve pelvis yan duvarlarında iliaka interna lenf gangliyonlarına drene olur. Rektum alt, anal kanal ve perineal derinin lenfatik drenajı her iki taraf inguinal lenf bezleri ve arteria iliaka interna etrafındaki lenf bezlerine doğru olmaktadır (23).

Sempatik sinirler peristaltizmi inhibe ederken, parasempatikler ise stimüle eder. Sağ kolona giden sempatik lifler spinal kordun aşağı altıncı torasik segmentinden kaynaklanır. Torasik splanik sinirlerle çölyak pleksusa sonrada süperior mezenterik pleksusa geçerler. Sağ kolonun parasempatikleri sağ vagustan gelir. Sol kolonun ve rektumun sempatik innervasyonu ilk üç lumbal segmentten kaynaklanır. Bu sinirler, preaortik pleksuslara

katılır ve aorta bifurkasyonunun aşağısında inferior mezenterik plexus adını alır (21). Sol kolonun parasempatikleri rektumun her iki yanında “nervi erigentesleri” oluşturmak üzere sakral sinirlerden (S2,S3,S4) gelir. Sakral parasempatiklerin uzantıları splenik fleksura bölgesine hipogastrik plexuslar yoluyla çıkar.

Rektumun innervasyonu pelvisin ürogenital organları ile paylaşılır. Torakolumbar segmentlerden çıkan sempatik sinirler inferior mezenterik plexusu oluşturmak üzere inferior mezenterik arterin altında birleşir. Bu saf sempatik sinirler aortik bifurkasyonun altında lokalize superior epigastrik plexuslara inerler. Daha sonra hipogastrik sinir adıyla ikiye ayrılıp pelvise inerler. Rektum, mesane ve cinsiyet organları hem erkekte hem de kadında hipogastrik sinir yoluyla sempatik innervasyon alırlar. Nervi erigentes (S2,S3,S4)’den çıkan parasempatik lifler, pelvik plexusu oluşturan hipogastrik sinirle, rektumun önü ve yanında birleşir. Buradan çıkan dallar, rektumu, internal anal sfinkteri, prostatı, mesaneyi ve penisi innerve eder. İnternal anal sfinkterin motor innervasyonu kontraksiyona neden olan sempatik ve kontraksiyonu inhibe eden parasempatik liflerledir. Eksternal anal sfinkter ve levator ani kası internal pudental sinirle innerve olur. Rektumun distansiyonu internal sfinkterin relaksasyonu ile sonuçlanır. Eksternal sfinkter istemli olarak kasılır (24).

2.3. Kolon fizyolojisi

Kolon sindirilen gıdaların deposu ve iletiminden daha fazla işleve sahiptir. Günde yaklaşık 1500 ml kimus ileoçekal valvden kalın barsağa geçer. Bu kimustaki su ve elektrolitlerin çoğu kolonda absorbe olur. Absorbsiyonun büyük bir kısmı kolonun proksimalinde gerçekleşir, distal kolon ise depolamada önemlidir (25). Kalın barsakların başlıca görevi depolama, emilim, taşıma ve salgılamadır.

Depolama; Kalın barsaklar dışkı ve bazı gazları depolarlar. Normal dışkının %70’i su, %30’u ise katı maddeden oluşur (25).

Emilim; Hergün yaklaşık 600-1000 ml ileum içeriği kolona geçer. Bunun %90’ı sudur. Ancak dışkı ile atılan su miktarı 180 ml düzeyindedir. Su emiliminin hemen tamamı çekum ve çıkan kolonda meydana gelir. Ayrıca kolondan sodyum, klorür, sakkaroz ve laktoz da emilir (26).

Taşıma; Kalın barsaklarda itici ve itici olmayan tip olmak üzere iki farklı hareket görülür. İtici olmayan hareketlerle haustralar sırayla kasılır ve böylece kolon içeriğinin karışması, sıvı elektrolit emilimi ve değişimi için mukozaya teması sağlanmış olur. İtici tip hareketlerle içerik distale doğru taşınır. Bu taşınma birden fazla haustranın bir arada kasılması, kütleli itme ve peristaltik hareketlerle olur. Normalde ağızdan alınan gıda 4,5 saatte çekuma gelir, 6 saat içinde çıkan kolonu doldurur, sağ fleksuraya ulaşır, 12 saatte sol fleksuraya varır ve yaklaşık 20 saatte rektosigmoide ulaşır (27).

Salgılaşma; Klorür emilimi karşılığında az miktarda bikarbonat lümenine verilerek ortamın alkali olması sağlanır (pH 8-8,4). Potasyum, salgılanan mukus ile lümenine geçer (26,27).

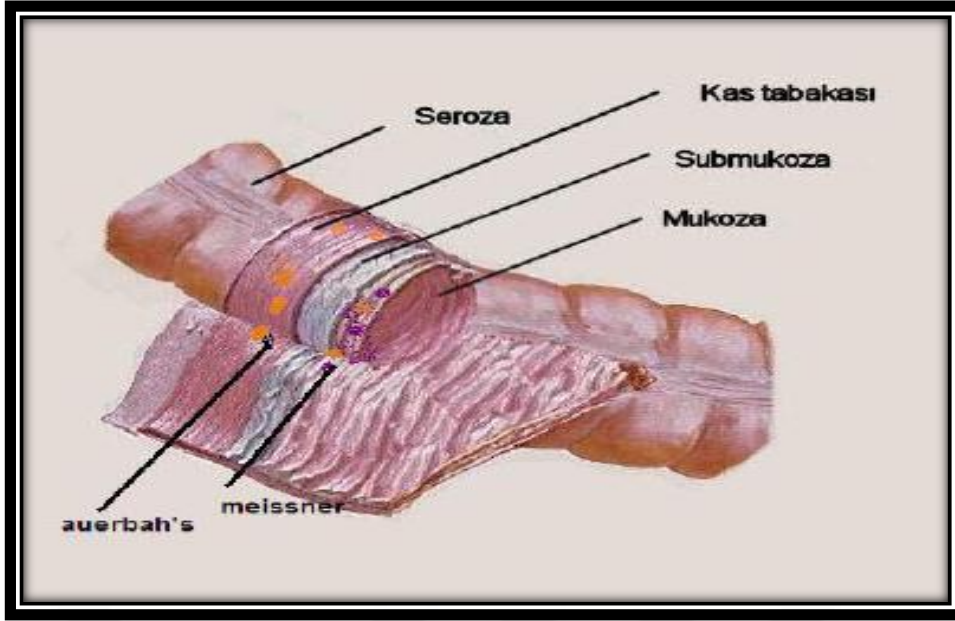
2.4. Kolon histolojisi

Gastrointestinal kanal benzer yapısal özellik gösterir. Kolon 4 tabakadan oluşur.

Tunika mukozaya; Mukozaya yüzey epitelyumu, kripta, lamina propria ve lamina muskularis mukozadan oluşur. Barsağın bu bölümünde villus yoktur. Yüzey epiteli basit kolumnar veya küboidal epitelden oluşur. İntestinal bezler uzundur çok sayıda goblet ve emici hücre, az sayıda enteroendokrin hücre ile karakterizedir. Epitelyal hücreler arasında T lenfositler mevcuttur (28). Kolon mukozası bezlerin 1/3 alt kısmındaki hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonu yaklaşık her 6 günde bir gerçekleşir

Lamina propria; fibroblastlar, damarlar, sinirler, düz kas ve inflamatuvar hücrelerin gevşek bir koleksiyonunu içerir. Kan ve lenf damarlarından zengin bir bağ dokusudur (28). Lenfatikler lamina proprianın alt 1/3'lük bölümünde sınırlıdır. Normalde mevcut olan inflamatuvar hücreler, lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, eozinofil ve histiyositlerdir. Muskularis mukozaya ise mukozayı submukozadan ayıran ince bir kas tabakasıdır (28).

Tunika submukozaya; Lamina proprianın hücreli içeriği submukozal stromada da yer alır. İki nöral plexus submukozal bölgede yer alır. Bunlar; Meissner submukozal plexus ve derin submukozal plexustur. Submukozaya arterielleri, venülleri ve lenfatikleri içerir (Şekil 3).



Şekil 3. Kolon duvarı anatomisi

Tunika muskularis; İçte sirküler, dışta longitudinal kaslardan meydana gelmiştir. Auerbach pleksusu iki kas tabakası arasında yer alır. Dış longitudinal tabaka lifleri tenya coli denilen üç kalın longitudinal bant halinde toplanmıştır (28).

Tunika seroza; İnce ve gevşek bir bağ dokusuyla örtülüdür. Çekum, apendiks, transvers kolon ve sigmoid kolonu tam olarak sarar. Çıkan kolon, inen kolon ve rektumun bir bölümü ile anal kanal peritonun arkasında kalır (28).

Kolonun intraperitoneal kısmında apendiks epiploika denen yağ dokusunun oluşturduğu yapılar mevcuttur.

2.5. Kolorekal kanserler

Kolorektal kanserler (KRK) dünyanın değişik toplumlarında farklı sıklıkta görülen onkolojik problemdir. Sanayileşmiş ülkelerde görülme sıklığı gelişmekte olan bölgelerden daha fazladır. Kanserden ölüm nedenleri sıralamasında erkeklerde akciğer, kadınlarda meme kanserlerinden sonra 2. sırada yer almaktadır (29).

Kolorektal kanserler Kuzey Amerika, Batı Avrupa, İskandinavya, Yeni Zelanda ve Avusturalya gibi gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak rastlanan ve kanser ile ilişkili ölümlerin yaklaşık %10-15 den sorumludur (30). En yüksek görülme

oranları Avusturalya, ABD ve yeni Zelanda'da; en düşük oranlar ise Hindistan ,Güney Amerika ve Ortadoğu ülkelerinde görülmektedir (30). Kolon kanserlerinin üçte ikisi sol kolonda, üçte biri sağ kolonda görülmekte ve %3 'ünde aynı anda birden fazla odakta olabilmektedir.

Yaşın ilerlemesiyle kolon kanseri gelişme riski artar. Kolon kanserlerinin % 90 dan fazlasının 50 yaşından sonra geliştiği saptanmış, tarama programlarına başlama yaşı yapılan çalışmalarda buna göre belirlenmiştir.

2.5.1. Kolorekal kanserlerde etyoloji

Kolorektal kanser gelişiminde etkisi olduğu düşünülen faktörler arasında; diyet, çevresel faktörler, yaş, adenom veya karsinom öyküsü, inflamatuvar barsak hastalığı, aile öyküsü ve diğer predispozan hastalıklar sayılabilir (31-32).

Yaş; İleri yaşlarda kolon kanseri gelişme riski artar. Kolon kanserlerinin %90'dan fazlasının 50 yaşından sonra geliştiği tarama programlarına başlama yaşı yapılan çalışmalarda buna göre belirlenmiştir.

Diyet; Yağ tüketimi az olan toplumlarda daha az sıklıkta görülür. Balık tavuk eti yerine kırmızı et tüketiminin artması, kolon kanseri insidansında artmasıyla ilişkili bulunmuştur. Epidemiyoloji çalışmalarda sebze ve meyvenin bol tüketimi kolon kanseri riskiyle ters orantılıdır.

Diyetteki lif dışı hacmini ve buna bağlı transit hızını arttırarak inraluminal karsinojenlerin mukoza ile temasını azaltır. Ayrıca lifli gıdalar, barsaktaki karsinojen safra asitlerinin konsantrasyonunu azaltır (33). Bazı veriler vitamin A ve vitamin C den zengin beslenmenin kolon kanserinden korunmada antioksidan etkisi olduğunu göstermiştir (34). Diyetteki folat, DNA metilasyonu sentez ve tamirini etkileyebilir. Kolon mukozası gibi hızlı çoğalan dokularda DNA proçesinde hasar karsinogenezi arttırabilir.

Sigara; Japon erkek ve kadınlarını içeren bir çalışmada, sigara öyküsü ile adenom gelişme riskinin 1,6-4,5 kat arttığı bildirilmiştir (39).

İnsülin; Kolorektal karsinogenezin abdominal obezite insülin direnci ve obeziteyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnsülin normal mukozada apopitozu azaltır ve böylece kolorektal adenom gelişimini uyararak adenom-kanser gelişme zincirini erken uyarabilir (36).

Obezite; Epidemiyolojik çalışmalarda bel çevresi, bel-kalça oranı ve kolon kanseri arasında

ilişki gösterilmiştir. Fiziksel aktivite de kolon kanseriyle ters ilişkili bulunmuştur (37). Adiponektin, adipoz doku tarafından salgılanan yakın zamanda tanımlanmış bir mediatör olup obezitede düzeyi azalmaktadır. Kolonik epitelyal kanser hücreleri üzerine proinflamatuvar ve büyümeyi uyarıcı etkileri vardır. Yapılan bir çalışmada kolorektal adenomların sayısı ve adenomun boyutu, artmış visseral yağ birikimi ve azalmış plazma adiponektin düzeyi ile ilişkili bulunmuştur (36).

Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar; Yapılan çalışmalarda nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların prostaglandin sentezini azaltarak kolorektal kanser insidansını azalttığını göstermektedir (35).

Çevresel Faktörler; Afrika, Asya ve Güney Amerika gibi kolon kanserinin az görüldüğü bölgelerden, sık görüldüğü bölgelere göç edenlerde kolon kanseri görülme sıklığının göç ettikleri bölgede yaşayanların düzeyine çıkması, çevresel faktörlerin etyolojide önemli rolü olduğunu göstermektedir. Çok düşük kolon kanser sıklığı bulunan Japonya'dan ABD'ye göç edenlerde kolon kanseri görülme sıklığının 2,5-3 kat arttığı belirlenmiştir (38).

İnflamatuvar Barsak Hastalığı(İBH); Ülseratif koliti olanlarda daha belirgin olmak üzere inflamatuvar barsak hastalığı olanlarda risk artmıştır. Uzun süreli kolit, yaygın tutulum (pankolit), ailede kolorektal kanser öyküsü olması, primer sklerozan kolanjit ve hastalığın süresi risk artışında önemli bulunmuştur.

Toplam risk, hastalık süresi 8-10 yıl olanlarda %2, 20 yılı geçenlerde %8 ve 30 yıl olanlarda %18-20 olarak bulunmuştur. Sekiz yılı aşan yaygın kolit varlığında total proktokolektomi düşünülmelidir (40).

Kolon kanseri, crohn hastalığının önemli bir komplikasyonudur. Crohn hastalığında kalın barsak karsinomu gelişme riski, normal populasyondan 2-3 kat daha yüksek, ülseratif kolitten daha düşüktür (40).

Özgeçmişte Adenom ve Karsinom; Kolorektal kanserlerin büyük bir kısmı daha önce var olan adenomlardan kaynaklanmaktadır. Kanser gelişme riski, adenomların sayısı ile artar. Çapı 1cm den büyük olan, villöz karakterde, şiddetli displazi gösteren adenomlarda kanser riski artmıştır (41). Meme, endometriyal, over kanseri öyküsü olan kadınlarda da kolorektal kanser riski yüksektir.

Genetik Faktörler ve Aile Öyküsü; Sporadik kolorektal kanserli hastaların birinci derece yakınlarında kolorektal kanser gelişme riski 2-4 kat artmaktadır. Eğer kanser, aile üyesinin 50 yaşından küçük bir bireyinde ortaya çıkmışsa risk daha da artmıştır (32). Herediter kolorektal kanserler, tüm vakaların %6-10'unu oluşturmaktadırlar.

Familyal Adenomatöz polipozis (FAP) ve Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser (HNPCC) otozomal dominant kalıtımla geçerler. FAP, genetik bir pankolonik adenomatöz polipozistir. Genç yaşlarda oluşmaya başlar ve profilaktik total kolektomi yapılmazsa tüm hastalarda kolon kanseri oluşması hemen hemen kaçınılmazdır (42). Bu hastalığa predispozisyon yaratan defektli APC tümör-süpresör geni taşıyanların hepsinde 55 yaşına gelindiğinde kolon kanseri geliştirmektedir (43). Kolorektal kanserlerin %1-6'sını HNPCC oluşturur ve Lynch sendromu olarak adlandırılır. FAP'dan farklı olarak adenomatöz kolonik poliplerle ilişkili değildir. Kolon dışı tümörlerle birlikte olup olmamalarına göre iki alt gruba ayrılırlar.

Lynch I: Kolon dışı tutulumun olmadığı bu grupta tümör, genellikle erken (ortalama 45) yaşlarda başlayıp % 70 oranında proksimal kolonu tutar.

Lynch II: Başta endometriyum, over, üreter, renal pelvis, mide, ince barsak, hepatobiliyer sistem olmak üzere kolon dışı tümörlerin eşlik ettiği gruptur. Lynch I ve II sendromlarının da sağ kolon kanseri insidansı daha fazladır (44).

Herediter Nonpolipozis Kolorektal Kanser tanısı için 1991 yılında belirlenen ve Amsterdam kriterleri olarak geçen "International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Carcinoma" (ICG-HNPCC) kriterleri şunlardır;

- a. Ailede biri 1. derecede olmak üzere iki ya da üç bireyde histopatolojik olarak tanı almış kolorektal karsinom bulunması
- b. Kolorektal karsinomun en az iki jenerasyonda ortaya çıkması
- c. En az bir vakanın 50 yaş altında tanı alması
- d. Kolorektal karsinoma neden olabilecek Familyal Adenomatöz Polipozis sendromlarının olmaması (43-44)

2.5.2. Kolorekal tümör gelişimi

Kolon tümörleri gelişiminde birden fazla sayıda mutasyonun aşamalı olarak görüldüğü iki farklı yol vardır. Bu mutasyonlar, gerçekleştikleri genler ve mekanizmaları itibariyle farklılık gösterirler.

Adenom-karsinom süreci olarak da adlandırılan ve sporadik kolon karsinomlarının yaklaşık %80'inde görülen APC/B-cathenin yolu; kromozomal dengesizlik ile karakterize moleküler olayların yanı sıra morfolojik olarak da tanımlanabilen aşamalarla gerçekleşir. Lokalize bir epitel proliferasyonu ile başlayan süreç, artan displazi derecesinin eşlik ettiği küçük adenomların oluşumunun ardından bunların progresif olarak genişlemesiyle devam eder ve sonunda invaziv kansere dönüşür (45).

DNA tamir genlerinin inaktivasyonu ile ilişkili olan ikinci yol ise sporadik vakaların %10-15'inde saptanmıştır. Bu yolda mutasyonlar farklı genlerde gerçekleşir. Tanımlanmış morfolojik değişimler yoktur (45).

2.5.3. Klinik bulgular

Kolon kanserli hastaların çoğu, semptomlar ortaya çıktıktan sonra başvurmaktadır. Erken evrede hastalar asemptomatiktir veya şüpheli karın ağrısı, meteorizm, barsak hareketlerinde değişiklik, rektal kanama yakınmaları olabilir (46). Klinik bulgular genellikle daha çok primer tümörün yerleştiği lokalizasyona göre ortaya çıkmaktadır.

Sağ kolon tümörlerinde barsak alışkanlığında herhangi bir değişiklik olmaması tipiktir. Ancak, mukus sekrete eden büyük tümörler diareye neden olabilir (47). Sağ kolon tümörleri daha çok dışkılamayla birlikte genellikle fark edilmeyen kronik kan kaybı ve buna bağlı yorgunluk, halsizlik ve çarpıntı ile sonuçlanan demir eksikliği anemisi ile kendini göstermektedir (47). Sağ kolon kanserinde ayrıca müphem karın ağrısı, kilo kaybı ve batında kitle görülebilmektedir (46). Sol kolon tümörlerinde barsak alışkanlığında değişiklik ve dışkılamayla taze renkli kanama yakınmaları ön plana çıkmaktadır. Özellikle alt kadranları tutan karın ağrıları kramp tarzında olup, barsak hareketleri ile birlikte artıp azalabilirler. Barsak alışkanlığındaki değişiklikler dışkılama sıklığı, dışkının kıvamı ve şekli ile ilgilidir. Dışkılama sıklığı tıkanmaya yol açan tümörlerde azalırken, mukus salgılayan veya kanamaya yol açan tümörlerde artmaktadır (46).

Kolon kanserli hastaların bir kısmı kolonik tıkanma ve perforasyon gibi akut semptomlarla hekime başvurabilirler. Kolonik tıkanma ileri evre tümörlerde ve özellikle de yaşlı hastalarda görülmektedir. Tam tıkanma hastaların %10'undan azında ortaya çıkmakta ve bu tablo acil tanı ve cerrahi tedaviyi gerektirmektedir. Bu hastalar gaz gaita çıkaramama, bulantı kusma, abdominal distansiyon, kramp tarzındaki karın ağrısı yakınmaları ile acile başvurmaktadır. Hastalar acil operasyona alınmaz ise kolonik perforasyon sonucu fekal peritonit ve sepsis tablosu görülebilir (46). Çok nadir olarak, kolon kanserlerinin ilk bulgusu, metastaz yaptığı organa ait klinik tablo ile ortaya çıkmaktadır. Masif karaciğer metastazı sarılık ve kaşıntıya yol açabilir. Asit nedeniyle distansiyon görülebilir (47).

2.5.4 Tanıda kullanılan biyokimyasal testler ve görüntüleme yöntemleri

Tümör Belirteçleri; Karsinoembriyonik antijen (CEA) ve Karbohidrat antijen (CA) 19-9, kolorektal tümörlerde kullanılan tümör belirteçleridir. Karsinoembriyonik antijen, klinikte kolorektal kanserler dışında meme, mide, pankreas kanseri takibinde de sık kullanılan bir belirteçtir. Biyolojik yarılanma ömrü 2-8 gün olup, post-op 6-8 haftada normal seviyelere iner (45-46-47). Karbohidrat antijen 19-9, klinikte kolorektal kanserler dışında, mide, pankreas, safra yolları ve over kanseri takibinde de sık kullanılan bir belirteçtir. Biyolojik yarılanma ömrü 7 saat olup, post-op birkaç hafta içinde normal seviyelere iner. Malignite dışında, sarılık, mide, barsak, pankreas, karaciğer, safra kesesinin benign lezyonları, diabetik nefropati ve çeşitli romatizmal hastalıklarda da yükseldiği görülebilir (44). Her iki belirteçten herhangi birinin cerrahi sonrası düzeyinin artması tümör rekürrensini düşündürür (43,44).

Kolonoskopi; Tüm kolonun değerlendirilmesinde altın standart olarak konvansiyonel kolonoskopi kabul edilmektedir (46,47).

Bilgisayarlı Tomografi (BT); Kolondaki kitlenin komşu organlarla ilişkisi ve lenf nodlarının durumu hakkında bilgi vermekte tümörün uzak metastazlarının tespiti hakkında bilgi vermektedir (48).

Manyetik Rezonans görüntüleme (MR); Karaciğer metastazlarının değerlendirilmesinde, nükslerin tespitinde, BT sonuçları yeterli olmazsa başvurulabilir (48).

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET); Fluorodeoksiglukozun tümör dokusu tarafından normal hücrelere göre daha hızlı kullanım esasına dayanır. Ekstrahepatik hastalık varlığını araştırmada ve BT ya da MR ile nüks-skar dokusu ayırımı yapılamayan hastalarda faydalıdır (48).

2.5.5. Kolon kanserlerinde patoloji

Kolon kanserlerinin büyük çoğunluğu (%95) adenokarsinomdur. Ayrıca skuamöz hücreli karsinom, karsinoid tümörler, adenoskuamöz ve indiferansiye karsinomun yanı sıra nadiren sarkom ve lenfomalar gibi nonepitelyal tümörler de görülmektedir (49,50).

Grade, tümör dokusunda tübül oluşumunun derecesi ve hücre dizilime göre yapılıdır. Hastaların %15-20'si grade I ya da iyi differansiye, %60-70 grade II ya da orta differansiye, %15-20'si ise grade III ya da az differansiyedir (50).

Grade I karsinomlar; mikroskopik olarak adenoma epiteline benzer, hücreler uniform görünümündedir ve polarite kaybı yoktur veya minimaldir. Grade II tümörlerde, tübüler yapılar basit olabileceği gibi kompleks ve hafif düzensiz şekilli olabilir. Nükleer polaritede hafif veya orta seviyede kayıp vardır. Grade III tümörlerde, tübüler yapı tamamen ortadan kalkmıştır (50). Müsinöz karsinomlar ve taşlı yüzük hücreli karsinomlar grade III olarak kabul edilirler (49). Histolojik grade sağ kalıma etkilidir.

2.5.6. Tümör yayılımı ve metastaz

Kolon tümörleri, doğrudan komşu yapılara, lenfatikler ve kan damarları ile uzak organlara yayılabilirler. Metastatik yayılım en sık bölgesel lenf nodları ve karaciğere olur (38). Diğer sık görülen metastaz bölgeleri; periton, akciğer ve overlerdir. Daha nadir metastaz bölgeleri santral sinir sistemi, kemik, testis, uterus ve oral kavitedir (38).

2.5.7. Evreleme

Kolon kanserlerinin evrenmesinde günümüze kadar 3 farklı sınıflama kullanılmıştır (Şekil 1).

- Duker sınıflaması
- Astler-Coller sınıflaması
- TNM sınıflaması

1932'de Duker, rektal karsinomların evrelemede ve kolon karsinomlarında yeni bir sistem oluşturdu. Bu sınıflama, tümörün derinliği, lenf bezi tutulumu ve uzak metastaz bulunmasına göre A, B, C olarak yapılmıştır (38,51).

1954 yılında Astler ve Coller tarafından başka bir evreleme sistemi geliştirilmiştir. Temelde Duker sistemine benzemekle birlikte, derinlikleri farklı olan tümörlerde lenf düğümü tutulumunu da değerlendirmesiyle farklılık göstermektedir (38).

Amerikan Birleşik Kanser Komitesi (AJCC) ve Uluslararası Kanser Birliği(UICC)'nin tümör, lenf düğümü ve metastaz komponentlerini gruplandırmasıyla ortaya koyduğu TNM sınıflaması, daha ayrıntılı bir sınıflama olup kolaylıkla diğer sınıflama sistemlerine çevrilebilir. Günümüzde halen bu sınıflamaya göre tedavi kararı verilmektedir (50-51) .

Primer Tümör (T)

Tx: Primer tümörü bilinmeyen

T0: Primer tümör yok

Tis: Karsinoma insitu

T1:Tümör submukozaya invaze

T2:Tümör muskularis propriaya invaze

T3:Tümör subseroza veya nonperitonealize perikolik dokuya invaze

T4:Tümör visseral peritona perfore olmuş veya diğer organ ve dokulara direkt invazyon göstermiş

Bölgesel Lenf Nodülleri (N)

Nx: Bölgesel lenf nodları değerlendirilememekte

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok

N1: Perikolik 1-3 lenf nodunda metastaz

N2: Perikolik 4'ten fazla lenf nodunda metastaz

N3: Ana arter kökünde lenf nodu pozitifliği

Uzak Metastaz (M)

Mx: Uzak metastaz varlığı değerlendirilememekte

M0: Uzak metastaz yok

M1: Uzak metastaz mevcut

Evre	TNM	Dukes sınıflaması	Tümör invazyon derecesi	5 yıllık yaşam
0	T0,M0,N0		Gözle görülür tümör yok	
I	T1,N0,M0	A	Tümör mükülaris mukoza ve submukozaya sınırlı	%97
I	T2,N0,M0			
II	T3,N0,M0	B1	Tümör mükülaris propria ya sınırlı	%78
II	T4,N0,M0	B2		%63
III	T1-4,N1,M0	C1	Tümör serozaya ulaşmış,	%56-65
III	T1-4,N2,M0		C2	komşu organ tutulumu olabilir
IV	T1-4,N1-2,M1	D	Uzak metastaz var	%1

Tablo 1. TNM evrelemesi ve Dukes sınıflaması

2.5.8. Tedavi

Cerrahi Tedavi

Kolorektal kanserlerin tedavisi öncelikle cerrahidir. Kemoterapi ve radyoterapi diğer tedavi yöntemleridir. Bazı durumlar dışında tedavide ana amaç primer tümörün bölgesel

lenf bezleriyle birlikte geniş olarak çıkarılmasıdır (52). Peritoneal yayılım, batında asit varlığı, çok sayıda hepatik metastaz varlığı ve çok sayıda pulmoner metastaz varlığında palyatif cerrahi tedavi yapılır. Ancak; soliter akciğer ve karaciğer lezyonlarında küratif rezeksiyon yapılması doğru bir yaklaşımdır.

Karaciğer ve akciğerde rezektabl metastaz gelişmiş olan seçilmiş hastaların %25-40'ında cerrahi küratifdir. Günümüzde kolon tümörlerinin rezektabilitesi %92, kür amaçlı yapılan operasyonlarda ölüm oranı %2'dir. Cerrahi sonrası 1. yıl içindeki endoskopik kontrol, olabilecek cerrahi sınır nükslerinin saptanmasında önemlidir. Obstrüksiyon yapmış veya perfore olmuş kanserlerde küratif ameliyat için her türlü gayret gösterilmelidir. Bu hastalarda prognoz kötüdür, ancak lezyonun hemen rezeke edildiği ve metastaz saptanmayan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranı %30'a yaklaşmaktadır (55,56).

Çekum ve çıkan kolon kanserleri: Sağ hemikolektomi

Transvers kolon kanserleri: Genişletilmiş sağ hemikolektomi veya transvers kolektomi

Splenik fleksura ve inen kolon kanserleri: Sol hemikolektomi

Sigmoid kolon: Sigmoid kolektomi veya sol hemikolektomi

Rektum kanseri: Rektum kanserlerinde tedavi tümörün dentate lineden uzaklık, evresi ve yayılım derecesi başta olmak üzere hastanın yaşı, genel durumu, vücut yapısı ve diferansiasyon derecesine göre değişir.

Tedavi seçenekleri;

1. Low anterior rezeksiyon

2. Abdominoperineal rezeksiyon

3. Lokal eksizyon (Transanal eksizyon, transanal endoskopik mikrocerrahi, endokaviter radyasyon)

4. Fulgurasyon

5. Laser fotokoagülasyon

6. Kolostomi

Temel amaç tümörün sağlam sınırlarla çıkartılmasıdır. En fazla tartışma rektum kanserlerinde tedavi seçenekleri üzerine yoğunlaşmıştır. Sonuçta APR veya low anterior rezeksiyonun her ikisinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçlar üzerine en etkili faktörler uygulanan teknik ve cerrahın deneyimi bulunmuştur (53). Diğer faktörler perforasyon oluşumu, obstrüksiyon, diferansiyasyon derecesi, lenfatik invazyon, perinöral invazyon varlığı, CEA yüksekliği, DNA anoploididir (53).

Adjuvan Radyoterapi

Yapılan retrospektif çalışmalarda nüks açısından yüksek riskli kolon kanseri hastalarında oluşan yan etkiler nedeniyle adjuvan radyoterapinin küratif rezeksiyon sonrası standart olarak kullanılması önerilmemektedir. Ancak uygun lokalizasyonda ya da irrezektabl rezidüel hastalığı olanlarda düşünülebileceği yönünde görüşler vardır (54).

Adjuvan Kemoterapi

Evre 0 kolon kanseri: Mukozaya sınırlı lamina propria invazyonu göstermeyen hastalık mevcuttur. Cerrahi, temiz sınırlar sağlanabilecek ise lokal eksizyon veya basit polipektomi, lokal eksizyona uygun olmayan geniş lezyonlarda ise kolon rezeksiyonu şeklinde yapılır. Ek adjuvan tedavi gereksizdir (54).

Evre I kolon kanseri: Lokalize kalma eğilimini nedeniyle yüksek kür oranı vardır (53). Bu evrede ek adjuvan tedaviye gerek yoktur (54).

Evre II kolon kanseri: Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (American Society of Clinical Oncology), evre II kolon kanseri hastalarında adjuvan kemoterapinin rutin kullanımını desteklememektedir. Evre II kolon kanserinde, genç yaş, yetersiz lenf nodu çıkarılması, T4 hastalık varlığı, barsak tıkanıklığı veya perforasyonu nedeniyle operasyona girilmiş olması, az differansiye histolojiye sahip olma gibi yüksek riskli vakalarda adjuvan kemoterapinin uygun bir yaklaşım olduğu bildirilmiştir (55).

Evre III kolon kanseri: Adjuvan kemoterapi bu evredeki hastalarda standart olarak kullanılmaktadır. Adjuvan kemoterapide 5-FU-Leucovorin ile 6 aylık post-opkemoterapi bir seçenektir. Çok merkezli Avrupa kökenli bir çalışmada evre III kolon kanserli hastalarda peroral kullanılan bir kemoterapi ajanı olan kapesitabin ile standart 5-FU-Leucovorin rejimi karşılaştırmıştır. Çalışma sonucu her iki koldaki ilaçların eşit etkinlikte olduğunu göstermiştir (56-57). MOSAIC çalışmasının 60 aylık takip sonuçlarına göre, adjuvan FOLFOX 4 (5-FU, Leucovorin, Oksaliptatin) rejimi, 5-FU-Leucovorin kombinasyonundan üstün bulunmuştur (57). MOSAIC çalışması ile FOLFOX 4 rejimi

rezeke evre III kolon kanseri hastalarında standart tedavi haline gelmiştir.

Evre IV kolon kanseri: Evre IV kolon kanserli hastaların tedavisi hastalığın lokalizasyonuna bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Yalnız karaciğer veya akciğer metastazı olanlarda cerrahi, tek potansiyel küratif tedavi seçeneğidir (53,55). Sınırlı sayıda lezyon, yeterli karaciğer fonksiyonu ve ana vasküler yapılardan uzak olması durumlarında karaciğer metastazları rezeke edilebilir kabul edilmektedir. Yapılan randomize olmayan çalışmalarda 5 yıllık yaşam süresinin %25-40 olması, cerrahi sınırın negatif olmasına bağlıdır (55). Metastatik kolon kanseri için 5-FU, Kapesitabine, İrinotekan, Oksaliplatin, Bevasizumab, Setuksimab ve Panitumumab yurtdışında onaylanmış ve aktif olarak kullanılan kemoterapi ajanlarıdır.

Fluorourasil (5-Fu)

Fluorouracil kolorektal kanserinde sistemik tedavinin merkez taşıını oluşturmaktadır. Pirimidin nükleotid sentezinde hız kısıtlayıcı bir enzim olan timidilat sentetazı inhibe ederek etki eden fluorine olmuş bir pirimidindir (Şekil 4) ve fluorourasilin bu enzimle etkileşimini stabilize ettiği düşünülen indirgenmiş bir folat olan lökovorinle birlikte uygulanır (58).

Yapılan çalışmalarda fluorourasil ile birlikte lökovorin uygulamasında kolorektal kanserinde %50'den fazla tümör küçülmesi ve tek başına fluorourasil ile karşılaştırıldığında sağkalım oranlarında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görülmüştür. Fluorourasil ve lökovorin alan metastatik kolorektal kanserli hastaların yaklaşık % 20'sinde tümör boyutunda %50'den fazla azalma görülmüş ve ortalama sağkalım oranı yaklaşık 6 aydan 12 aya çıkmıştır (58).



Şekil 4. Fluorouracil

Fluorouracil değişik toksisite profilleri olan değişik tedavi şemaları şeklinde uygulanabilir. Neutropeni ve stomatit 4-5 haftalık süre içinde her 5 günde bir uygulanan bolus fluorourasil ve leucovorin tedavisinde en sık görülen yan etkilerdir (Mayo Clinic rejimi). Bolus fluorourasil ve leucovorinin 6-8 hafta süreyle uygulanması sonucu (Roswell Park rejimi) daha yüksek oranda diyare görüldüğü bildirilmiştir (58). Fluorourasili sürekli infüzyon olarak veren rejimler daha az hematolojik ve GIS toksisite ile ilişkilidir ancak daha yüksek oranda el-ayak sendromu (avuç içi ve ayak tabanlarını içeren eritamatoz döküntü) görülmektedir. Her ne kadar tedavi programları önceden bolus uygulamalara göre daha az güvenilir ve pahalı olduğu için tercih edilmeyen fluorourasili içerse de, bu 2 rejim ile sağlanan yaşam kalitesi arasında az fark olduğu görülmüştür. Ayrıca, 6 randomize çalışmanın metaanalizi; infüzyonel ve intraperitoneal fluorourasil alan metastatik kolorektal kanserli hastaların yanıt oranı ve ortalama sağkalım sürelerinde, bolus tedavi uygulanan hastalara göre orta derecede iyileşme görülmüştür (58).

2.5.9. Prognoz

Kolorektal karsinomlu hastalarda küratif rezeksiyondan sonra 5 yıllık sağ kalım oranı %40-60 arasındadır. Rekürrenslerin %70'i ilk 2 yılda, % 90'ı ise ilk 5 yılda meydana gelir (59). Uzak metastaz saptandıktan sonra ortalama sağkalım süresi tedavi almayan hastalarda 6-9 ay arasındadır. Günümüzde yeni kullanıma giren kemoterapötik ve hedefe yönelik

tedavi uygulamaları ile ortalama sağkalım süreleri 2 yılı geçmiştir (59). Kolon kanserinde klinikopatolojik prognostik faktörler şunlardır:

Yaş

Kolon kanserinin genç yaşta daha kötü prognoza sahip olduğu düşünülür. Bunda yaşlılara göre daha ileri evrede tanı konulabiliyor olması önemli bir etkidir. Ayrıca, aynı evredeki hastalarda bile prognoz, gençlerde yaşlılardan daha kötüdür (60).

Cinsiyet

Birçok çalışmada prognozun kadınlarda erkeklerden daha iyi olduğu görülmüştür. Ancak bunun nedeni kesin olarak belirlenememiştir (61).

Serum CEA Düzeyi

Sigara içmeyen sağlıklı bireylerde 5 ng/ml'nin altındadır (62), 5 ng/ml'den yüksek serum CEA seviyelerinin, tümörün evresinden bağımsız olarak prognoz üzerine kötü etkisi olduğu gösterilmiştir (44).

Yalancı pozitiflik oranının yüksek olması nedeniyle tanı veya tarama amacıyla kullanılamaz. Kolon kanserinde tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde ve nükslerin belirlenmesinde kullanılır. Tedavinin başlangıcında ve aktif tedavi süresince 2-3 ayda bir ölçülmektedir (62,63).

Serum CA 19-9 Düzeyi

Nüksde anlamlıdır. Operasyon sonrası dönemde hasta izleminde yararlı olduğu bildirilmektedir (63).

Tümör Lokalizasyonu

Sol kolon veya sağ kolon tümörlerinin daha iyi prognoza sahip olabileceğini bildiren çeşitli çalışmalar varsa da; primer tümörün yerleşim yerinin prognoz üzerine etkisi olduğu konusu kesinlik kazanmamıştır (58).

Tümörde İnflamatuvar Reaksiyon

Tümör ile komşu doku arasında inflamatuvar yanıt varlığı daha iyi prognozla ilişkilidir. Belirgin peritümöral lenfosit infiltrasyonu ve Crohn'a benzer şekilde müsküler tabaka ya da perikolik dokuda lenfoid agregat varlığı iyi prognozla ilişkilendirilmiştir. Tümör stromasının eosinofiller ve S-100 protein (+) dentritik hücreler ile infiltrasyonu da iyi prognoz göstergesidir (60).

Lokal Yayılım

Polipte insidental olarak yakalanmış fokal mikroskopik karsinomda, tümör genelde mukoza ve submukozaya sınırlı olduğundan prognoz mükemmeldir. Tümör serozaya yayıldığında ve bölgesel lenf bezlerini tuttuğunda prognoz kötüleşir (58).

Obstrüksiyon

Bazı çalışmalarda obstrüksiyon, bağımsız kötü bir prognostik faktör olarak bulunmuştur (64). Obstrüksiyon nedeniyle acil koşullarda ameliyata girilen hastalarda 5 yıllık sağkalım oranlarının daha kötü olduğu belirlenmiştir (40).

Perforasyon

Barsak duvarında yaygın tümör invazyonu sonucu oluşan perforasyonda prognoz kötüdür. Peritoneal kaviteye serbest perforasyon olduğunda kür yoktur, çünkü barsak lümeninden periton yüzeyine tümör hücreleri implante olur (58).

Vasküler İnvazyon

Vasküler invazyon varlığında, beş yıllık sağ kalım süresi belirgin azalma gösterir. Lenfatik invazyon, kan damarı invazyonundan daha az önem taşımakla birlikte ileri evre hastalarda yaygın olarak bulunması durumunda prognozu kötüleştirir (4,48,65).

Perinöral İnvazyon

Perinöral invazyon genellikle ilerlemiş hastalığa işaret eder ve azalmış sağkalım ile birliktedir. Diğer kötü prognostik bulgularla birlikte olma eğilimindedir (4,58).

Mikroskopik Patoloji

Tümörün prognozu ile histopatolojik tipi ve diferansiyasyon derecesi arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Yapılan çeşitli çalışmalarda grade I kolon tümörlerinde prognozun grade II – IV tümörlerden daha iyi olduğu görülmüştür. Müsinöz karsinom, taşlı yüzük hücreli karsinom ve anaplastik karsinom klasik adenokarsinomlara göre kötü prognozludur (45,65).

Nöroendokrin Hücre Varlığı

Adenokarsinomlarda nöroendokrin hücre varlığının prognoz yönünden olumsuz etkisi olduğu bildirilmiştir.

2.6. Anastomoz tarihçesi

19. yüzyıl başlarında başarılı barsak anastomozları yapılmaya başlamıştır. Dikiş teknikleri ve iyileşme prensiplerinin tam olarak bilinmemesi başarı oranını düşürmüştür. Zamanla cerrahide büyük iğne kalın ipler kullanılarak el anastomozunun yanı sıra mekanik dikiş teknikleri de kullanılmaya başlandı. Mekanik dikiş yöntemleri Murphy's Button adı verilen teknik ile yüzyılın başlarında gözle görülür bir gelişme göstermiştir. Bu sıralarda el

anastomozunun üstünlüğü kabul edildiğinden bu yöntemle ilgili çeşitli dikiş teknikleri geliştirilmeye çalışıldı (66).

Travers 1812 yılında dışa dönük (everting), Lembert 1826 yılında içe dönük (inverting) dikiş tekniklerini geliştirmiştir. Halsted, anastomozun güvenli olması için dikişin submukozadan geçmesi gerektiğini savunmuştur (66-67). Distal rektum anastomozlarını kolaylaştırmak için lastik veya metal tüpler kullanılmış ama kullanımı sınırlı kalmıştır. Günümüzde bu anastomozlar için ilk stapleri 1959'da Rusya'da Ravitch yapmıştır (68).

2.6.1. Anastomoz teknikleri

Gastrointestinal sistem anastomozları ile ilgili olarak değişik teknikler ve kullanılan materyaller hakkında literatür bilgisi olarak çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Kolokolik, kolorektal ve enterokolik anastomozlar çeşitli sütür materyalleri kullanılarak farklı tekniklerle (69) (tek kat-çift kat-everting, devamlı-separe dikiş, ucucu-uç yan-yanyan, el veya stapler ile, biofragmentabl anastomotik halka ile) yapılabilir.

Tek kat anastomozlar literatürde çift katlılardan daha sonra tanımlanmışlardır. Tüm çift kat anastomozlar aslında benzer şekilde yapılırlar. Çift kat anastomozlar absorbe edilen bir sütür materyali ile sürekli ya da aralıklı yapılan bir iç kat ve absorbe olan ya da olmayan sütür materyali ile aralıklı yapılan dış kattan oluşur. Çift kat anastomozların güvenli iyileşme için zorunlu olduğuna uzunca bir süre inanılmıştır, fakat bu anastomozların patolojik incelemeleri mikroskobik nekroz alanları ve iç kata ait alanlarda strangülasyona bağlı doku dökülmeleri olduğunu göstermiştir (69). Hayvan çalışmaları tek kat anastomozların daha çabuk yapılabildiklerini (70), bağırsak lümeninde daha az daralmaya neden olduklarını (71-72), damarlanmanın ve mukozal iyileşmenin daha hızlı olmasına olanak sağladıklarını (73), ameliyat sonrası ilk birkaç günde anastomozun gücünü arttırdıklarını göstermiştir (69).

2.6.2. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi

Gastrointestinal anastomotik kaçak ve ayrılma, yüksek mortalitesi olan önemli bir problemdir (74). Yapılan klinik çalışmalarda kolon anastomozu kaçak oranı %5-69 arasında bildirilmiştir. Sonuçların bu kadar farklılık göstermesinin nedeni;

değerlendirmede kullanılan değişik kriterlerdir. Klinik belirti vermeyen ve tedavi gerektirmeyen küçük kaçaklar ancak titizlikle aranırsa ortaya çıkabilir (75).

Normal şartlarda gerilme kuvveti barsakta, cilt yaralarına göre çok daha hızlı oluşmaktadır (76). Cilt yaralarının aksine barsak yaralarında fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollajen sentezler (77-78). Cilt ve barsak yarasındaki fibroblastlardan kollajen sentezi farklı mekanizmalarla düzenlenir (79). Sağlam gastrointestinal sistemde gerilim gücünün çoğunu submukoza sağlar ve anastomoz yapılmış bağırsak uçlarını bir araya getiren dikişleri tutabilecek güce sahip asıl katman submukozadır. Submukoza başlıca kollajen ve elastik liflerden oluşur ki; %68'i tip1 kollajen, %20'si tip 3 ve %12'si tip 5 kollajenden meydana gelir (80).

Bağırsak anastomozlarının iyileşmesi temelde yara iyileşmesi ilkelerine uygun olarak gerçekleşir. Başlangıçtaki hematoma ve vazokonstriksiyonu, vazodilatasyon ve kapiller geçirgenlik artışı izler (81). İlk dört günde inflamasyon ve ödem mevcuttur, 24-48 saat içinde invagine olan mukoza ve submukozada yaygın inflamatuvar yanıt gelişir ve bu kısım nekroze olarak lümeneye düşer. İnvagine edilen kısım küçükse primer iyileşme görülür. Bu bulgular anastomozu aşırı inverte etmekten kaçınmak gerektiğini gösterir. Mukozal eversiyon ve inversiyon bu işlemi geciktireceği için bağırsak duvarı tam olarak karşı karşıya getirilmelidir. Kaçak riskini azaltmak için serozanın da düzgün bir şekilde yaklaştırılması gerekmektedir (82).

Dördüncü güne doğru intestinal anastomoz bölgesinde granülasyon dokusu oldukça yoğundur. Postoperatif 3-5. günlerde anastomoz hattında daha fazla olmak üzere tüm kolonda kollajenolitik aktivite artar. Dördüncü günden itibaren yara bölgesinde kollajen yapımı ve birikimi belirginleşmeye başlar ve kollajen miktarındaki artışla birlikte anastomoz kuvvetinde de artış meydana gelir (83). Anastomoz kaçacağı açısından en riskli dönem olarak kabul edilen bu dönemde, anastomoz dayanıklılığı konulan dikişler ve anastomoz çevresindeki submukozanın bu dikişlerin gerilimini karşılayabilmesine bağlıdır.

Postoperatif dördüncü günden başlayarak anastomozda güçlü kollajen uyarımı başlamıştır ve izleyen her gün yara kuvveti artar. Postoperatif yedinci günde normalin %50-60'ına, onuncu günde %90'nına ulaşır. Birinci haftada mukoza epiteli proliferasyonu ve submukozal vasküler proliferasyon izlenir (84). Remodelling döneminde granülasyon dokusu azalarak yerini düzenli hücre sıralarına, düz kas hücrelerine ve normal dokuya bırakır.

2.6.3. Anastomoz İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Kolon anastomozunun iyileşmesinde etkili olan faktörler lokal ve sistemik faktörlerdir. Anastomoz iyileşmesine etki eden faktörler tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Anastomoz iyileşmesine etki eden faktörler

Sistemik Faktörler	Lokal Faktörler
Yaş	Anastomozda gerginlik
Derin anemi	İskemi ve nekrotik doku varlığı
Malignite	Lokal enfeksiyon
İmmün Süpresyon	Dikiş materyalleri
İlaçlar, sigara kullanımı	Cerrahi teknik
Üremi	Hematom
Şok, sepsis	Yabancı Cisim
Beslenme ve malnütrisyon	Mekanik Travma
Hipovolemi	Bakteriyel kontaminasyon
Karaciğer yetmezliği	İyonize radyasyon
Vitamin ve mineral eksiklikleri	Distal obstrüksiyon
Enfeksiyon	Ödem

Kolonun anastomoz için hazırlanması esnasında kaba ve fazla immobilizasyonu, hemostaz için aşırı koter kullanımı, kontaminasyonun engellenmesi için konulan klempelerin uzun süreli ve fazla sıkı tutulması, sıkı dikiş ve stapler kritik damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemiye neden olabilir (85). Mobilizasyon yetersiz olduğunda ise anastomozdaki gerilim anastomoz perfüzyonunu bozabilir ve inflamatuvar hücre infiltratları artar. Lokal mikrosirkülasyondaki gerilim en az kolonda tolere edilir (86). Cerrahi teknik de aynı şekilde önemlidir. Yeterli oksijen dağılımı kollajen sentezi sırasında lizin ve prolin hidrosilasyonu için gereklidir. İskemik dokular zayıf iyileşir ve kolaylıkla enfekte olur. Oksijen basıncı 55 mmHg altındaki dokularda kaçak oranı %10’dur, 25 mmHg ve altındaki değerlerde ise iyileşme mümkün değildir (87).

Radyoterapinin gastrointestinal sistem üzerine uzun dönem etkileri arasında fibrozis, striktür formasyonu ve endarteritis obliteransa sekonder iskemi yer alır (88). Kolon ameliyatlarından önce, mekanik bağırsak temizliği ve beraberinde antibiyotik kullanılması anastomoz kaçağı sıklığını önemli ölçüde azaltmaktadır (89). Dikişler

kenardan uygun uzaklığa konulmalı ve düğümler dokuyu sıkıştırmadan, büzmeden güvenli şekilde bağlanmalıdır (90). Anastomoz tamamlandıktan sonra lümen açıklığı, doku kenarlarının canlılığı kontrol edilmeli, gerilim, torsiyon ve distal obstrüksiyon olmadığından emin olunmalıdır. Everting anastomozlarda kaçak riski yüksektir ve daha çok adezyon oluşumuna sebep olur, fakat stenoz insidansı daha azdır. İki kat dikiş iyileşmenin erken döneminde ekstra dikiş materyali ve inverte dokuda iskemi nedeniyle inflamatuvar cevabı arttırlar. İnflamatuvar fazda daha fazla kollajen yıkıldığı için anastomozlar daha zayıf olur. Tek kat dikişi savunanlar da bu yöntemle doku kenarlarına daha az zarar verildiğini ve daha geniş lümen kaldığını öne sürerler (88).

İdeal dikiş materyali, anastomotik bütünlük sağlanıncaya kadar gücünü korumalı, minimal doku reaksiyonu oluşturmali ve enfeksiyonu önlemelidir. Ayrıca düğüm güvenliği de iyi olmalıdır. Lokal enfeksiyonlar anastomoz kaçaklarının en önemli nedenlerinden biridir. Kolon florasının zengin oluşu ve operasyon sırasında çevresel bulaşmalar olması lokal enfeksiyonun nedeni olarak gösterilmektedir (91). Enfeksiyon yara dokusunda kollajenaz aktivitesini arttırarak kollajen miktarında azalmaya neden olur (92). Drenler, enfeksiyona neden olabilecek sıvıları boşaltırlar, ancak organizmalar için peritoneal kaviteye dışarıdan retrograd bir yol oluşturdukları gibi, anastomozda mekanik travma yapabilir, adezyon oluşumunu uyarabilir ve hastaya ağrı verebilirler (88). Yapılan bir çalışmada perianastomotik drenlerin yerleştirilmesinden sonra köpeklerde anastomoz ayrılma insidansında dramatik bir artış (%15'den %55'e) olduğunu göstermiştir (90). Abdominal sepsis varlığında primer anastomozdan kaçınmak gerekir (76). Anastomotik dokunun kollajen sentez kapasitesi sepsiste belirgin olarak azalır (91). Kemoterapötikler, fibroblast proliferasyon inhibisyonu ile veya doğrudan kollajen sentezini azaltırlar. Nötropeni ise yara enfeksiyonuna sebep olabilir ve yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını uzatır (74). Kortikosteroidler antiinflamatuvar etkileri ile hücresel fonksiyonları da baskırlar. Sonuç olarak yara iyileşmesini geciktirirler. Ciddi malnütrisyon karın ve cilt yaralarının gücünde azalmaya neden olur, fakat kolon anastomozlarındaki güç değişikliği daha azdır. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde inflamatuvar fazda polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) yokluğu, yara enfeksiyonuna neden olabilir ki bu inflamatuvar fazı uzatarak yara iyileşmesini geciktirir. Hipovolemi, doku perfüzyonunu azaltarak iyileşmeyi olumsuz etkiler (74). Schrock, Deveney ve Dunphy ameliyat sırasında 15 dakikalık hipotansiyonun anastomoz bozulması riskini arttırdığı bildirmişlerdir (75). Kolon cerrahisi genellikle ileri yaşlarda yapılmakta ve bu da anastomoz kaçağı riskini arttırmaktadır.

Kollajen sentezi ve yara iyileşmesi için gerekli olan C ve E vitaminleri, demir ve çinko eksikliklerinde de iyileşme bozulur (74).

Epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi büyüme faktörleri de fibroblast proliferasyonunu uyararak kollajen sentezini artırır (88). Diyabet, inflamasyonda rol alan nötrofil, makrofaj ve lenfosit fonksiyonunun bozulmasına, fibroblast proliferasyonunun azalmasına, mikrovasküler dolaşım bozukluğu nedeniyle kan akımı azalmasına yol açar. Bu da yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir (74). Habis hastalıklar, katabolik etkileri nedeniyle iyileşmeyi geciktirirler (91). Üremi, sarılık gibi yandaş hastalıklar ve protein sentezinin bozulduğu karaciğer yetmezliği de anastomoz iyileşmesini bozmaktadır (79). Karaciğer fonksiyonlarında bozulma protein sentezi üzerinde olumsuz etkiler yapar ve yara iyileşmesinin bozulması ve yara enfeksiyonu gibi komplikasyonlarda artma olur (90).

2.6.4. Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesi

Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesinde özellikle mekanik, biyokimyasal ve histolojik yöntemler kullanılır, ancak nadir kullanılan diğer bazı yöntemler de bulunur. Histolojik inceleme çoğu zaman kantitatif bir araç olmasa da doku düzeyinde iyileşmenin saptanması açısından önemli bir göstergedir (75).

Mekanik değerlendirme yöntemleri:

Patlama basıncı: Bağırsak segmentinin gaz veya sıvı ile artan intralüminal basınca karşı duvar direncini gösterir (76). Anastomoz sonrası 2-3. günlerde en düşük değerde iken hızla artarak yedinci günde ameliyat öncesi düzeye çıkar ve patlama bu andan itibaren anastomoz hattı dışında bir bağırsak ansından olur. Bu nedenle iyileşmenin erken döneminin değerlendirilmesi için uygundur (88).

Kopma direnci: Anastomoz hattını içeren bağırsak ansının uzun eksenine paralel kesilerek, standart genişlik ve uzunlukta hazırlanan bir şeridin iki ucuna karşıt yönlerde kuvvet uygulanırken kopmaya neden olan kuvvettir. İkinci haftaya kadar olan değerlendirmelerde uygun bir parametredir (88).

Biyokimyasal değerlendirme yöntemleri

Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal parametresi kollajen miktarı tayinidir ve doku kollajen miktarı bir aminoasit olan hidrokisiprolin düzeyinin ölçümü ile saptanır (88).

Histolojik değerlendirme yöntemleri

Işık mikroskobu ile anastomoz hattında epitelizasyon, fibrozis, nekroz, damarlanma ve inflamasyon incelenebilir (88).

2.7. Kök hücre

Bugün için tedavisi mümkün görünmeyen hastalıkların bir çoğu yaşam için vazgeçilmez olan bazı hücre, doku ve organların, bir daha asla normal yapı ve işlevlerine döndürülemeyecek şekilde hasarlanmış olması sonucudur. Parkinson hastalığı, Alzheimer, Multipl skleroz, Tip 1 diyabet gibi birçok hastalığın tedavisini sağlamak amacıyla araştırmacılar; hasar gören hücre, doku veya organların biyolojik işlevlerini yerine koymayı ya da tamir etmeyi sağlayacak yöntemler üzerinde çalışmışlardır.

Kök hücreler, uygun biyokimyasal sinyallerin varlığında farklı hücre tiplerine dönüşebilme özelliğine sahip hücrelerdir. Bir hedef doku veya organa, o organın işlevlerini eski haline getirmeye yetecek kadar sayıda ve kalitede izole edilmiş ve özellikleri belirlenmiş olan hücrelerin nakledilmesiyle bu amaca ulaşılabilir. Kök hücreler, bu amaca hizmet edebilecek yani hücre tabanlı tedavide kullanılacak başlıca unsur olarak görünmektedir (93).

İlk kez Sale tarafından, in vivo plastisite kavramı tanımlanmıştır (94). Bu kavram 1983 yılında allojenik hematopoetik kök hücre nakli sonrası komplikasyon olarak, yaygın akciğer ossifikasyonlarına bağlı olarak solunum yetmezliği tespit edilmesi sonucu ortaya çıkmıştır. Sonraki yıllarda, başta kemik iliğinde bulunan kök hücrelerin in vitro ve in vivo koşullarda yalnızca kaynaklandıkları doku ve organların hücrelerini değil vücudun diğer işlevsel hücrelerine de dönüşebildiklerini (plastisite) gösteren birçok rapor yayınlanmıştır. Diğer erişkin kök hücre kaynaklarına oranla daha kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle kemik iliği kaynaklı kök hücreleri (KİKKH) öncelikli olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilen kök hücreler, tıpta oldukça önemli kaynak olmuşlardır (93).

Kök hücreler buldukları dokuya göre embriyonik kök hücreler ve erişkin kök hücreler olmak üzere iki genel gruba ayrılabilir.

Farklılaşma potansiyellerine göre kök hücreler

1) Totipotent

- 2) Pluripotent
- 3) Multipotent
- 4) Unipotent kök hücreler olarak sınıflandırılırlar (93) .

Totipotent hücre; döllenme meydana geldiğinde oluşan hücre (zigot) tek başına tüm organizmayı meydana getirebilecek genetik bilgiye ve güce sahiptir.

Pluripotent hücre vücuttaki tüm hücrelere dönüşebilecek potansiyele sahip olmalarına rağmen, artık tek başlarına tüm organizmayı oluşturacak güce sahip değildirler (39). Multipotent hücre, birbirine yakın hücre gruplarını oluşturabilen kök hücrelerdir. Kan kök hücreleri, kemik iliğinde bulunur ve gerektiğinde beyaz kan hücrelerine, kırmızı kan hücrelerine ve trombositlere dönüşebilir.

Oligopotent hücre, lenfoid ve myeloid hücrelerde olduğu üzere sadece birkaç hücre grubunu oluşturan kök hücrelerdir. Unipotent hücre, kas ana hücresinde olduğu üzere bir hücre tipini oluşturan kök hücrelerdir (94).

Kök hücreler birden fazla hücre tipine farklılaşabilirler. Bunun en iyi örneği döllenmiş yumurta hücresi ya da zigottan itibaren görülebilmektedir. Bu totipotent hücreler sınırsız farklılaşma ve farklı yönlere gidebilme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Embriyonel kök hücreler yüksek seviyede telomeraz aktivitesi içerirler. Hücre replikasyonu ile aktivasyonda azalma gözlenmez, bu nedenle sınırsız proliferasyon kapasitesine sahiptirler. Embriyonel kök hücreler tüm somatik dokuları oluşturabildiği halde, tam yeni kişiyi oluşturması mümkün değildir (98-99).

Erişkin kök hücrelerinin yaşayan organizmadaki esas görevleri, buldukları dokuyu tamir etmek ve dokunun devamlılığını sağlamaktır. Bazı bilim adamları, erişkin kök hücresi yerine artık “somatik kök hücresi” terimini kullanmaktadır (95-96). Erişkin bir kök hücresi, bir doku veya organdaki farklılaşmış hücreler arasında bulunan farklılaşmamış hücre olup, bu hücre kendisini yenileyebilir ve içinde bulunduğu doku veya organın özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilir.

Erişkin kök hücreler totipotent değil pluripotenttir. Bu hücrelerin geniş bir farklılaşma kapasitesi olsa da embriyonik kök hücreler kadar değildir (97). Erişkin kök hücreleri kendilerini yenileme özelliklerine sahiptirler ve ihtiyaç halinde farklılaşma göstererek doku ve organların tamirini, yenilenmelerini ve yaşamlarını devam ettirmelerini sağlamaktadırlar. Son yıllarda araştırılan birçok dokuda bu kök hücreler bulunmaktadır.

Erişkin kök hücreler ile ilgili ilk çalışmalar hematopoetik kök hücreler ile yapılmıştır (44). Erişkin kök hücreler kemik iliğinde, periferik kanda, kan damarlarında, iskelet kasında, diş dokusunda, miyokardium içinde, karaciğerde, gastrointestinal sistemde, over epitelinde, testislerde, akciğerlerde, meme dokusunda, adipoz dokuda, deride, beyinde, medulla spinaliste, tükürük bezlerinde ve paratiroid bezlerde gösterilmiştir. Erişkin kök hücreler dokular içinde uykuda beklemekte ve ihtiyaç sinyalini aldıktan sonra etkinleşerek bölünmektedirler (96).

İlk kez mezenkimal kök hücrelerin (MKH) kendini yenileyebildiğini, değişik bağ doku elemanlarına farklılaşabileceğini ve fibroblastlara benzer yapıları olduğu Friedenstein 1976'da göstermiştir (98). Ashton ve arkadaşları, 1980'de tavşan kemik iliği stromal hücrelerini izole edip başka hayvanların periton içine implante ederek kemik ve kartilaj oluşumunu göstermişlerdir (96).

Erişkin kök hücrelerine yönelik araştırmaların hızlanması kan hücrelerine köken olan hematopoetik kök hücrelerinin farklı embriyonik kökenli (ektoderm ve endoderm) hücrelere kaynaklı olabileceğinin ortaya çıkmasıyla olmuştur.

Kök hücrelerin kullanımında iki önemli özellik dikkate alınmaktadır:

1) Uygun in vitro ve in vivo şartlarda istenilen hücre ve doku yapısına kolayca ve yüksek oranda dönüşebilmeleri

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

İnsanda ilk kez 2001 yılında Zuk ve arkadaşları tarafından ayrıştırılarak tanımlanan ADKKH Adipoz doku kökenli kök hücreler (ADKKH) lipoaspirasyon sonrasında veya abdominal cilt altı yolla alınmış yağ dokusunun mekanik ve enzimatik yollar ile ayrıştırılması ile elde edilen ve in vitro şartlarda farklanmadan büyüme özelliğine sahip hücrelerdir. Yetişkin kök hücre kaynaklarıyla karşılaştırıldığında düşük verici morbiditesi ve yüksek oranda elde edilebilme özellikleri nedeniyle kök hücre uygulamaları için uygun hücre kaynağı olarak görülmektedir.

Günümüze kadar farklı gruplar tarafından gerçekleştirilen birçok çalışmada bu hücrelerin in vitro gelişimleri ve farklı hücre ve dokulara dönüşümleri incelenmiş, uygun şartlarda ADKKH'in mezoderm kaynaklı kemik, kıkırdak, kas, fibroblast ve endotel hücrelerine dönüşebildiği gösterilmiştir (103-105).

2.7.1. Mezenkimal kök hücreler

MKH'lerin tıbbın birçok alanında kullanım potansiyeli taşımasının temelini oluşturmaktadır. Mezenkimal kök hücreler (MKH), erişkin kök hücre tipidir. Stromal kökenli olmaları nedeniyle genel anlamda “destek hücresi” özelliği taşırlar. Birçok dokudan elde edilebilen, sayıca çoğaltılmaya elverişli dayanıklı hücrelerdir. Salgıladıkları çözünür faktörler, hücreler arası veya hücre dışı matriks ile yakın ilişki halinde bulunmaları nedeniyle içinde buldukları dokuya özel hücrelerin fonksiyonlarına önemli katkı sağlarlar (99). MKH'ler pek çok hücre tipine farklılaşma yeteneğine sahip multipotent kök hücrelerdir. Yağ, kemik, kıkırdak, kas, tendon hücrelerine farklılaşabilirler. Kemik iliği hücreleri kültür kaplarında kültüre edildikleri zaman hızla plastik kültür kabına yapışan hücrelerin kemik iliği stromal hücreleri olduğu, yapışmayan hücrelerin ise hematopoetik hücreler olduğu 1960'lı yıllardan beri bilinmektedir. Son yıllarda ise, stromal hücre sistemine duyulan ilgi giderek artmaktadır. Önceleri, kemik iliği kökenli stromal hücreler, özellikle de MKH'ler, hematopoezi indüklemek amacıyla kullanıma girerken daha sonraları in vivo ve in vitro çalışmalarla aralarında kas, kıkırdak, kemik, sinir, karaciğer, kalp, beyin, adipoz doku, böbrek, akciğer ve bağırsakların da olduğu çeşitli hematopoetik olmayan dokuların parankim hücrelerine farklılaştıkları gösterilmiştir (108-110).

MKH'lerin başta hücreyel tedaviler, doku mühendisliği, bağışıklık baskılayıcı tedaviler ve gen tedavileri olmak üzere birçok alanda klinik kullanım potansiyeli olması bu hücrelere olan ilgiyi giderek arttırmaktadır (100). MKH'lerin kardiyak rejenerasyonda iskemik kalp hastalarında ventriküler yeniden düzenlenme ve diyastolik fonksiyonların yeniden düzenlenmesi gibi olumlu etkileri oluşturabileceği rapor edilmektedir (101). Bu olaylardan sorumlu olan moleküler mekanizmalar ise; apoptozis direncinde artış, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) salgılanmasında artış, hücreyel düzeyde kan akımında artış ve mikrovasküler yapıda artış şeklinde özetlenmektedir (111-113).

Kemik iliği, MKH'ler için de ana kaynak sayılmaktadır. Kemik iliğinde, mezodermden köken alan hematopoetik, endotel ve mezenkimal kök hücreler bulunmaktadır. Kemik iliği dışında birçok dokudan da MKH izole edilebilmektedir. Kemik periost, kas dokusu, diş pulpası ve maksillofasial dokular, karaciğer, lipoaspirasyon materyalleri, kordon kanı, kordon stroması, plasenta, amniyon sıvısı, sinovial sıvı, hatta periferik kandan da adezyon özellikleri nedeniyle ayrıştırılarak çoğaltılabilmeleri

mümkündür (102,103). Mezenkimal kök hücreler, kemik iliği dahil olmak üzere dokularda çok az sayıda bulunmaktadır. Ayrıca yapışma özelliklerine bağlı olarak buldukları dokulardan yeterli sayıda elde edilmelerinde zorluklar vardır. Gerek klinik uygulama, gerekse temel bilim araştırmalarında yeterli hücre sayılarına ulaşabilmek için in vitro ortamda çoğaltılmaları gerekmektedir. Bu hücrelerin in vitro çoğaltılmaya elverişli, dayanıklı hücreler oldukları, kültürde çoğalma ve farklılaşma yeteneklerini korudukları bilinmektedir. Kültür ortamında çoğaltılan MKH'ler ışık veya faz kontrast mikroskobu ile incelendiğinde hücrelerin iğ şeklinde olduğu ve fibroblast benzeri hücre toplulukları oluşturdukları dikkati çekmektedir. Hücreler, düşük konsantrasyonlarda kültür edildiğinde koloni oluşturmaya meyil ederken, daha yüksek hücre yoğunluğunda ise koloni oluşturmak yerine yan yana dizilmiş hücre grupları halinde çoğaldıkları gözlenmektedir (48).

İn vitro kültür ortamında hücrelerin çoğalması için çok özel koşullar gerekmemektedir, %10 FBS içeren kültür ortamında plastik tabanına yapışma göstermiş olan hücreler, fenotipik ve farklılaşma özelliklerini koruyarak çoğalabilmektedirler (43).

Farklılaşma çalışmalarında hedeflenen farklılaşmış hücrelere dönüşüm olup olmadığını göstermek için histokimyasal, immünohistokimyasal veya immünfloresan yöntemler kullanılarak özgül işaretler araştırılır (96).

2.7.2. Kök hücre kaynağı olarak adipoz doku

Mezenkimal kök hücre kaynağı olarak çoğunlukla kemik iliği kullanılmış ancak son çalışmalara bakıldığında yeni kaynaklar tanımlanmıştır. Zuk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada adipoz dokunun mezenkimal hücrelerden oldukça zengin olduğu gösterilmiştir. (46) Adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin kemik iliğinden elde edilen kök hücrelere göre izolasyonlarının daha az acı verici olmaları, lipoaspirasyon yöntemi ile kolayca elde edilebilmeleri nedeniyle adipoz dokunun plastik cerrahide son yıllarda kök hücre kaynağı olarak kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır.

Poznanski ve ark. yaptıkları çalışmada yağ dokusunun kök hücre bakımından oldukça zengin bir doku olduğunu göstermişlerdir (113), ayrıca adipoz doku santimetre küp başına kemik iliğine göre 100 ila 1000 kat daha fazla pluripotent hücre içermektedir (64-65).

Kemik iliği gibi yağ dokusunda embriyonik mezodermden oluşur ve bir stroma içerir. Lipoaspirata kısa süreli kollajenaz muamelesi ve santrifüj uygulaması sonrası elde edilen ürüne “processed lipoaspirate=işlenmiş lipoaspirat” (PLA) denilir. PLA’lar uygun uyaranlar ile osteojenik, myojenik, adipojenik, ve kondrojenik hücelere farklılaşır ve o diziye özel gen ve proteinleri içerir, bu da kök hücre fenotipini teyit eder. Bu nedenle bu doku mezodermal doku tamirinde kullanılabilir. Aspiratla elde edilen PLA fraksiyonu fibroblastik, endotelial hüceler, makrofaj ve düz kas hüceleri gibi heterojen bir gurubu içerir, seri pasajlarla MKH’lere benzeyen homojen fibroblastik bir popülasyon kalır. Uzun süreli kültürlerle PLA’ların büyüme kinetikleri ve farklılaşma kapasiteleri değişmez.

Adipoz doku lipoblastlardan oluşur ve asıl rolü yağ formunda enerji depolamaktır. Adipoz doku adipositlerden oluşmuş olan gevşek bağ dokusudur. Ayrıca vücudun destek ve izolasyonunu sağlar. Adipoz doku; leptin, rezistin ve Tümör Nekroz Faktörü α (TNF α) salgılayarak önemli bir endokrin organ olarak da işlev görür. Adipoz dokunun; enerji depolama, yağda eriyen vitaminleri depolama, fiziksel koruma sağlama ve termogenez fonksiyonlarına ek olarak, günümüzde adipositlerden ve adipoz stromal hücelerden köken alan proteinlerin otokrin, parakrin ve endokrin etkiler ile hem lokal hem de sistemik etkileri olduğu gösterilmiştir. Adipositlerden sentezlenen sitokinlerin homeostazda, immün yanıtta, vazoregülasyonda ve steroid metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir (114).

2.7.3. Kök hücelerin potansiyel kullanım alanları

Son yıllarda kök hüceler tüm tıp dünyasının en çok üzerinde durduğu ve her yıl yüzlerce yeni çalışmanın yapıldığı bir konu haline gelmiştir. Kemik iliği kaynaklı MKH’lerin, de novo miyokard oluşturduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda miyokard enfarktüsü ve koroner arter hastalıklarında intrakoroner kök hücre infüzyonunun, kalp kası rejenerasyonunda oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (106-107). Bundan başka oftalmolojide de araştırmacılar hasar görmüş göze başarılı bir şekilde korneal kök hücre transplante ederek görme kabiliyetini restore etmişlerdir (108). Aynı hücelerin başka uyaranlarla nöral hücre serisine de dönüşebildikleri gözlenmiş ve ALS gibi hastalıklarda spinal kordaki hasarlı bölgeye verilen kök hücelerin ablatif sinir hücelerini rejenere ettiği ve sonuçta lökomotor fonksiyonun geri döndüğü gösterilmiştir (109). Yine en önemli metabolik hastalıklardan tip 1 diyabet hastalığında pankreasta insülin salgılayan beta

hücrelerindeki hasar mekanizmasının moleküler düzeyde anlaşılması ile ilgili yüz güldürücü çalışmalar yapılmıştır (59).

Sıçanlarda yaptıkları çalışmada, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin dorsal cilt fleplerindeki damarlanma üzerine etkisi araştırılmış ve kapiller dansitede iskemi reperfüzyon hasarını azaltıcı yönde belirgin artış tespit etmişlerdir. Kök hücrelerin daha önce terapötik anjiyogenez yapıcı etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olup (120-122), flep cerrahisinde kullanımına ait ilk çalışma ise Ichioka ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (60). Mezenkimal hücrelerin vasküler endotelyal hücrelere farklılaşma yetenekleri olduğu bilinmektedir. Zheng ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, VEGF ve mezenkimal kök hücrelerin birlikte iskemik fleplerde neovaskülarizasyonu arttırdığı gösterilmiştir (111).

Uysal Ç. ve ark. yaptığı çalışmada ise sıçan dorsal cilt fleplerinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarının ADKKH uygulanması ve bir takım büyüme faktörlerinin regüle edilmesi sonucu iskemi reperfüzyon hasarının önlenebileceği gösterilmiştir (112).

2.7.4. Kök hücrelerin dokularda takibi

MKH infüzyonu veya dokuya implantasyonundan in vivo uygulamalarda klinik yarar elde edilse de, bu hücrelerin verildikten sonraki durumu, hasarlı dokuya göçü, yerleşim özellikleri, çoğalmaları, farklılaşma özellikleri, kısacası hücrelerin infüzyonu takiben kaderi detaylı incelenmemiştir.

Çalışmaların çoğunda hücre infüzyonunu takiben hücrelerin, dokularda veya kanda tespitinde zorlukla karşılaşılmaktadır. Hücrelerin yeşil flöresan protein (GFP) ile transfekte edilmesi ve floresan hücrelerin dokularda takibi ise en çok uygulanan yöntemlerden biridir (104-105). Genetik işaretleme kalıcı olması yönünden tercih edilen bir yöntemdir. Kısa süreli deneysel çalışmalarda karboksifloresin diasetat süksinimidil ester (CFSE), 1,1'-Dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) gibi floresan işaretlemeler de kullanılabilir.

2.8. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

2.8.1. Fibrin nedir?

Fibrinojen adı verilen plazmatik molekülün aktive formuna fibrin adı verilir (115). Bu çözünebilen molekül hem plazmada, hem de trombosit α -granüllerinde bulunur ve hemostaz sırasında trombosit agregasyonunda önemli rol oynar.

Koagülasyon sırasında vasküler dalların çevresini koruyan bir çeşit biyolojik yapıştırıcı gibi görev alır. Fibrinojen, tüm koagülasyon reaksiyonlarının son ürünüdür. Çözünebilen bir protein olan fibrinojen, yara bölgesinde polimerize fibrin jel ilk skatrisyel matrisi oluştururken, trombin sayesinde çözünemeyen fibrine dönüşür (126-127).

Fibrin adezivler de doğal biyolojik mekanizmaları ile hemostatik ajan olarak kullanılabilirler (116). Fibrin adezivler kan kökenli materyallerdir.

2.8.2. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

Trombositten zengin fibrin (TZF) ilk defa da Choukroun tarafından ikinci kuşak trombosit konsantrasyon olarak tanımlanmıştır. TZF doğal kan dokusundan elde edilen, yapısında bol miktarda trombosit ve lökosit içeren fibrin matris yapısı anlamını taşımaktadır. TZF hazırlanması esnasında trombin kullanılmaması elde edilen fibrin dokusunun doğal fibrin çatısına sahip olmasını ve büyüme faktörlerinin proteolizinin önlenmesini sağlamaktadır (117).

TZF yapısı büyüme faktörlerinin yanı sıra içerisinde nötrofil ve lökosit barındırmaktadır. İçeriği sayesinde de yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmektedir (118). Bu büyüme faktörleri arasında trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I ve -II), fibroblast kaynaklı büyüme faktörü (FGF- α ve FGF- β) ve transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) sayılmaktadır.

TZF, TZF'nin aksine santrifüj sırasında doğal ve kademeli bir polimerizasyonla oluşur. Polimerizasyon hızındaki bu azalma dolaşan sitokinlerin fibrin ağ ile bütünleşmesini kolaylaştırır. Böylelikle TZF'in fibrin ağlarındaki çözülebilir moleküllerin kontrollü ve daha uzun bir süre boyunca salınabilecekleri iddia edilmiştir (119).

Simonpieri ve ark. (72) göre kemik greftlemesi esnasında TZF kullanımı 4 avantaj sağlamaktadır:

1. İlk olarak pıhtı, greft materyallerini koruyan TZF membranı ve kemik partikülleri arasında biyolojik birleştirici rolünü üstlenen TZF parçacıkları ile birlikte önemli bir mekanik rol oynamaktadır.

2. Bu fibrin ağın rejeneratif bölgeyle bütünleşmesi özellikle damarlanma ve greftin devamlılığını sağlayan endotelial hücrelerin göçünü kolaylaştırmaktadır.

3. Fibrin matriks rezorbe oldukça trombosit sitokinleri (PDGF, TGF-B, IGF-1) kademeli olarak salınır ve böylece daimi bir iyileşme süreci oluşturmaktadır.

4. Fibrin ağ içindeki lökosit ve sitokinler grefte edilen materyal içerisindeki enfeksiyöz ve inflamatuvar olayların regülasyonunda önemli rol oynamaktadırlar.

Choukroun ve ark. (121) TZF'in sert doku üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmada sinüs lift cerrahisi sırasında kemik greftine ek olarak TZF kullanımı incelenmiştir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre TZF ile birlikte kemik grefti uygulanan bölgelerden 4. ayda elde edilen histopatolojik kesitler kontrol grubunun 8. ay kesitleriyle denk bulunmuştur. Sonuç olarak TZF'nin sert ve yumuşak doku iyileşmesini iki kat hızlandırdığı gösterilmiştir. TZF santrifüj esnasında doğal ve kademeli polimerizasyonla oluşur. Bu şekilde de homojen ve doğal fibrin pıhtıya göre daha yapışkan bir yapı meydana gelir. Ayrıca polimerizasyon sırasında sirküle olan sitokinler fibrin ağ içinde hapsolurlar. Sadece sikatriyel matriks oluşumu sırasında salınırlar ve bu şekilde etki süreleri uzar. Kanın fizyolojik trombin konsantrasyonu ile yavaş polimerizasyonu çok elastik matriksiyel bir yapı oluşumunu sağlar. Tersine TZP uygulamalarındaki şiddetli polimerizasyon fibrin matriks içerisinde sitokin birleşmesini zorlaştırır (122). TZF uygulamasında inflamatuvar sitokinlerin daha fazla salındığı görülmüştür. Bunun nedeni TZF'nin lökositik olmasıdır; yani TZF uygulamasında yavaş kan aktivasyon süreci sonucu lökosit degranülasyonu artmaktadır (119). TZF sadece bir trombosit konsantrasyonu değildir, aynı zamanda defans mekanizmalarını stimüle eden bir immün ağ görevi görür (75).

TZF iyileşme ve yumuşak doku maturasyonunun 3 önemli basamağında etkin rol oynar; (76)

- 1) Damarlanma,
- 2) İmmün kontrol
- 3) Epitelial kapanma

Anjiyogenezis için gerekli büyüme faktörleri (FGF- β , VEGF, PDGF) fibrin matriks içinde bulunur. Fibrin anjiyogenezis için doğal bir rehber görevi görür. Bazı çalışmalarda bu faktörlerin fibrine yüksek affiniteyle bağlandığı görülmüştür (76). Anjiyogenezis yara içinde yeni kan damarlarının formasyonudur. Endotelial hücrelerin fenotip değişimi,

migrasyonu ve bölünmesi için ekstrasellüler bir matriks gereklidir. TZF fizyolojik fibrin matriks olarak kök hücreleri için, özellikle damarlanmanın arttığı safhada, bir ağ gibi işlev görür. Kemik iliğinden köken alan mezenşimal hücreler kemik hücreleri ve birçok farklı dokuların rejenerasyonunu sağlar. Bu farklılaşmamış hücreler kandan yaralanmış dokulara gelirler ve birçok farklı hücre tipine dönüşürler. Bu ilk farklılaşma safhası için fibrin ve fibronektin tarafından oluşturulmuş bir skar matriksi gereklidir. Bu durum neden fibrinin bu hücreler için gerekli olduğunun kanıtıdır. Fibrin matriks epitelyal hücrelerin ve fibroblastların metabolizmasını etkileyerek dokuların kapanmasına da rehberlik eder. Fibrin, fibronektin, PDGF ve TGF- β fibroblast proliferasyonu ve bu hücrelerin yara içine migrasyonunda önemli etkiye sahiptirler (124). Fibrinin göçü ve degradasyonu sonrasında fibroblastlar kollajen sentezine başlarlar, (125-127) birçok araştırmacı fibrin matriksin kemik defektlerinin rejenerasyonunda mezenşimal hücrelere destek bir yapı oluşturduğunu göstermişlerdir (123). Klinik çalışmalar TZF'nin iyileşmeyi hızlandırıcı ve arttırıcı bir biyomateryal olduğunu göstermektedir. İdeal iyileşme için gereken tüm parametreleri sağlamaktadır.

2.8.3. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Trombositten zengin plazma olumlu etkileri nedeniyle çok yoğun olarak kullanılmaktadır. Trombositler kemik iliğinde yer alan beyaz kan hücrelerinden köken alan küçük hücre benzeri yapılardır. Bunlar kan pıhtılaşmasını ve yara iyileşmesini düzenlerler.

Trombositler; doku iyileşmesinde görev alan büyüme faktörleri ve sitokinlerce zengin olan alfa ve dens granülleri içeren en küçük kan hücreleridirler. Plazma yapısında kırmızı ve beyaz hücrelerle birlikte pıhtılaşma faktörleri ve diğer kan proteinlerini bulunduran kanın sıvı kısmıdır, %90'ı sudan oluşur ve vücuttaki transport hücrelerini bulundurur. TZP ise normal kan trombosit konsantrasyonundan yaklaşık olarak 3-5 kez daha yoğun trombosit içerir. TZP doku iyileşmesinde önem arz eden inflamasyon, proliferasyon ve remodelizasyon gibi birçok hücrel aktiviteyi düzenler (128-129).

Steril şartlarda alınan kanın santrifüje edilmesi sonucu santrifüj tüpünde 3 farklı katmana ayrılır. En alt kısım kırmızı kan hücrelerinden, orta kısım trombosit ve beyaz kan hücrelerinden oluşurken, en üst kısım ise trombositten fakir plazmadan oluşur.

TZP, Genel Cerrahi, Ortopedi, Spor hekimliği, Maksillofasyal cerrahi, Plastik ve rekonstrüktif cerrahide kullanılmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nda çalışmamız değerlendirildi ve DA 15/20 numarasıyla onaylandı. Çalışmada kullanılan sıçanlar Başkent Üniversitesi Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Ünitesi Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmamızda adipoz kökenli MKH ve TZF(PRF) uygulamasının, zayıflatılmış kolon anastomozu üzerine olan etkileri araştırıldı.

Çalışmada, ağırlığı 360–450 gram (ortalama 410 gram) olan 90 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Her grupta 20'şer sıçan olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Her grupta kendi içinde 10'ar sıçan olacak şekilde iki alt gruba ayrıldı. Kalan 10 sıçan ise adipoz doku ve TZF(PRF) eldesi amaçlı kullanıldı (Tablo 2).

Grup 1A (Kontrol grubu-1, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolent ile devamlı dikişle anastomoz edildi, 7. günde sakrifikasyon sonrası patlama basıncı ölçüldü. Spesmenler hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra patoloğ tarafından değerlendirildi.

Grup 1B (Kontrol grubu-2, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolent ile devamlı dikişle anastomoz edildi, 7. günde intrakardiyak baryum verilmesini takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi, 24 saat -20 derecede tespit edildikten sonraki gün anastomoz bölgesinin üçer cm proksimali ve distalini içine alacak şekilde çıkartılan inen kolona direkt grafiler çekildi. Anastomoz alanı anjiyografik olarak incelendi.

Grup 2A (5-Fu grubu-1, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolent ile devamlı dikişle anastomoz edildi. Anastomoza 5-Fu (20 mg/kg/gün) intraperitoneal uygulandı, 7. günde sakrifikasyon sonrası patlama basıncı ölçüldü. Spesmenler hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra patoloğ tarafından değerlendirildi.

Grup 2B (5-Fu grubu-2, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolent ile devamlı dikişle anastomoz edildi. Anastomoza 5-Fu (20 mg/kg/gün) intraperitoneal uygulandı, 7. günde intrakardiyak baryum verilmesini takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi, 24 saat -20 derecede tespit edildikten sonraki gün anastomoz bölgesinin üçer cm proksimali ve distalini içine alacak şekilde çıkartılan inen kolona direkt grafiler çekildi. Anastomoz alanı anjiyografik olarak incelendi.

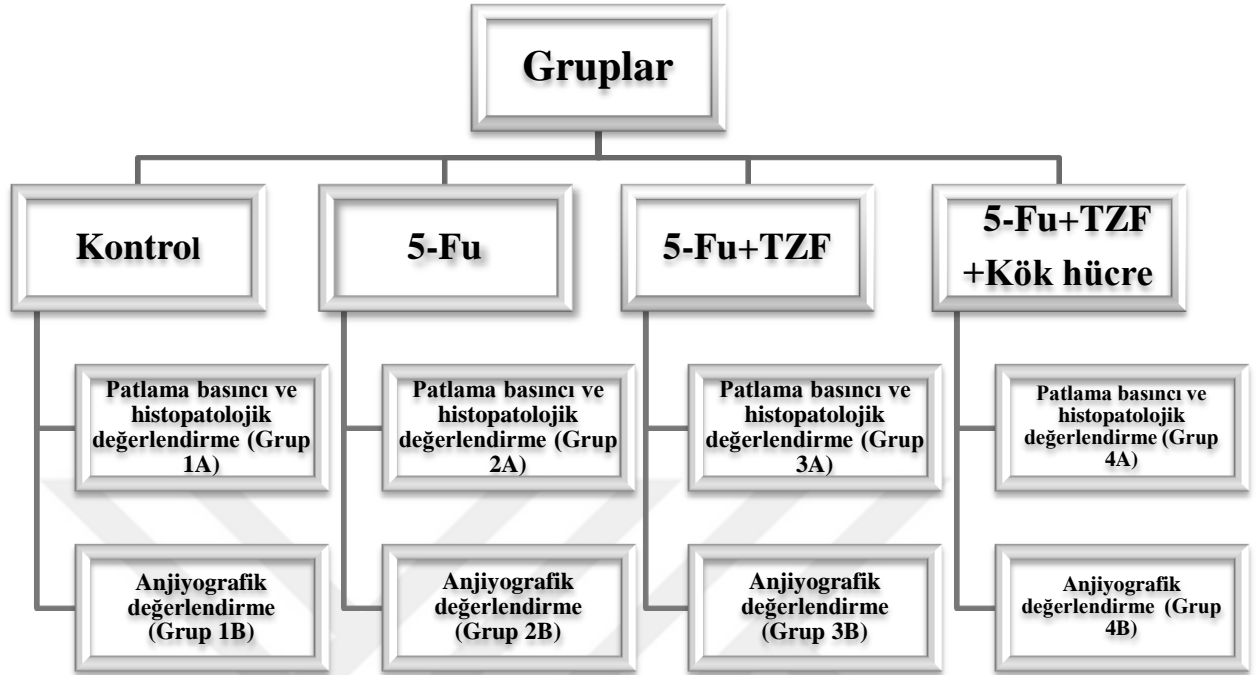
Grup 3A (5-Fu+TZF grubu-1, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolen ile devamlı dikişle anastomoz edildi. Anastomoza TZF sonrasında intraperitoneal 5-Fu (20 mg/kg/gün) uygulandı, 7. günde sakrifikasyon sonrası patlama basıncı ölçüldü. Spesmenler hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra patolog tarafından değerlendirildi.

Grup 3B (5-Fu+TZF grubu-2, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolen ile devamlı dikişle anastomoz edildi. Anastomoza TZF sonrasında intraperitoneal 5-Fu (20 mg/kg/gün) uygulandı, 7.günde intrakardiyak baryum verilmesini takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi, 24 saat -20 derecede tespit edildikten sonraki gün anastomoz bölgesinin üçer cm proksimali ve distalini içine alacak şekilde çıkartılan inen kolona direkt grafiler çekildi. Anastomoz alanı anjiyografik olarak incelendi.

Grup 4A (5-Fu+TZF+kök hücre grubu-1, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolen ile devamlı dikişle anastomoz edildi. Anastomoza TZF ve kök hücre uygulandıktan sonra intraperitoneal 5-Fu (20 mg/kg/gün) verildi, 7. günde sakrifikasyon sonrası patlama basıncı ölçüldü. Spesmenler hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra patolog tarafından değerlendirildi.

Grup 4B (5-Fu+TZF+ kök hücre grubu-2, n=10): İnen kolon tam kat kesilip rezeksiyon yapıldıktan sonra 7/0 prolen ile devamlı dikişle anastomoz edildi. Anastomoza TZF ve kök hücre uygulandıktan sonra intraperitoneal 5-Fu (20 mg/kg/gün) verildi, 7. günde intrakardiyak baryum verilmesini takiben sakrifikasyon gerçekleştirildi, 24 saat -20 derecede tespit edildikten sonraki gün anastomoz bölgesinin üçer cm proksimali ve distalini içine alacak şekilde çıkartılan inen kolona direkt grafiler çekildi. Anastomoz alanı anjiyografik olarak incelendi (Şekil 19).

Tablo 3. Grupların dağılımı



Sıçanların inguinal bölgelerinden eksize edilen adipoz dokular uygun işlemlerden geçirilerek MKH izolasyonu ve hazırlanması tamamlandı. ADKKH eldesi amaçlı 4 adet sıçan kullanıldı. Çalışma grubundaki sıçanlara hazırlanan kök hücreler uygulandı. Adipoz doku eldesi sonrası bu amaçla kullanılan 4 sıçan 150 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc) intraperitoneal verilmesi ile sakrifiye edildi.

DiI ile işaretli ADKKH'lerin endotelial hücrelere dönüşümünü göstermek için floresan mikroskopta inceleme yapıldı.

TZF eldesi için 6 adet sıçan kullanıldı. Her sıçandan alınan 8 cc kan, uygun işlemde geçirilerek TZF elde edildi.

Literatürde daha önce kolon anastomozu üzerine yapılan çalışmalar örnek alınarak ve güç analizi yapılarak denek sayıları ve çalışma süresi belirlendi. Cerrahi ile anestezinin etkisi de göz önüne alınarak çalışma sonunda elde bulunan denek sayılarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinin sağlıklı yapılabilmesi için her grup on denekten oluşturulmuştur ve çalışma süresi 7 gün olarak belirlenmiştir (103-104).

3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı

Tüm deney hayvanları 18-20 °C arasında oda ısısında 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık olacak şekilde standart oda şartları sağlandı. Sıçanlar yem ve musluk suyu ile beslendi. Hipotermi oluşmasını engellemek için sıçanlar ışık kaynağı altında ameliyat edildi ve uyanma esnasında da bu uygulamaya devam edildi.



Şekil 5. Deney Hayvanlarının Hazırlanması, Gruplandırılması

Çalışma süresi toplam 7 gün ve toplam 90 sıçanla çalışıldığından, hayvanların barındırıldığı kafeslerin üzerine hangi grup olduğu yazıldı (Şekil 5). Tüm hayvanlara cerrahi sonrası dönemde cilt altı 0.02 mg/kg fentanil (Sufenta 5 mcg, Janssen Cilag Inc. Turkey) ile analjezi uygulandı. Çalışma sonunda tüm sıçanlar, periton içine 150 mg/kg ketamin hidroklorür enjekte edilerek kurban edildi.

3.2. Cerrahi işlem

Sıçanlara, periton içine 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Pfizer inc), 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer inc) uygulanarak anestezi verildi. Anestezi derinliği ekstremitelerden çekme yanıtı ile değerlendirildi. Hayvanlar uyuduktan sonra ameliyat alanları elektrikli tıraş makinesi ile temizlendi ve cerrahi masaya sırtüstü gelecek şekilde dört ekstremiteden flaster ile tespit edildi. Ameliyat alanı %10 povidon-iodin (Batticon antiseptik solüsyon, Adeka Ltd. Türkiye) ile temizlendi ve cerrahi boyunca sterilite koşulları sağlandı (Şekil 6).

Tüm gruplarda sıçanlara anestezi verilmesini takiben, ksifoidin 1 cm altı ile pubisin 1 cm üzeri olacak şekilde insizyonla cilt-cilt altı ve fasya geçilip laparotomi yapıldı. İnen kolon dışarı alındı ve tam transekte edildi. Daha sonra 1 adet 7/0 prolen devamlı dikişle uç uca tek sıra kolon anastomozu yapıldı. İşlem sonrası sıçanların fasyaları ve ciltleri 3/0 ipek dikişlerle devamlı olarak kapatıldı.

Kontrol grubunda anastomoz yapıldıktan sonra fasya ve cilt kapatılmadan 3 cc sf intraperitoneal verildi. Diğer üç gruptaysa anastomoz üzerine, hazırlanan TZF ,TZF+kök ve hücre ve intraperitoneal 5-Fu (20 mg/kg/gün) uygulandı (Şekil 13-15).

Tüm sıçanlar postoperatif 7. günde anestezik kullanılarak sakrifiye edildi. Patlama basıncı ölçümü yapılacak olan sıçanlar laparotomi ile yeniden açıldı. Anastomoz yapılan inen kolon bulundu. Karın içi yapışıklıklar değerlendirildi. Anastomozun 3 cm proksimali ile 3 cm distali rezeke edilerek patlama basıncı ölçüldü. Basınç ölçümü sonrası spesmenler patolojik değerlendirmeye alındı. Anjiyografik değerlendirme grubundaki sıçanlar da laparotomi ve torakotomi ile yeniden açıldı. Kalp ortaya konduktan sonra intraket yardımıyla baryum verildi. Sıçanın karın içi organları ve anastomoz bölgesi baryum ile boyanınca yeterli baryum verildiğine karar verildi. Bir gece -20 C⁰ derecede bekletildikten sonra ertesi gün anastomozun 3 cm proksimali ve distali rezeke edildi. Çıkan spesmen antimezenterik yüzünden kesilip tespit edildikten sonra direkt grafisi çekildi.

3.3. Adipoz doku temini

Sıçanların abdominal ve inguinal bölgeleri anestezi sonrası tıraş edildi ve sırtüstü pozisyonda cerrahi masaya tespitleri yapıldı. İnsizyon ksifoidin yaklaşık 1 cm altından başlatıldı ve karın orta hat boyunca vertikal ekseninde devam edildi. Median insizyonun tamamlanmasını takiben, pubisin yaklaşık 1 cm superior seviyesinde, insizyon bilateral inguinal bölgelere doğru uzatıldı. İnsizyonların tamamlanması ardından cilt flepleri cilt altı planda yapılan disseksiyonla kaldırıldı. İnguinal bölgelerdeki yağ yastıkları ortaya kondu.



Şekil 6. Adipoz doku temini öncesi

İnguinal yağ yastıkçıkları çıkarıldı, 4 sıçandan yaklaşık 20 cc kadar yağ doku elde edildi. Eksize edilen yağ dokular, serum fizyolojik ile yıkanarak steril kaplara alındı. Adipoz doku homojenize edildi (Şekil 7).

3.4. Mezenkimal Kök Hücrenin Takibi

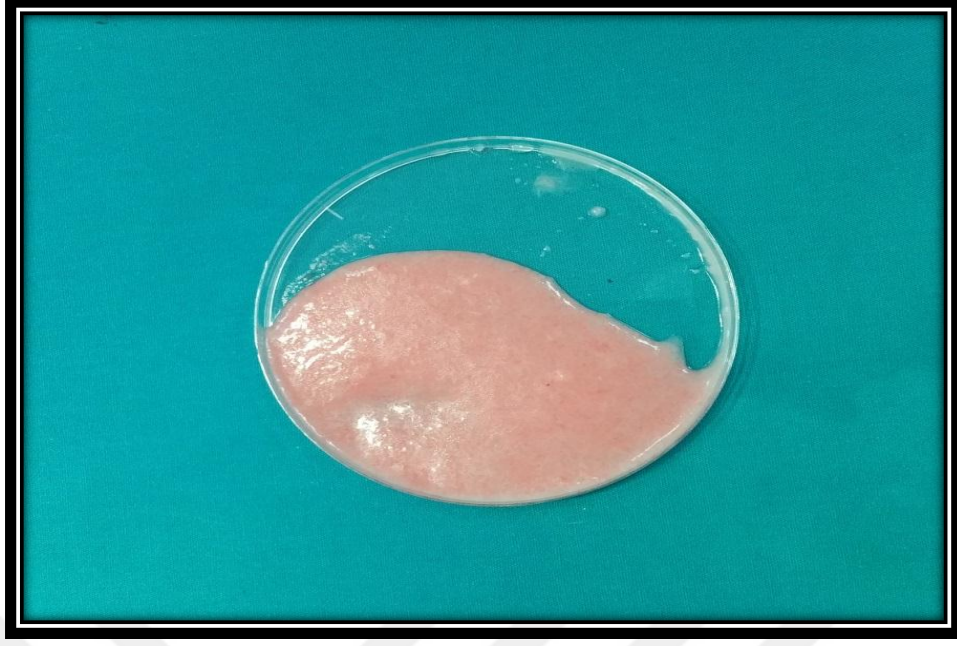
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarı'nda tarafımızca Mezenkimal kök hücrelerin izolasyonu, hazırlanması ve işaretlenmesi işlemleri yapıldı. Adipoz kökenli mezenkimal kök hücre elde edilmesinde Ogawa ve ark.'nın yayınlamış oldukları protokol uygulandı (142).

Sprague-Dawley cinsi 4 adet sıçanın inguinal bölgesinden alınan adipoz dokular PBS ile yıkandı. Takiben 100 mm²'lik petri kaplarına alınan dokular burada mekanik olarak no:15 bistüri ve doku makası yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. Bu esnada vasküler ve fibrotik yapılar ayıklanarak uzaklaştırıldı. Ayırma işlemi tamamlandıktan sonra kalan adipoz dokular yeni petri kaplarına alındı. Sonrasında dokular, 3 defa PBS ile 5 dakika boyunca yıkanıp süspansiyon haline getirildi. Yıkama işlemini takiben dokular 50 cc'lik konik santrifüj tüplerine alındı, 0,3 mg %0,15'lik tip 1 kollajenaz, tüplerin içindeki dokuların üzerine eklendi, 37 °C'de 30 dakika çalkalamalı su banyosunda bekletildi. Bekleme süresi içinde her 10 dakikada bir örnekler çıkarılıp hızlıca karıştırıldı. Bekleme

süresinin sonunda kollajenazı nötralize etmek için homojenize olan süspansiyona eşit volümde (15 ml) kontrol fetal bovine serum (FBS) eklendi ve 5-10 dakika kadar karıştırıldı. Oluşan süspansiyon 200 µm'lik hücre süzgecinden geçirilerek hücre dışı dokular (örn: fasya, bağ doku, vb.) temizlendi. Takiben hücre süspansiyonu 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda tüpün üst kısmında kalan süpernatant atıldı, alttaki birikmiş kök hücrelerin olduğu pellet dikkatli bir şekilde alınarak 10 cc'lik santrifüj tüpüne konuldu. Diğer 50 cc'lik konik tüplerde kalan hücrelerde aynı 10 cc'lik tüpte toplandı. Üzerine 10 ml PBS eklendi ve tekrar süspansiyon haline getirildi. Sonrasında bu süspansiyonda kaç hücre olduğunu hesaplamak amacıyla 0,1 ml alınarak metilen mavisiyle boyandı ve ışık mikroskobu altında Thoma lamında 20 lik büyütmede hücre sayımı yapıldı 25×10^7 adet hücre sayıldı (Şekil 8). Hücre sayımını takiben 10 cc'lik hücre süspansiyonu 1300 rpm'de 5 dakika tekrar santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmında kalan süpernatant atıldı, alt kısımdaki sayısını bildiğimiz kök hücrelerin olduğu pellet bırakıldı.

1,1'-Dioktadesil-3,3,3',3'-tetrametilindokarbosiyanin (DiI) bir tür sitoplazmik boyadır. Sitoplazmaya bağlandıktan sonra hücrenin transplante edildiği bölgede takibini sağlamaktadır (79; 105-108).

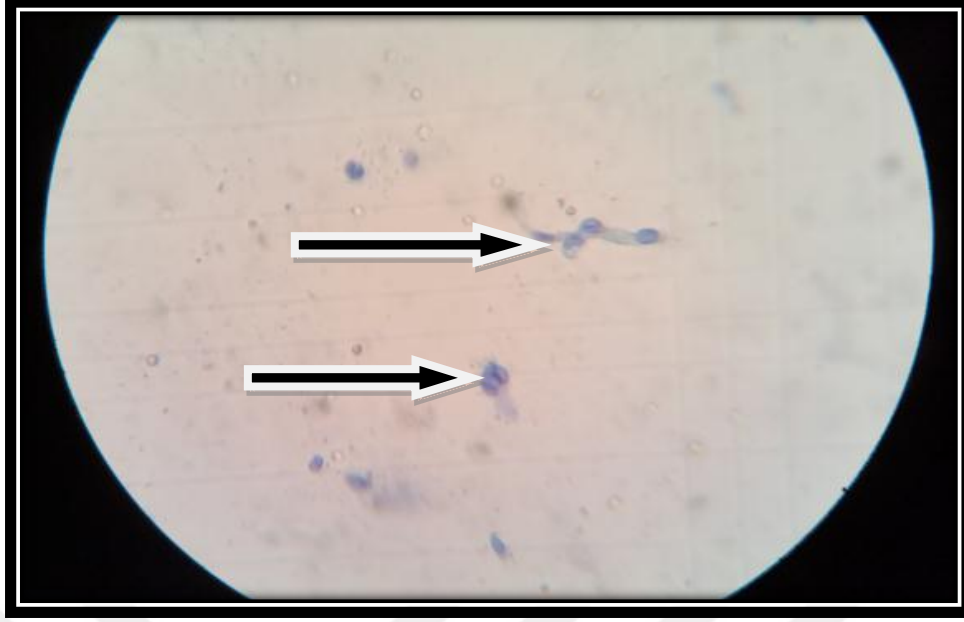
DiI, %25'lik konsantrasyonda %99'luk etanol çözeltisinde çözüldü ve -20 °C'de saklandı, 1/100 oranında PBS ile dilüe edildi. DiI partiküllerinin ayrılması için 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüpün üst kısmında kalan süpernatandan 200 µl kullanılmak üzere alındı. Buz dolu kabın içindeki kök hücrelerin bulunduğu tüpe 200 µl DiI eklendi. 4 °C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süreçte DiI kök hücrelerin sitoplazmik membranlarına bağlandı. İnkübasyon periyodunun sonrasında, DiI sitoplazma bağlantısının fiksasyonu için 7 ml PBS konuldu ve karıştırıldı. Hücre DiI fiksasyonunun ardından, süspansiyon 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda tüpün üst kısmında kalan süpernatant atıldı, alttaki 25×10^7 adet DiI işaretli kök hücrelerin olduğu pelletin üzerine 5 ml PBS (%1 penisilin/streptomisin içeren) eklendi, karıştırıldı ve tekrar süspansiyon haline getirildi. Elde edilen süspansiyon TZF'e homojenik olarak karıştırıldı. Toplam 20 sıçana verileceğinden 1 sıçana uygulanacak miktar $1,3 \times 10^7$ hücre olarak belirlendi.



Şekil 7. Adipoz dokunun homojenizasyonu

3.5. Trombosit Zengin Fibrinin Hazırlanışı ve Uygulanması

Sıçanlar subkostal insizyonla açılarak kalp ortaya kondu. Yaklaşık 8 cc kadar kan alımı sonucu sıçanlar sakrifiye oldu. Alınan kan örneği TZF'e için yeterli oldu. Alınan kan 0.109 mol/L sodium sitrat içeren tüplere konuldu. Alınan bu tüpler santrifüj cihazında ilk olarak 10 dk 450 G de santrifüje edildi. Daha sonra supernatant kısmı alınarak 850 g de 15 dk daha santrifüje edilerek, altta trombositten zengin plazma ve üstte trombositten fakir plazma olarak ayrışan plazmanın alttaki trombositten zengin kısmı aspire edilerek tüplere konuldu (80). Sadece trombositten zengin plazma kısmı kullanıldı. Elde edilen bu trombositten zengin plazma örnekleri trombosit aktivasyonunu sağlamak için 1/0.15 oranında %10 luk Calcium Chloride (CaCl) ile karıştırıldı (81), 10 dk beklendikten sonra kullanıma hazır bir materyal elde edildi (Şekil 12). Sonrasında sıçanların anastomozlarının üzerine tatbik edildi (Şekil 13).



Şekil 8. Metilen mavisiyle boyanan kök hücrelerin ışık mikroskopunda görüntüsü
(Kök hücreler ok ile gösterilmekte)

3.6. Anastomoz patlama basıncı ölçümü

Anastomozun 3 cm distali, 3 cm proksimali ve anastomoz hattını içine alacak şekilde barsak rezeksiyonu edildi (Şekil 10). Mevcut fekal içerik serum fizyolojik ile yıkanarak uzaklaştırıldıktan sonra bir ucu infüzyon pompasına bir ucu da monitörün arter yoluna olmak üzere kolon 3/0 ipek dikişlerle bağlandı. İnfüzyon pompasıyla 1,6 ml/dk serum fizyolojik verilerek kolon segmenti şişirildi. Bu sırada monitörden sistemin basıncı takip edildi. Monitörde basıncın çıktığı en yüksek değer tespit edildi (Şekil 11) ve anastomoz patlama basıncı olarak kaydedildi (82). Ölçümler esnasında JMS BP-100 infüzyon pompası ve Datascope SC 9000XL monitor kullanıldı (Şekil 9).



Şekil 9. JMS BP-100 infüzyon pompası,Datascope SC 9000XL monitör



Şekil 10. Anastomoz sonrası rezeksiyon yapılan barsak segmentleri



Şekil 11. Anastomoz patlama basıncı ölçümü

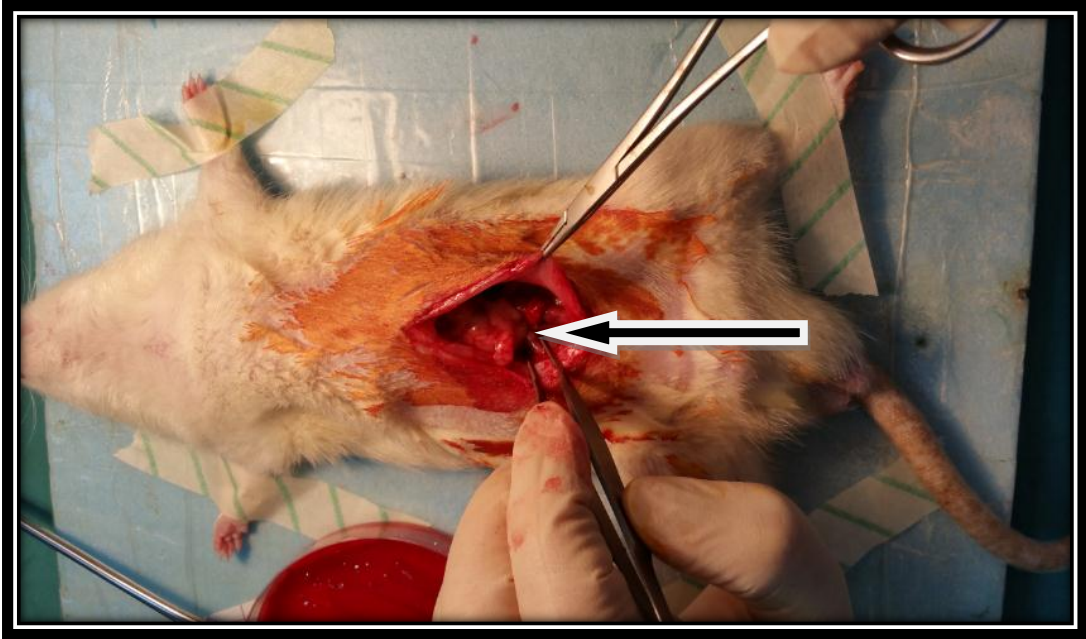
3.7. Patolojik değerlendirme

Anastomoz yapılan kolon segmentleri patolog tarafından gruplar bilinmeksizin, tek kör olacak şekilde hazırlandı. Parafin bloklar halinde hazırlanan doku örnekleri Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskobu (Olympus CX 41, Ankara, Türkiye) altında bir patolog tarafından anastomozdaki anjiyogenez, mukozal reepitelizasyon, fibrozis, iskemik nekroz ve inflamasyon incelendi.

Anastomoz hattında iskemik nekroz varlığı, vasküler proliferasyon ve inflamasyonun derecesi, reepitelizasyon fibrozisin olup olmaması ve yoğunluğu değerlendirildi (83).



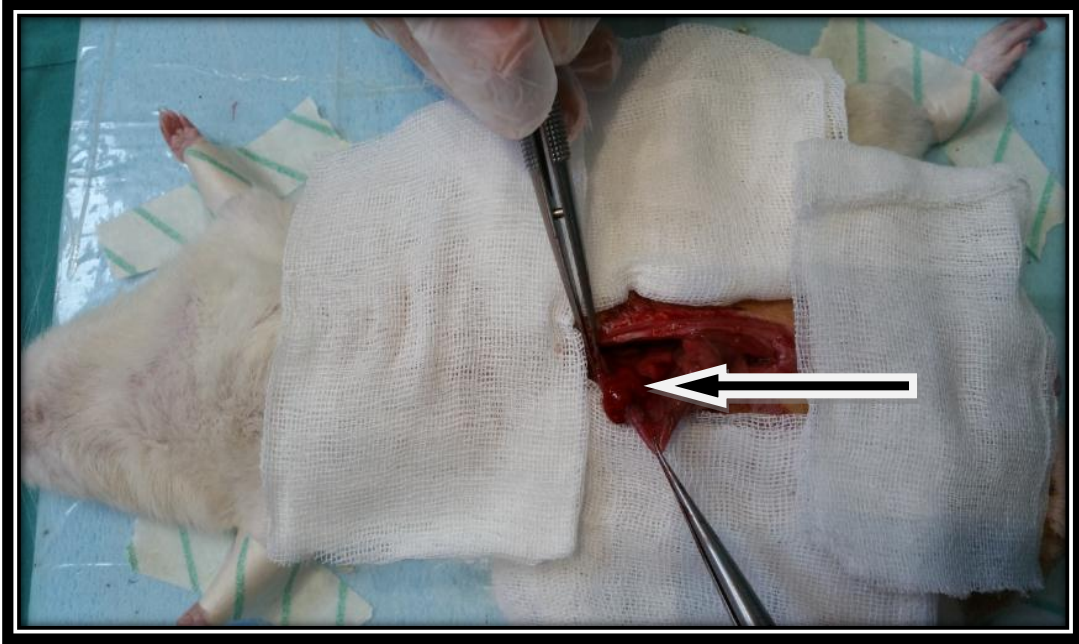
Şekil 12. Trombositten zengin fibrin (TZF)



Şekil 13. Kolon anastomozu üzerine TZF tatbik edilmesi sonrası
(Anastomoz hattı okla gösterilmekte)



Şekil 14. Kök hücre hazırlanması

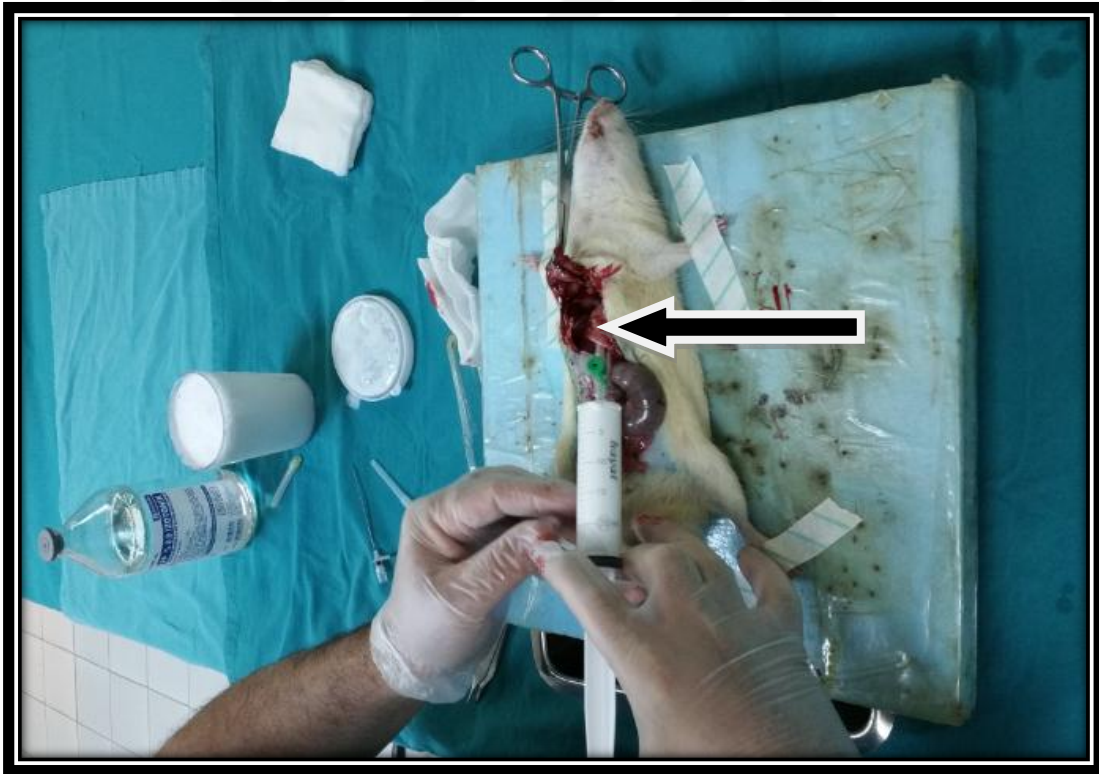


Şekil 15. Kolon anastomozu üzerine kök hücre tatbik edilmesi sonrası

(Anastomoz hattı okla gösterilmekte)

3.8. Anjiyografi protokolü

Anestezi verilmesini takiben postoperatif 7. günde subkostal insizyonla kalp ortaya konuldu. İntraket yardımıyla 1:1 oranında SF ve baryum ile hazırlanan opak madde kalbe yavaş puşe verildi (Şekil 16). Her sıçana, dokulara gözle görülür miktarda baryum ulaşınca kadar enjeksiyon devam etti. Bir gece -20 derecede muhafaza edilen sıçanlar, ertesi gün çözüldü. Anastomozun 3 cm proksimali ve distalini içine alacak şekilde rezeksiyon yapıldı. Köpük levha üstüne tespit edildikten sonra direkt grafileri çekildi (Şekil 20).



Şekil 16. İntrakardiyak baryum verilmesi

3.9. İstatiksel Yöntem

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli sayısal değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun dağılıp dağılmadığı Shapiro Wilk testiyle varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli sayısal değişkenler için ortalama \pm standart sapma biçiminde, ordinal değişkenler medyan (minimum-maksimum) şeklinde, nominal değişkenler ise denek sayısı ve (%) olarak gösterildi.

Gruplar arasında ortalama vücut ağırlığı ve kilo kaybı yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Tek Yönlü Varyans Analizi sonuçlarının önemli bulunması halinde post hoc Tukey HSD testi kullanılarak farka neden olan durum(lar) tespit edildi.

Kontrol grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF(TZF) grubu arasında ortalama patlama basıncı yönünden farkın önemliliği ise Student's t testiye incelendi.

Gruplar arasında histopaloji ve yapışıklık skorları yönünden farkın önemliliği Kruskal Wallis testiyle değerlendirildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde ise Conover'in parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farka neden olan durum(lar) tespit edildi.

Gruplar arasında mortalite oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı ise Pearson'un Ki-Kare, Fisher's exact ve Olabilirlik Oran testi kullanılarak değerlendirildi.

$p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.10. İşaretli kök hücrelerin tespiti

Parafine gömülü dokulardan 5 μ m kalınlıkta uygun kesitler hazırlanarak sadece hematoksilin ile boyandı. Bu değerlendirme sadece DiI işaretli kök hücre çalışma grubu için yapıldı. Bunun sebebi floresan mikroskopta, eozin boyasındaki kırmızı renk ile DiI işaretli hücrelerdeki kırmızı, mor rengin görüntü açısından karışıklık yaratmasıdır (83). Takip eden kesitlerde hematoksilin-eozin boyamaları da yapıldı. Dolayısıyla

immünfloresan mikroskopta hematoksilen boyalı kesitlerde bakılan endotelyal hücreler, takip eden hematoksilen-eozin boyalı kesitlerde teyit edildi.

Endotelyal hücrelerden mezenkimal kök hücre kaynaklı olanların (DiI ile işaretli olanlar) 565 nm dalga boyundaki floresan mikroskopta kırmızı-mor renkte gözükmesi beklenmektedir (107- 108).

Preparatlar tarafımızca Başkent Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda değerlendirildi. İmmünohistokimyasal incelemeler için floresan mikroskop (Nikon Eclipse E600, Tokyo, Japonya) kullanıldı. Preparatlar 20x, 40x, 60x ve 100x büyütmelemlerde incelendi. Görüntüler, renkli dijital video kamera (Nikon CCD) ile bilgisayar ortamına aktarıldı ve bilgisayar programı olarak Cytovision Genus Software kullanıldı.

3.11. Karın içi yapışıklıkların değerlendirilmesi

Houston ve ark. kullandığı değerlendirme yöntemi (Tablo 3) karın içi yapışıklıkların değerlendirilmesinde kullanıldı (84).

Tablo 4. Yapışıklıkların değerlendirilmesi

1	• Minimal adezyon (Sadece omentum-anastomoz)
2	• Orta derece adezyon (Omentum-anastomoz yada anastomoz -ince barsak karın duvarı)
3	• Yaygın yapışıklık (Birden fazla ince barsak -karın duvarında yapışıklık)

4. BULGULAR

Deneyin başlamasından bitimine kadar olan 7 günlük süre içinde kontrol ve kök hücre grubunda daha az olmak üzere toplam 18 adet hayvan öldü.

4.1. Anastomoz Patlama Basıncı

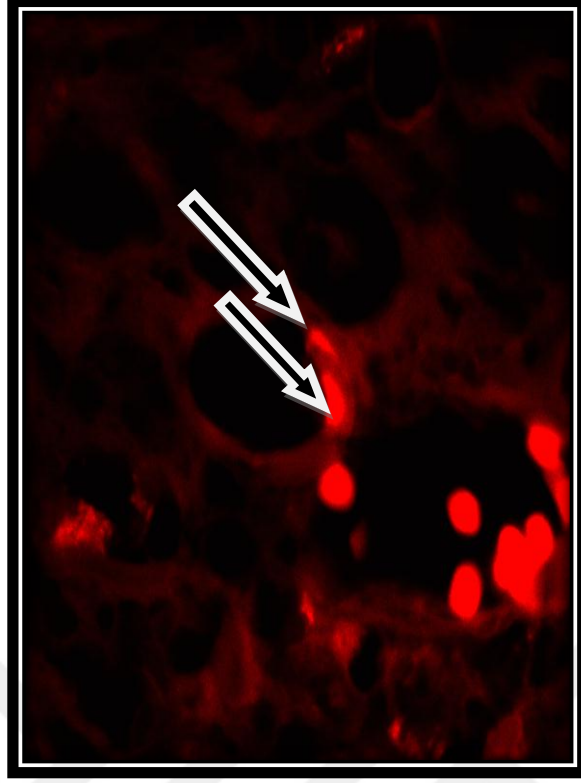
Postoperatif 7.günde 1A,2A, 3A ve 4A grubundaki sıçanlar sakrifiye edilerek patlama basıncı ölçüldü. kontrol grubunda(1A) patlama basıncı ortalaması $147,9 \pm 20,02$ mmHg, TZF+5 Fu+kök hücre grubunda(4A) $150 \pm 28,1$ mmHg olarak ölçüldü, diğer iki grupta anastomoz ayrılması nedeniyle patlama basıncı ölçülemedi .

4.2. Histopatolojik Değerlendirme

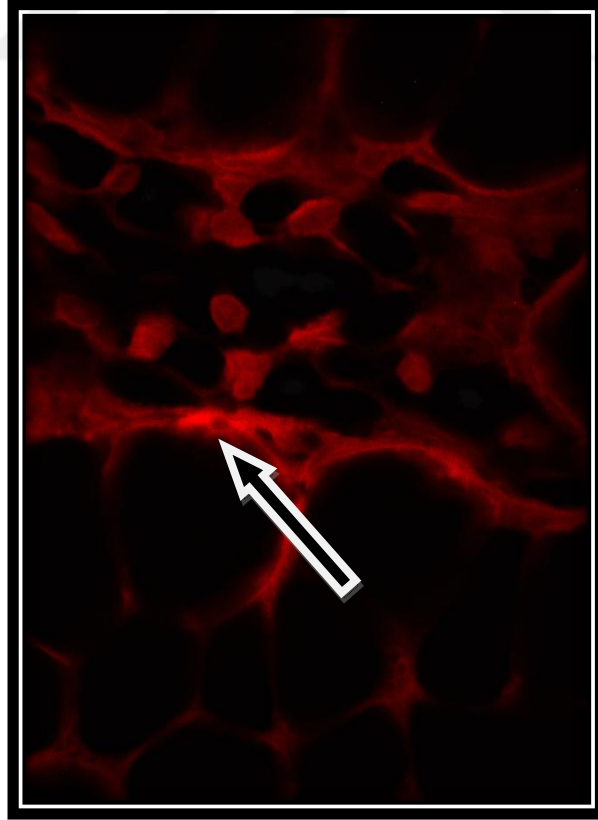
Postoperatif 7. günde sakrifiye edilen 1A, 2A, 3A ve 4A grubundaki sıçanların anastomoz hattındaki reepitelizasyon, fibrozis, iskemik nekroz, vasküler proliferasyon ve inflamasyon değerlendirildi.

4.3. İmmünohistokimyasal bulgular

Dokulardan alınan kesitler hematoksilin-eosin boyasıyla boyandı. Eosin boyasının bırakacağı kırmızı renk ile DiI işaretli hücrelerin karışmaması için eozin ile boyama yapılmadı. İmmünohistokimyasal olarak, DiI ile işaretli adipoz kaynaklı kök hücrelerden transforme olan endotel hücreler, floresan mikroskop altında 565 nm dalga boyunda incelendi. Adipoz kaynaklı kök hücrelerden endotel hücresi dönüşümü ve villus komşuluğunda kök hücre gösterildi.



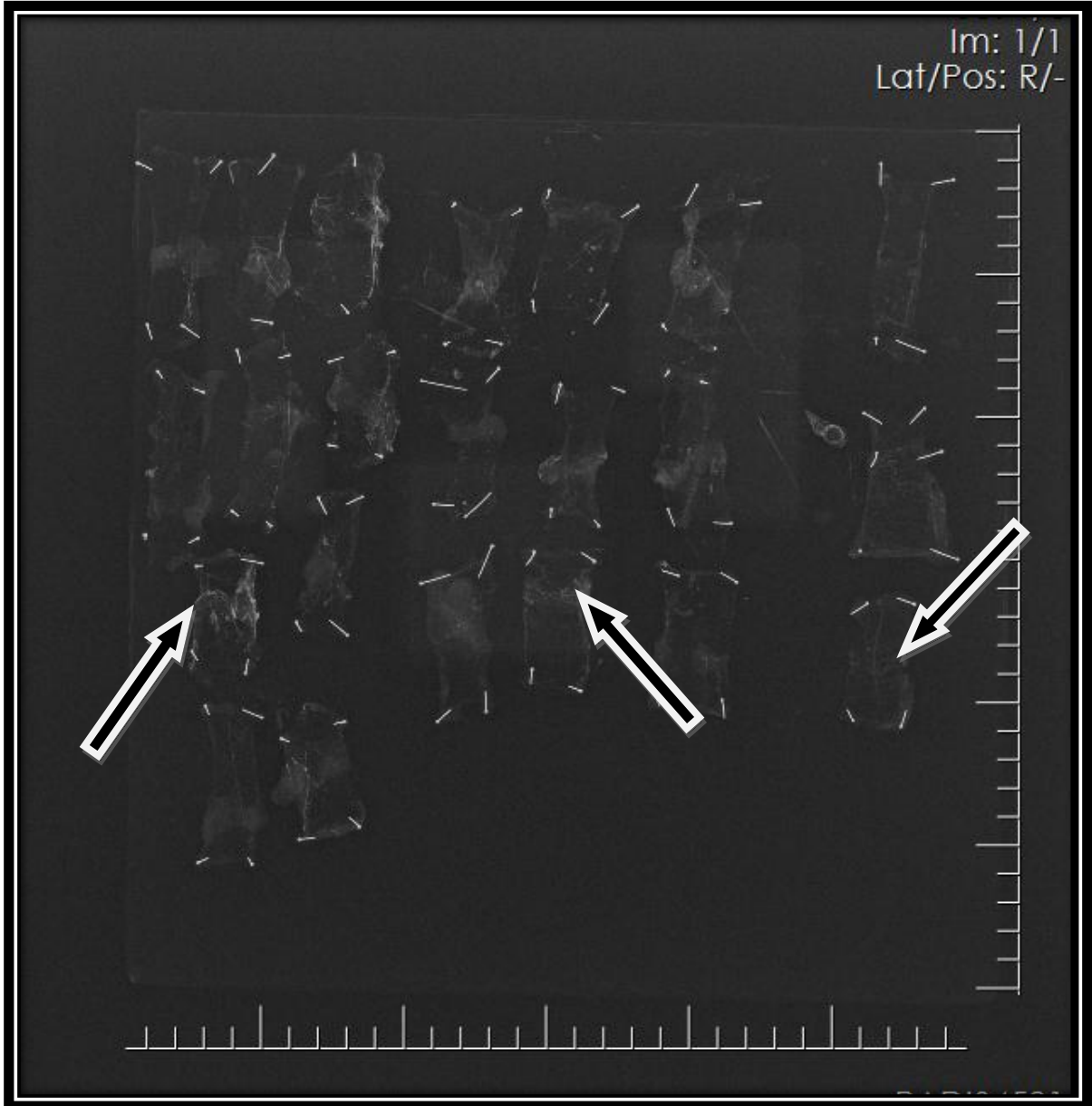
Şekil 17. Endotelde kök hücre (Kök hücreler okla gösterilmekte)



Şekil 18. Villus komşuluğunda kök hücre (Kök hücreler okla gösterilmekte)

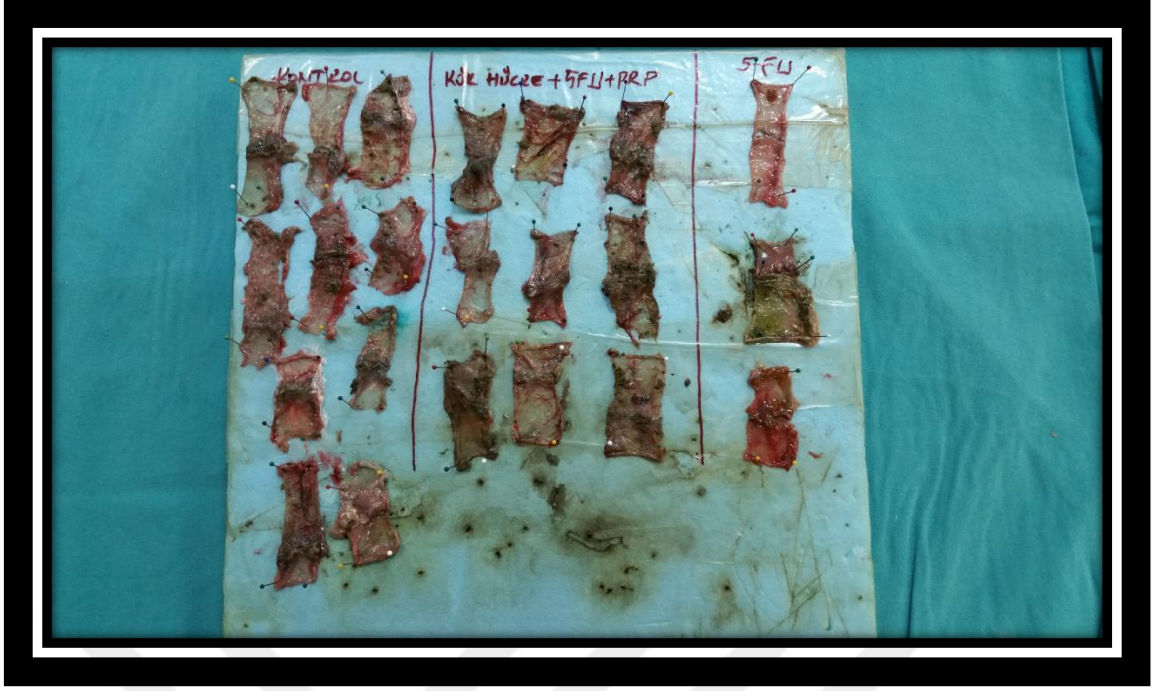
4.4. Anjiyografik Değerlendirme

Postoperatif 7. günde anestezi sonrası intrakardiyak baryum verilen 1B, 2B ve 4B grupları direk grafi çekilmesi sonrası anastomoz bölgesinde anjiogenez değerlendirildi. Bu değerlendirme için Başkent Üniversitesi Ankara hastanesinde kullanılmakta olan PACS programında çekilmiş olan anjiyografilerde anastomozun bulunduğu alan değerlendirildi (Şekil 19).



Şekil 19. Anjiyografi görüntüleri

(Soldan sağa; Kontrol, 5-FU+TZF+Kök, 5-FU grubu, Kolon segmentinin orta kısmında anastomoz bölgesi, radyoopak alanlarda vasküler yapılar izlenmekte)



Şekil 20. Anjiyografi öncesi köpük plağa sabitlenmiş bağırsak anastomozları

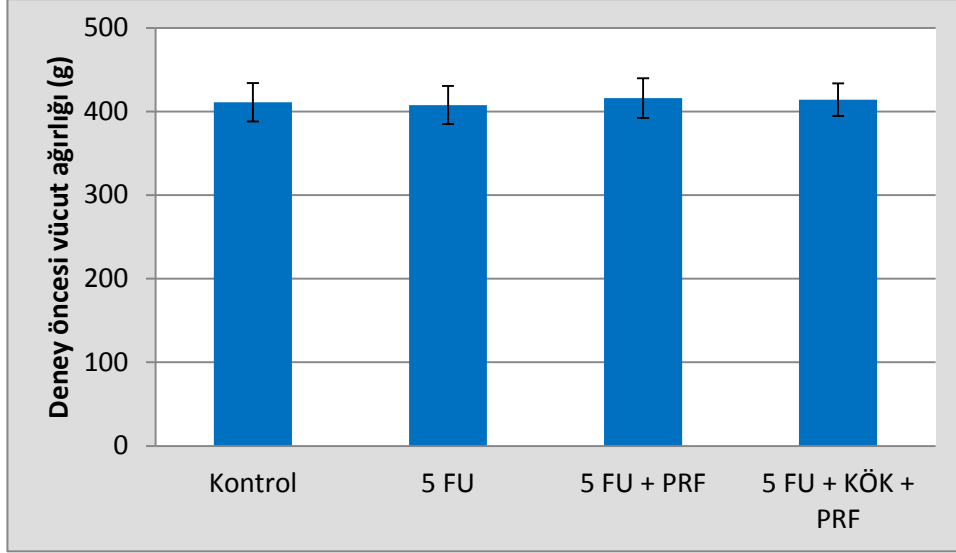
4.5. İstatiksel bulgular

Gruplar arasında deney öncesi ortalama vücut ağırlıkları yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0,852$). (Tablo 5, Şekil 21)

Tablo 5. Gruplara göre deneklerin işlem öncesi vücut ağırlıkları

Gruplar	Vücut ağırlığı (g)
Kontrol	411,1±23,0
5-Fu	407,8±22,8
5-Fu + PRF	416,1±23,6
5-Fu + KÖK + PRF	414,1±19,6
p-değeri	0,852†

† Tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA).



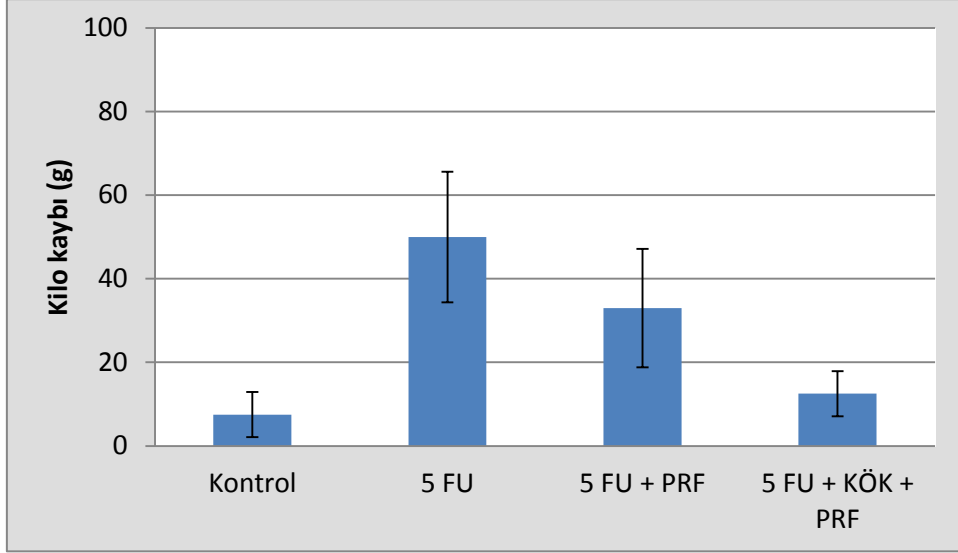
Şekil 21. Grupların deney öncesi kiloları

Gruplar arasında ortalama kilo kaybı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0,001$). Kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda kilo kaybı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,001$ ve $p < 0,001$), 5-Fu grubuna göre 5-Fu + PRF ve 5-Fu + KÖK + PRF gruplarında daha az miktarda kilo kaybı tespit edildi ($p = 0,009$ ve $p < 0,001$), 5-Fu + PRF grubuna göre 5-Fu + KÖK + PRF grubunda da daha az miktarda kilo kaybı görüldü ($p < 0,001$). Kontrol ve 5 Fu + KÖK + PRF grupları arasında ise ortalama kilo kaybı istatistiksel olarak benzerdi ($p = 0,753$). (Tablo 6, Şekil 22)

Tablo 6. Gruplara göre deneklerin kilo kayıpları

Gruplar	Kilo kaybı (g)
Kontrol	$7,5 \pm 5,4^{a,b}$
5-Fu	$50,0 \pm 15,6^{a,c,d}$
5-Fu + PRF	$33,0 \pm 14,2^{b,c,e}$
5-Fu + KÖK + PRF	$12,5 \pm 5,4^{d,e}$
p-değeri	$< 0,001^\dagger$

† Tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA), a: Kontrol grubu ile 5-Fu grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), b: Kontrol grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), c: 5-Fu grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,009$), d: 5-Fu grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), e: 5-Fu + PRF grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$).



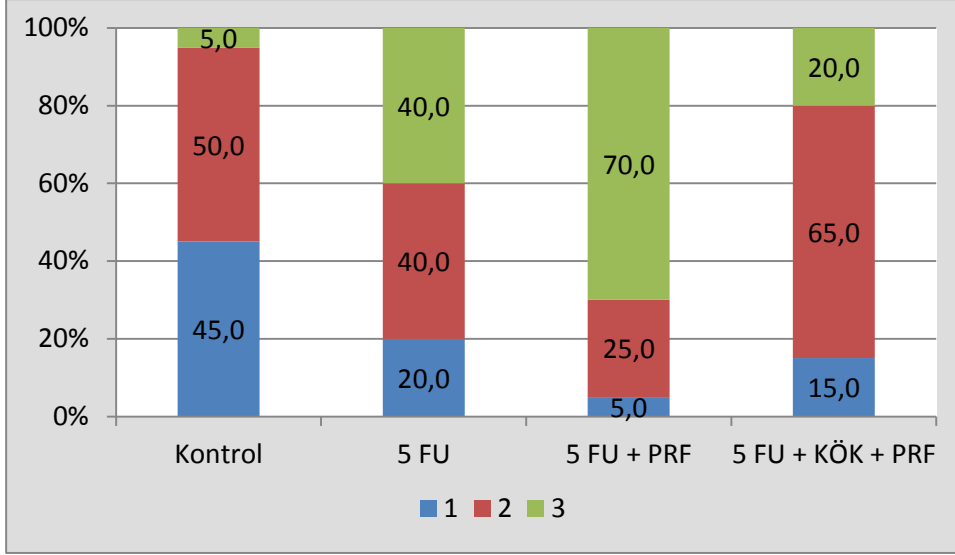
Şekil 22. Grupların kilo kaybı

Gruplar arasında yapışıklık derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p < 0,001$), kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda yapışıklık derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p = 0,007$ ve $p < 0,001$), 5-Fu ve 5-Fu + KÖK + PRF grubuna göre ise 5-Fu + PRF grubunun yapışıklık derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p = 0,039$ ve $p = 0,005$). Kontrol grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasında ve 5-Fu grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasında ise yapışıklık derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p = 0,051$ ve $p = 0,439$). (Tablo 7, Şekil 23)

Tablo 7. Grupların yapışıklık derecesi yönünden gözlemlerin dağılımı

	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF	p-değeri †
Yapışıklık					<0,001
1	9 (%45,0)	4 (%20,0)	1 (%5,0)	3 (%15,0)	
2	10 (%50,0) ^{a,b}	8 (%40,0) ^{a,c}	5 (%25,0)	13 (%65,0) ^d	
3	1 (%5,0)	8 (%40,0)	14 (%70,0) ^{b,c,d}	4 (%20,0)	

† Kruskal Wallis testi, a: Kontrol grubu ile 5-Fu grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,007$), b: Kontrol grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$), c: 5-Fu grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,039$), d: 5-Fu + PRF grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,005$).



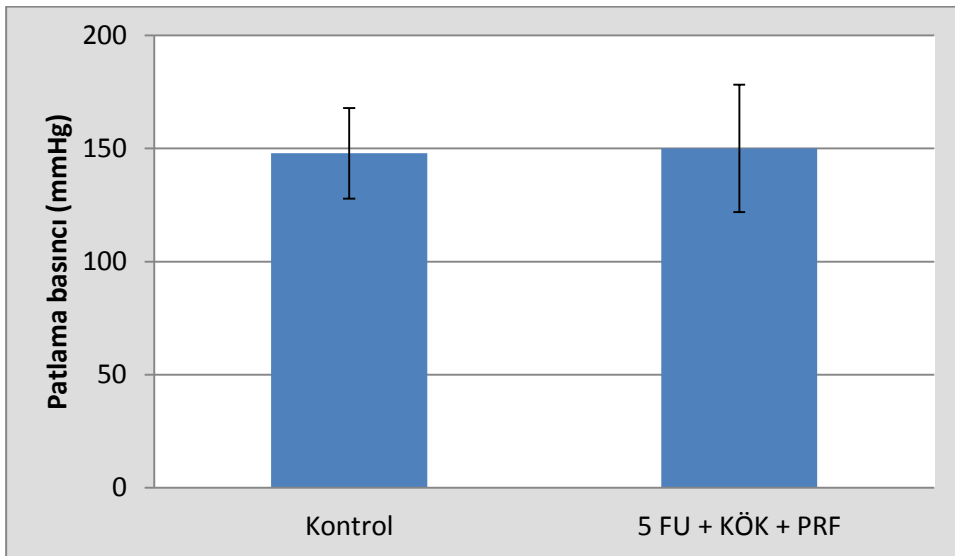
Şekil 23. Grupların yapışıklık derecesi yönünden ortalamaları (Tablo 4)

Kontrol ve 5-Fu + KÖK + PRF grupları arasında ortalama patlama basınçları yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,850$). (Tablo 8, Şekil 24)

Tablo 8. Gruplara göre deneklerin patlama basıncı düzeyleri

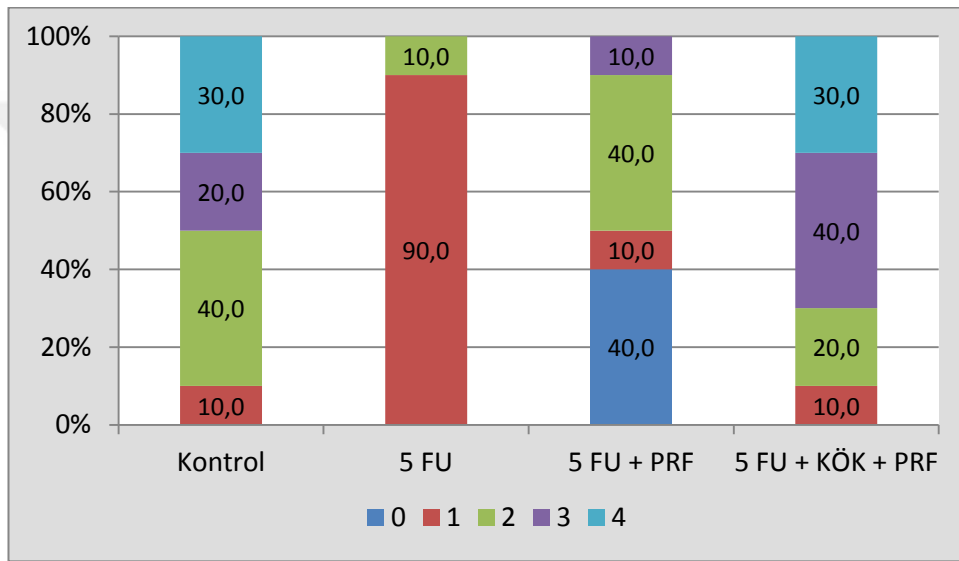
Gruplar	Patlama basıncı (mmHg)
Kontrol	147,9±20,0
5-Fu + KÖK + PRF	150,0±28,1
p-değeri	0,850†

† Student's t testi.



Şekil 24. Grupların patlama basıncı

Gruplar arasında fibrozis derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p < 0,001$), kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda fibrozis derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0,001$ ve $p < 0,001$), 5-FU + KÖK + PRF grubuna göre 5-FU ve 5-FU + PRF grubunda fibrozis derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p < 0,001$ ve $p < 0,001$). Kontrol grubu ile 5-FU + KÖK + PRF grubu arasında ve 5-FU grubu ile 5-FU + PRF grubu arasında ise fibrozis derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p = 0,626$ ve $p = 0,534$). (Şekil 25, Tablo 9)

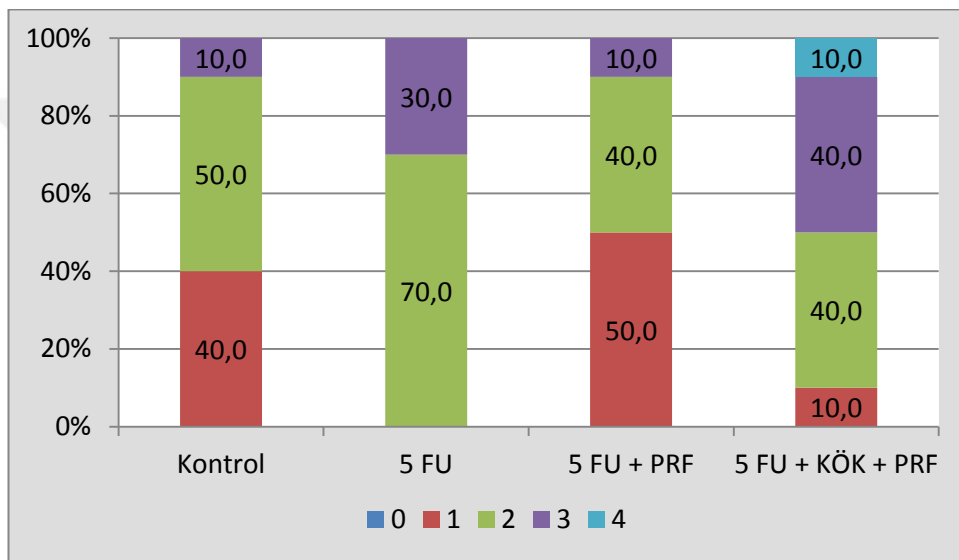


Şekil 25. Grupların fibrozis değerleri ortalamaları

Fibrozis	Kontrol	5-FU	5-FU + PRF	5-FU + KÖK + PRF
0(yok)	0,0	0,0	40,0	0,0
1(çok az)	10,0	90,0	10,0	10,0
2(az)	40,0	10,0	40,0	20,0
3(hafif)	20,0	0,0	10,0	40,0
4(yoğun)	30,0	0,0	0,0	30,0

Tablo 9. Grupların fibrozis değerleri ortalamaları

Gruplar arasında anjiyogenez derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,019$), kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + KÖK + PRF grubunda anjiyogenez derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,020$ ve $p=0,006$), 5-Fu ve 5-Fu + KÖK + PRF grubuna göre 5-Fu + PRF grubunun da anjiyogenez derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,007$ ve $p=0,002$). Kontrol grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasında ve 5-Fu grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasında ise anjiyogenez derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,685$ ve $p=0,607$). (Şekil 26, Tablo 10)

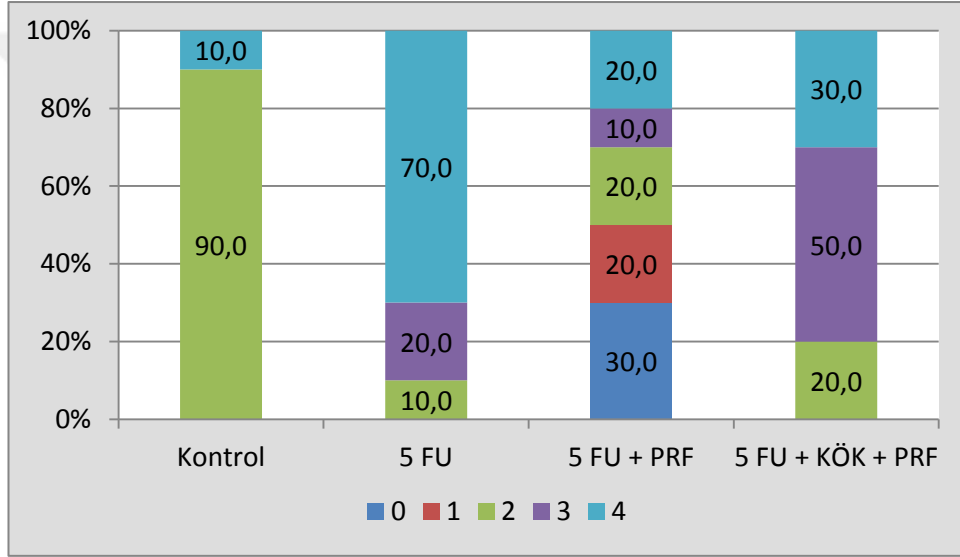


Şekil 26. Grupların anjiyogenez değerleri ortalamaları

Anjiyogenez	Kontrol	5-FU	5-FU + PRF	5-FU + KÖK + PRF
0(yok)	0,0	0,0	0,0	0,0
1(çok az)	40,0	0,0	50,0	10,0
2(az)	50,0	70,0	40,0	40,0
3(hafif)	10,0	30,0	10,0	40,0
4(yoğun)	0,0	0,0	0,0	10,0

Tablo 10. Grupların anjiyogenez değerleri ortalamaları

Gruplar arasında re-epitelizasyon derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,002$), kontrol grubuna göre 5-FU ve 5-FU + KÖK + PRF grubunda re-epitelizasyon derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$ ve $p=0,011$), 5-FU ve 5-FU + KÖK + PRF grubuna göre 5-FU + PRF grubunun da re-epitelizasyon derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,001$ ve $p=0,004$). Kontrol grubu ile 5-FU + PRF grubu arasında ve 5-FU grubu ile 5-FU + KÖK + PRF grubu arasında ise re-epitelizasyon derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,685$ ve $p=0,157$). (Şekil 27,Tablo 11)



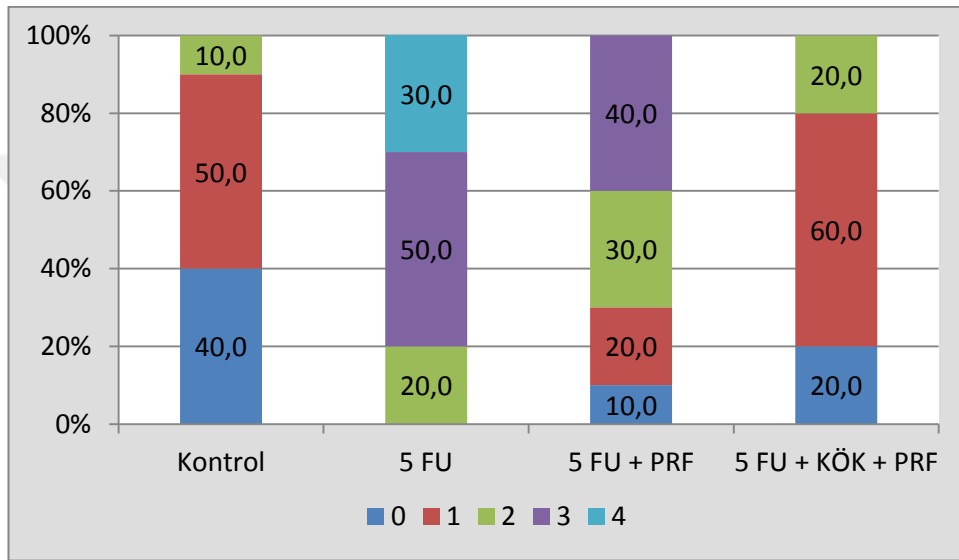
Şekil 27. Grupların reepitelizasyon değerleri ortalamaları

Reepitelizasyon	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF
0(yok)	0,0	0,0	30,0	0,0
1(çok az)	0,0	0,0	20,0	0,0
2(az)	90,0	10,0	20,0	20,0
3(hafif)	0,0	20,0	10,0	50,0
4(yoğun)	10,0	70,0	20,0	30,0

Tablo 11. Grupların reepitelizasyon değerleri ortalamaları

Gruplar arasında iskemik nekroz derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p<0,001$), kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda iskemik nekroz

derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0,001$ ve $p<0,001$), 5-Fu grubuna göre 5-Fu + PRF ve 5-Fu + KÖK + PRF grubunun iskemik nekroz derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,015$ ve $p<0,001$), 5-Fu + PRF grubuna göre 5-Fu + KÖK + PRF grubunun da iskemik nekroz derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0,012$). Kontrol grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasında ise iskemik nekroz derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,411$). (Şekil 28)



Şekil 28. Grupların iskemik nekroz değerleri ortalamaları

İskemik Nekroz	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF
0(yok)	40,0	0,0	10,0	20,0
1(çok az)	50,0	0,0	20,0	60,0
2(az)	10,0	20,0	30,0	20,0
3(hafif)	0,0	50,0	40,0	0,0
4(yoğun)	0,0	30,0	0,0	0,0

Tablo 12. Grupların iskemik nekroz değerleri ortalamaları

Gruplar arasında inflamasyon, nötrofil ve lenfosit derecesi açısından ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p=0,177$; $p=0,487$ ve $p=0,211$).

Gruplar arasında histiyosit derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,012$), kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda histiyosit derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,001$ ve $p=0,032$), 5-FU + KÖK + PRF grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda histiyosit derecesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0,001$ ve $p=0,049$). Kontrol grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasında ve 5-Fu grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasında ise histiyosit derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,850$ ve $p=0,099$). (Şekil 29-30-31)

Gruplar arasında dev hücre derecesi açısından ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p=0,562$). (Tablo 8)

Tablo 13. Grupların histopatolojik açıdan incelenmesi

Değişkenler	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF	p-değeri †
Fibrozis	2,5 (1-4) ^{a,b}	1 (1-2) ^{a,c}	1,5 (0-3) ^{b,d}	3 (1-4) ^{c,d}	<0,001
Anjiyogenez	2 (1-3) ^{a,e}	2 (2-3) ^{a,f}	1,5 (1-3) ^{d,f}	2,5 (1-4) ^{d,e}	0,019
Re-epitelizasyon	2 (2-4) ^{a,e}	4 (2-4) ^{a,f}	1,5 (0-4) ^{d,f}	3 (2-4) ^{d,e}	0,002
İskemik Nekroz	1 (0-2) ^{a,b}	3 (2-4) ^{a,c,f}	2 (0-3) ^{b,d,f}	1 (0-2) ^{c,d}	<0,001
İnflamasyon	3 (2-4)	3 (2-4)	2 (2-4)	3 (2-4)	0,177
Nötrofil	2 (1-3)	1,5 (1-2)	2 (1-3)	2 (1-3)	0,487
Lenfosit	1 (1-4)	2 (1-3)	1 (0-2)	2 (1-3)	0,211
Histiyosit	2 (1-4) ^{a,b}	1 (0-2) ^{a,c}	1,5 (0-3) ^{b,d}	2,5 (0-3) ^{c,d}	0,012
Dev Hücre	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-1)	0,562

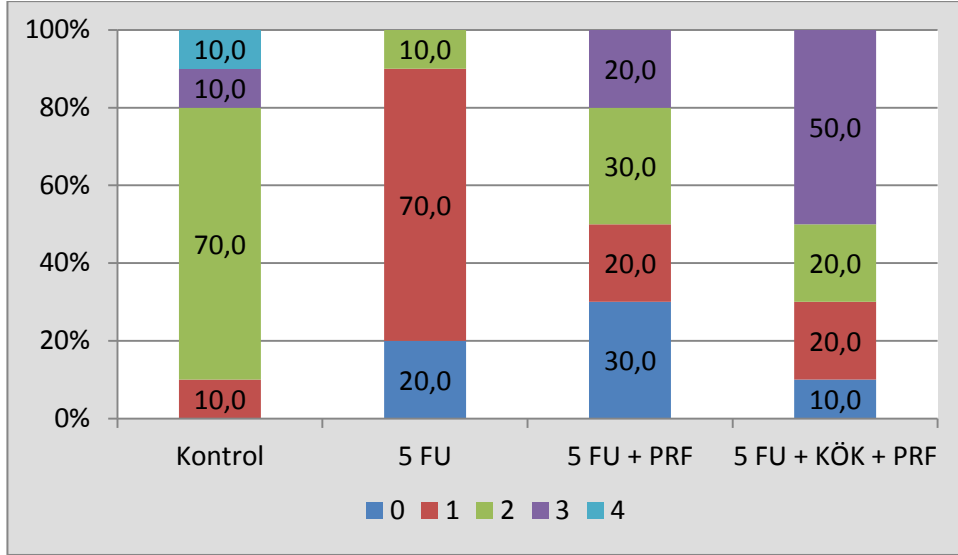
† Kruskal Wallis testi, a: Kontrol grubu ile 5-Fu grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), b: Kontrol grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), c: 5-Fu grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$), d: 5-Fu + PRF grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), e: Kontrol grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$), f: 5-Fu grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$).

Gruplar arasında mortalite oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p < 0,001$), kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda mortalite oranı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p = 0,018$ ve $p = 0,003$), 5-Fu + KÖK + PRF grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu + PRF grubunda mortalite oranı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p = 0,018$ ve $p = 0,003$). Kontrol grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasında ve 5-Fu grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasında ise mortalite oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p = 1,000$ ve $p = 0,519$). (Tablo 9, Şekil 32)

Tablo 14. Gruplara göre deneklerin mortalite oranları

Gruplar	n (%)
Kontrol	1 (5,0) ^{a,b}
5-Fu	7 (35,0) ^{a,c}
5-Fu + PRF	9 (45,0) ^{b,d}
5-Fu + KÖK + PRF	1 (5,0) ^{c,d}
p-değeri	<0,001†

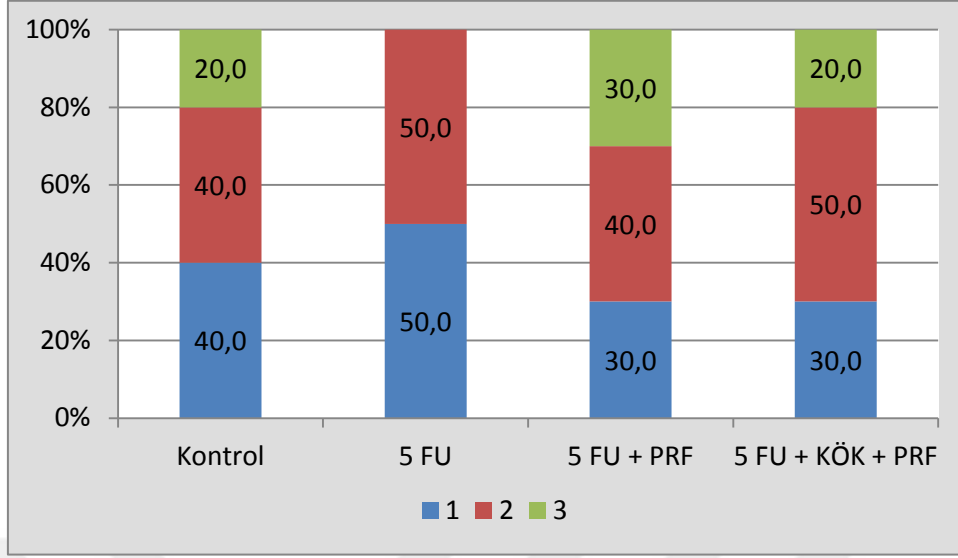
† Olabilirlik Oran testi, a: Kontrol grubu ile 5-Fu grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,018$), b: Kontrol grubu ile 5-Fu + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,003$), c: 5-Fu grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,018$), d: 5-Fu + PRF grubu ile 5-Fu + KÖK + PRF grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p = 0,003$).



Şekil 29. Grupların histiyosit hücre dağılımları

Tablo 15. Grupların histiyosit hücre dağılımları

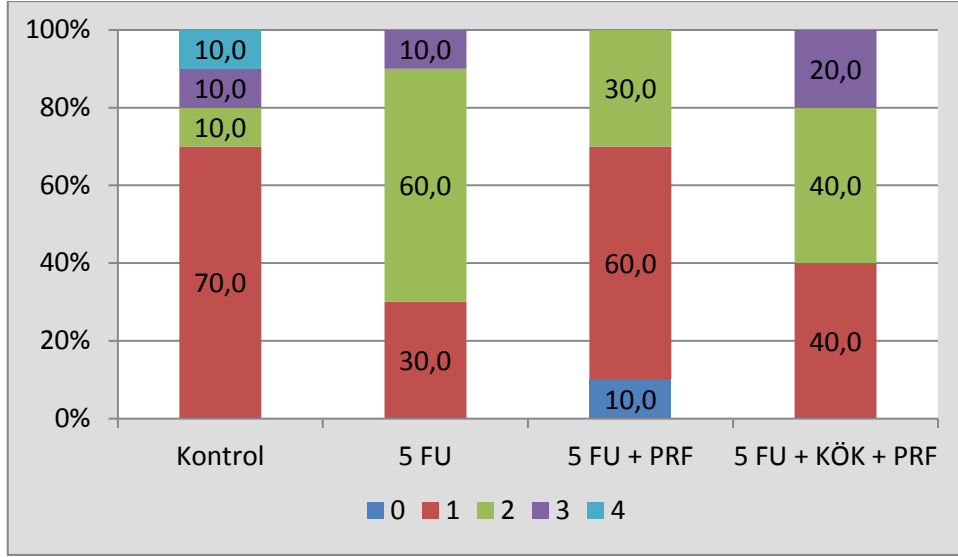
Histiyoit	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF
0(yok)	0,0	20,0	30,0	10,0
1(çok az)	10,0	70,0	20,0	20,0
2(az)	70,0	10,0	30,0	20,0
3(hafif)	10,0	0,0	20,0	50,0
4(yoğun)	10,0	0,0	0,0	0,0



Şekil 30. Grupların nötrofil hücre dağılımları

Nötrofil	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF
1(çok az)	40,0	50,0	30,0	30,0
2(az)	40,0	50,0	40,0	50,0
3(hafif)	20,0	0,0	30,0	20,0

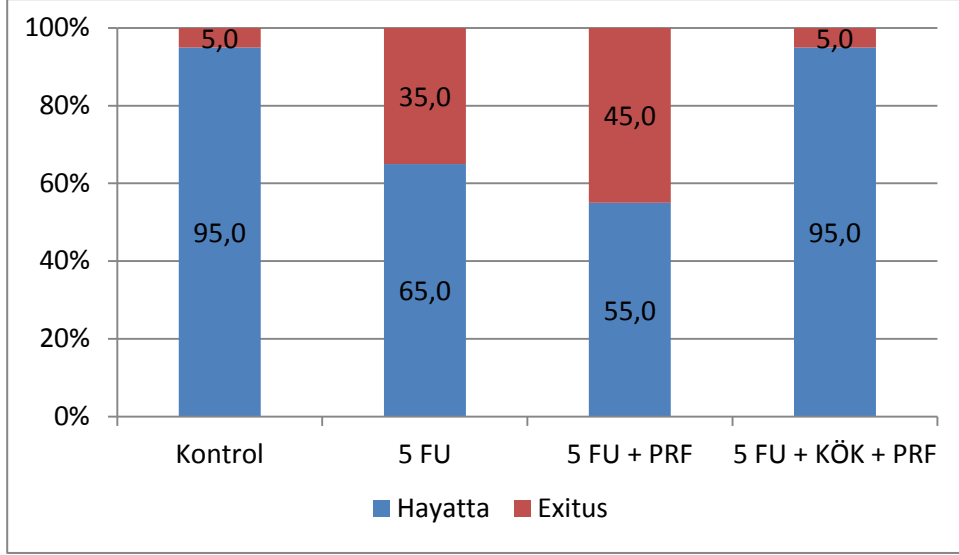
Tablo 16. Grupların nötrofil hücre oranları



Şekil 31. Grupların lenfosit hücre dağılımları

Lenfosit	Kontrol	5-Fu	5-Fu + PRF	5-Fu + KÖK + PRF
0(yok)	0,0	0,0	10,0	0,0
1(çok az)	70,0	30,0	60,0	40,0
2(az)	10,0	60,0	30,0	40,0
3(hafif)	10,0	10,0	0,0	20,0
4(yoğun)	10,0	0,0	0,0	0,0

Tablo 17. Grupların lenfosit hücre oranları



Şekil 32. Grupların mortalite oranları

	Kontrol	5-FU	5-FU + PRF	5-FU + KÖK + PRF
Hayatta	95,0	65,0	55,0	95,0
Exitus	5,0	35,0	45,0	5,0

Tablo 18. Grupların mortalite oranları

5. TARTIŞMA

Kolorektal cerrahide barsak anastomozları, başta malign kolon tümörleri olmak üzere bir çok bağırsak patolojisinde gereklidir ve ne yazık ki anastomoz kaçakları azımsanamayacak kadar sık görülen komplikasyondur (127). Kolon anastomoz kaçaklarının morbitide ve mortalitesi diğer gastrointestinal anastomozlardan kaçaklarından daha yüksektir (116). Bütün bu sebeplerden dolayı bağırsak anastomozları üzerindeki çalışmalar kolon üzerinde yoğunlaşmıştır.

Ortalama yaşam süresinin uzadığı günümüzde, yaşlı popülasyon artmaktadır. Kolorektal kanserler gençlerde de görülmesine rağmen yaşlılarda daha sık görülür. Yaşlı, kolorektal kanserli olgularda hem anastomoz kaçağı, hem de acil olarak (kanama, ileus vs) ameliyata alınma sıklığı, gençlerden daha fazladır (115). Bu nedenle biz de sıklığı artan kanser hastalarında yine sıklığı fazla olan anastomoz komplikasyonları ve komplikasyonların yarattığı mortalite ve morbitideyi azaltmak adına son zamanlarda oldukça popüler olan ve bilim adamlarının birçok hastalık üzerinde etkisini denediği kök hücreyi, kemoteropatik ajanla zayıflatılmış kolon anastomozları üzerinde kullandık. Teknik olarak benzer birçok çalışma yapılmış olsa da bu deneysel çalışmamızda öncelikle anastomoz bütünlüğünü bozarak trombositten zengin fibrin ve kök hücre kullandık. Kök hücre kullanımı ile çalışmamızda anastomoz üzerine başarılı sonuçlar elde ettik.

Anastomoz kaçakları özellikle sol kolonda ve rektumda diğer bölgelere göre daha fazla görüldüğü için (127) lokalizasyon olarak inen kolonu tercih ettik. Bu tür deneysel çalışmalarda model olarak genellikle sıçan kolonu tercih edildiği için deneyi sıçanlar üzerinde uyguladık.

Yara iyileşmesi kompleks ve biyolojik bir süreçtir. Bu süreç hücre bölünmesi, kemotaksis, neovaskularizasyon, ekstraselüler matrix proteinlerinin sentezi ve nedbe oluşumu ile devam ederek tamamlanır (74). Kemoteropatik ajanlar kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını engelerken kolon mukozasında fizyolojik olarak bölünmeye çalışan enterositler başta olmak üzere birçok hücrenin ölümüne sebep olur. Bu hücrelerdeki kayıp yara iyileşmesinde, kemotaksis, neovaskularizasyonun gerilemesine ekstraselüler matriks proteinlerinin azalmasına ve anastomoz bütünlüğünün bozulmasına sebep olur (130-131).

Uysal Ç. ve ark.(112) yaptığı çalışmada sıçan dorsal cilt fleplerinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarının kök hücre kullanımı ile büyüme faktörlerinin regüle edilmesi sonucu iskemi reperfüzyon hasarının önlenebileceği gösterilmiştir.

Anastomoz kaçağı sıklıkla 4.-6. günlerde görülür. Erken görülen kaçaklarda morbidite daha yüksektir. Karın içi yapışıklık olmadığı için enfeksiyonun sınırlandırılması güç olacaktır. Anastomoz kaçağı oranları birçok seride farklı bildirilmesine rağmen acil cerrahi girişimlerde oran elektif ameliyatlara göre daha yüksektir. Bunun nedenleri arasında tartışmalı olmakla birlikte kolon hazırlığının yapılmamış olması suçlanmaktadır (116). Preoperatif bağırsak hazırlığı tartışmalıdır. Gastrointestinal içeriğin anastomoz bölgesine bulaşması sonucunda kaçak riskinin arttığını bildiren yayınlar vardır. Elektif kolon anastomozlarından sonra hastalar da klinik olarak belirgin kaçak oranı %1-2 iken kolon hazırlığı yapılmamış olgularda bu oran yaklaşık %3-7'dir.

Tzu-Chi Hsu zorunlu ya da acil olarak ameliyata alınan hastalarda bağırsakların gaita ile dolu olması nedeniyle yapılan bağırsak ameliyatlarında primer anastomozlarda kaçaklar meydana geldiğini bildirmiştir (116). Bizim çalışmamızda sıçanlar da bağırsak temizliği yapılmamıştı, post op anastomoz kaçaklarına neden olan bir faktör olarak düşünülebilir.

Anastomoz kaçağı nedenleri arasında suçlanan diğer bir neden ise iskemidir. Barsak duvarındaki iskemi anastomoz hattının beslenmesini bozarak kaçağa yol açabilir. Sadece rengin ve peristaltik dalganın normal olması beslenme için yeterli değildir. Anastomoz hattındaki kan akımının barsağın diğer kısımlarına göre daha az olduğu birçok çalışma da gösterilmiştir. Bu nedenle hastanın durumuna göre gelişebilecek sistemik faktörlerden hipotansiyon, hipovolemi de bu azalmış kanlanmayı tetikleyeceği için anastomoz kaçağı riskini artırır. Anastomoz uçlarının aşırı gerginliği kaçak riskini arttıran diğer bir nedendir. Anastomoz komplikasyonlarına yol açabilecek diğer faktörler ise ileri yaş, diyabet, kilo kaybı, acil girişim, enfeksiyon, hipotansiyon, uzun süren cerrahi girişim, cerrahın deneyimsizlik ve beceri yoksunluğu, hastanın beslenme durumu, anastomoz hattının vaskülaritesi, gerginliği, anastomoz tekniği, vs. Bunlar içinde cerrahın kontrolü altında olanlar sadece; anastomoz hattının vaskülaritesi gerginliği ve anastomoz tekniğidir (79-86-90)

Anastomoz komplikasyonu yaşamamak için yeterli kanlanan ve gerginlik olmadan bir araya getirilen iki barsak ansı uygun bir teknikle anastomoz edilmelidir. Çalışmamızın amacı, temel cerrahi prensiplere uyularak 5-Fu ile zayıflatılmış kolon anastomozlarına TZF ve kök hücre uygulayarak anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkilerini değerlendirebilmektir.

Kanellos ve ark.'nın yaptıkları benzer bir çalışmada anastomoz güvenliği postoperatif 8. gün kontrol edilmiş ve sütürasyon ile anastomoz yapıldıktan sonra üzerine fibrin doku yapıştırıcısı uygulamanın daha güçlü bir anastomoz sağladığını bildirmişlerdir. Yine Kanellos ve ark.'nın yaptıkları başka bir çalışmada fibrin doku yapıştırıcısının anastomozu sararak intraperitoneal 5-Fu verilmesiyle iyileşmeyi olumsuz etkileyen faktörlerden koruduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da anastomozda iyileşmeyi olumsuz etkileyen 5-Fu uygulandı (132-133). Anastomozumuzun sağlamlığı kök hücre tarafından sağlandı.

Malign kolorektal tümörlerin tedavisinde cerrahi sonrası sistemik 5-Fu kullanımı bugün için vazgeçilmez bir tedavi yöntemidir. Ancak kolorektal kanserlerde lokal nüksün sıklığı adjuvan kemoterapide değişik yöntemlerin aranmasına yol açmıştır. Bunun sonucunda intraperitoneal (İP) kemoterapi uygulama alanına girmiş ve beraberinde çeşitli tartışmalar getirmiştir. Bu yolla en sık kullanılan kemoterapotik ajan tek başına ya da kombine olarak 5-Fu' dur, 5-Fu çoğalma özelliği gösteren hücreler üzerine hem DNA hemde RNA sentezini bozarak sitotoksik etki gösterir. Bu etkiden dolayı 5-Fu'nun yara iyileşmesini geciktirdiği ve kolon anastomozunu kötü yönde etkilediğini gösteren (131-134) deneysel çalışmalar yanında aksini savunan yayınlarda (135) vardır. Intraperitoneal 5-Fu nun yara iyileşmesi üzerine etkisi ile çelişkili sonuçların elde edilmesinin 5-Fu 'nun kümültatif dozundaki değişikliklere veya deney dizaynındaki farklılıklara bağlı olabileceği düşünülmektedir (136). Klinik çalışmaların bir kısmında 5-Fu' nun yara iyileşmesini geciktireceği, yara ile ilgili komplikasyonları arttıracığı bu nedenle tedaviye postoperatif 15.günden sonra başlanması gerektiği bildirilmiştir (137). Öte yandan bazı çalışmalarda ise gerek peroperatuar gerekse de erken postoperatuar 5-Fu 'nun sistemik olarak verilmesinin veya bağırsak lümenine verilmek suretiyle kullanılmasının ameliyat sonrası insizyon ve anastomoz iyileşmesi üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı savunulmaktadır (138).

Tümer A.R. ve ark'ları tarafınca yapılan çalışmada 5-Fu 'nun yara iyileşmesi üzerine olan olumsuz etkilerinin Zn ile ortadan kalktığı saptanmış. Bizim çalışmamızda da kök hücre ile Zn'ye benzer şekilde yara iyileşmesinde 5-Fu'nun negatif etkisi ortadan kalkmıştır.

Kolorektal kanserlere bağlı cerrahi sonrası katabolik oranın arttığı ve vücut kitlesinin kaybına sebep olduğu bilinmektedir. Bu da vücut ağırlığında ameliyat öncesine göre farklılığa sebep olmaktadır (128). Deney öncesinde ortalama vücut ağırlıkları yönünden

gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Sıçanların son ağırlıkları ilk ağırlıklarına göre değerlendirildiğinde gruplar arasında kilo kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Kontrol grubuna göre 5-Fu ve 5-Fu+TZF grubundaki kilo kaybı istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Kontrol grubu ve 5-Fu+TZF+kök hücre grubu arasında ortalama kilo kaybı istatistiksel olarak benzerdi, 5-Fu'nun katabolik etkisi nedeniyle 5-Fu kullanılan her üç grupta da kilo kaybı olmuş fakat kök hücrenin katabolik süreci anabolik yöne çevirerek kilo kaybını daha aza indirmiştir.

Karın içi yapışıklık skorlaması yapıldığında ise gruplar arasında yapışıklık derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır; 5-Fu ve 5-Fu+TZF gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yapışıklığın daha fazla olduğunu gördük. Bunun nedeni ise karın içi yapışıklık sebebi genellikle anastomoz kaçağı oluşumuna bağlanmaktadır, 5-Fu ya bağlı anastomoz kaçakları meydana geldiği için yapışıklık daha fazla görüldü. Kontrol grubu ve 5-Fu+TZF+Kök hücre arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi; çünkü bu grupta da 5-Fu kullanılmasına rağmen kök hücre sayesinde yara iyileşmesinin bozulmaması ve anastomoz kaçağının olmaması nedeniyle yapışıklık her iki grupta benzer olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda önce 5-Fu sonrasında TZF kullanmamızın başlıca amaçları, TZF'nin anastomoz sağlamlığını mekanik olarak arttırması, içinde olan fibrin ağının rejenerasyon bölgesinin bütünleşmesini, damarlanmasını arttırması ve fibrin matriks rezorbe oldukça trombosit sitokinlerinin uzun süre salgılanmasıyla iyileşmenin sürekli sağlanmasıdır. Yine fibrin ağı içindeki, lökosit ve sitokinlerin enfeksiyöz ve inflamatuvar olayda görev alması nedeniyle TZF kullandık. Kolon anastomozunda TZF'yi bir kök hücre taşıyıcısı olarak kullanılması planlandı. Bunlara rağmen 5-Fu ve TZF kullanılan grupta sadece 5-Fu kullanılan gruba göre anastomoz kaçağı ve buna bağlı yapışıklık oranları daha fazla görüldü. Bu da aklımıza TZF'nin 5-Fu'nun etkisini arttırdığını düşündürdü, ya da TZF'nin etkisi, 5-Fu kullanımına bağlı azalmıştır.

TZF organizmada immünolojik olarak en az yanıt oluşturan, kök hücrenin taşınabildiği, donörde en az morbidite oluşturan ve maliyeti en az olan taşıyıcıdır (112). TZF; plastik ve rekonstrüktif cerrahi ve ortopedi başta olmak üzere maxillofasyal cerrahi ve genel cerrahide de kullanılmaktadır. TZF nakil sonrası kök hücrenin anastomoz bölgesinde kalmasını da sağlar.

Adipoz dokunun kemik iliğine göre santimetreküp başına 100 ila 1000 kat daha fazla pluripotent hücre içerdiği ve en az kemik iliği kaynaklı kök hücreler kadar değişik

hücrelere farklılaşabildikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (102). Bu yüzden çalışmamızda kemik iliği kaynaklı kök hücre kullanımı yerine adipoz kökenli mezenkimal kök hücre kullanmayı tercih ettik. Hem kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücrelerin (MKH) hem de adipoz kökenli MKH'lerin çalışıldığı bir çalışmada, damarlanmanın adipoz kökenli MKH grubunda anlamlı derece fazla olduğu görülmüş (117). Çalışmamızda kök hücrenin hem endotelial hücreye dönüşümü hem de villus hücresine dönüşümü floresan mikroskopunda gösterildi.

Zuk ve ark.'ın yaptığı çalışmada (97) adipoz dokunun mezenkimal hücrelerden oldukça zengin olduğu gösterilmiş ve kemik iliğinden elde edilen kök hücrelere göre izolasyonlarının daha az acı verici olmaları, liposapirasyon yöntemi ile kolayca ve bol miktarda elde edilmeleri nedeniyle son yıllarda kök hücre kaynağı olarak kullanımı yaygınlaşmıştır.

Anastomoz iyileşmesinde en önemli göstergelerden bir tanesi de patlama basıncıdır. Çalışmamızda kolon anastomozu sonrası 7. günde sıçanlar sakrifiye edilerek anastomoz patlama basıncı ölçülmüştür. Kontrol ve 5-Fu+TZF+kök hücre gruplarında patlama basınçları istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Fakat 5-Fu ve 5-Fu+TZF ise anastomoz ayrılması nedeniyle patlama basıncı ölçümü yapılamadı.

Jong Han Yoo ve arkadaşları tarafından (121) yapılan adipoz doku kökenli kök hücrelerin kullanıldığı iskemik modellenmiş kolon anastomozu çalışmasında, anastomozda 4-5 farklı noktadan kök hücre uygulanmış. Postoperatif 7. günde patlama basınçları değerlendirilmiş. Kök hücre grubunda patlama basıncı, kontrol grubu patlama basınçlarına göre belirgin yüksek bulunmuş. İmmunokimyasal değerlendirmede CD31 boyasıyla damarlanma değerlendirilmiş ve mm²'deki damarlar sayılmış. Kök hücre grubunda damarlanma belirgin yüksek saptanmış. Ayrıca kök hücre grubunda yapışıklığın daha az olduğu görülmüş. Araştırmacılar bu sonucu adipoz kökenli kök hücrelerin hem direkt etki olarak endotelial hücrelere dönüşümüne hem de indirekt etki olarak anjiyogenik büyüme faktörlerini salgılanmasına etki etmesine bağlamışlar. Çalışmamızda TZF+kök hücre grubunda patlama basıncı ortalama değeri daha fazla ve damarlanma diğer gruplara göre belirgindi

Cronin ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada anastomoz patlama basıncı ölçümlerinde anastomozdan sonraki 3. günden itibaren uygulanacak olan kuvvetin giderek arttığını ve 7-10. günlerde maksimuma ulaştığı aynı zamanda ilk 3 günde hidroksprolin konsantrasyonunun anastomoz bölgesinde %40 azaldığı ve yaklaşık 5. günden itibaren normale yaklaştığı, 10-14. günlerde ise normalin üzerine çıktığı bildirilmiştir. Biz de

yapılan diğer çalışmaları değerlendirerek anastomoz patlama basıncını 7. günde ölçtük (139). Gruplar arasında anjiyogenez derecesi açısından istatistiksel anlamlı fark vardı. 5-Fu +TZF+Kök hücre grubunda 5-Fu +TZF grubuna göre anjiyogenez daha fazlaydı. Bunun da kök hücrenin proliferatif etkisine bağlı olduğu düşünüldü. Damarlanmanın artışı, yaptığımız anjiyografilerle gösterebildik. Bu sonuçlara göre TZF ve ADKKH'den salgılanan vaskülojenik büyüme faktörlerinin ve ADKKH'nin endotelial hücrelere direkt farklılaşmasının olduğu gösterilmektedir (96-119). Damarlanmanın ve beslenmenin artmış olması bu alandaki sağlamlığı muhtemelen kollajen artışına bağlı olarak arttırmıştır. Bu yüzden 5-Fu +TZF+Kök hücre grubunda anastomoz kaçağı diğer gruplara oranla daha az görülmüştür, fakat çalışmamızda kollajen miktarına bakılmadı.

Küçükkartallar T. ve ark.'ları tarafından yapılan çalışmada 5-Fu uygulanan ratlarda eritropoetin anastomoz üzerine etkisi değerlendirilmiştir (140). Bu çalışmada hidrokspirolin düzeyi bakılarak anastomozda kollajen miktarı ve yara iyileşmesi değerlendirilmiştir. Eritropoetin+5-Fu uygulanan ratlarda hidrokspirolin anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu da eritropoetin kolokolik anastomozlardan sonra kemoterapi gibi anastomoz iyileşmesini olumsuz etkileyen durumlarda bile anastomoz kaçağı riskini azaltacağı umut edilmektedir.

Yapılan histopatolojik değerlendirmemizde gruplar arasında inflamasyon, nötrofil, dev hücre ve lenfosit derecesi açısından kontrol grubu, 5-Fu+TZF grubu ve 5-Fu+TZF+kök hücre grubunda anlamlı farklılık saptanmadı. Histiyosit derecesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Kontrol ve 5-Fu+TZF+Kök hücre grubu arasında anlamlı bir farklılık yoktu.

Choukroun ve ark. TZF nin sert doku üzerine etkilerini değerlendirdikleri çalışmada sinüs lift cerrahisi sırasında kemik greftine ek olarak TZF kullanımını incelenmiştir. Bu araştırma sonuçlarına göre TZF ile birlikte kemik grefti uygulanan bölgelerden 4. ayda elde edilen histopatolojik kesitler kontrol grubunun 8. ay kesitlerine denk bulunmuştur. Sonuç olarak TZF'nin nötrofil, lenfosit, lökosit ve sitokinler etkisi ile sert ve yumuşak doku iyileşmesini iki kat hızlandırdığı gösterilmiştir.

Taşıyıcı olarak TZF kullanılan kök hücreleri işaretleyip takip ettiğimizde bu kök hücreleri hem endotelde hem de villöz yapılar içerisinde gördük. Kök hücrenin anastomoz duvarından endotele ve villöz yapılar arasına ilerleme ve farklılaşmamasını tam olarak açıklayamamaktayız. Adas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (122), mezenkimal kök hücreler iskemik kolon duvarında tespit edilmiş fakat in vivo değişim ve anjiyogenik faktörler net olarak ortaya konamamıştır.

Gruplar arasında mortalite oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Çalışmamızda kontrol ve 5-Fu+TZF+kök hücre grubunda birer eksitus, 5-Fu grubunda 7 eksitus,5-Fu+TZF grubunde 9 eksitus oldu. Kontrol grubu dışında her üç grupta 5-Fu kullanılmasına rağmen en az kayıp kök hücre grubunda saptanmıştır. Bu etkinin TZF tarafınca sabitlenen ADKHH'dan salgılanan vaskülerizasyonu arttıran büyüme faktörlerine ve bu büyüme faktörlerinin endotel hücrelerindeki etkisine bağlı olduğu düşünüldü. Diğer iki gruptaki ölüm oranlarının fazla olmasının sebebi ise 5-Fu kullanımına bağlı anastomoz iyileşmesinde bozulma, anastomoz kaçağı sonrası oluşan intraabdominal sepsis olduğu düşünüldü. Bu çalışmada kemoterapötik ajan kullanılmasına rağmen kök hücrenin etkisi net olarak gösterilmiştir.

Kök hücrenin 5-Fu'nun olumsuz etkilerini hangi aşamada kaldırdığını saptamak amacıyla yeni deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu nedenle klinik olarak intraperitoneal kemoterapi uygulamalarında kök hücrenin de kullanılmasının faydalı olacağı düşüncesindeyiz.

6.SONUÇ:

Çalışmamızda kolon anastomozlarında;

- 1) 5-Fu kullanarak doku bütünlüğünün azalmasını sağladık
- 2) Doku bütünlüğü azalmış anastomoz üzerine ayrı ayrı 5-Fu,5-Fu+TZF ve 5-Fu+TZF +Kök hücreyi uyguladık.
- 3) TZF'yi kök hücre taşıyıcısı olarak kullandık. Kök hücre seçiminde mezenkimal hücreleri tercih ettik.

Adipoz doku mezenkimal kök hücre eldesi açısından zengin ve kolay ulaşılır bir dokudur. Günümüzde TZF etkinliğinin yüksek olması, kolay elde edilebilmesi ve yan etkilerinin az olması sebebiyle birçok hastalıkta tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Kemoteropatik ajan uygulanan kolon anastomozlarında TZF ve Kök hücrenin anastomoz üzerine olan etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

Çalışmamızda günümüzde hala birçok anabilim dalının üzerinde deneysel çalışmalarını devam ettirdiği TZF ve kök hücreyi kullandık. Patlama basıncı ve yapışıklık, mortalite 5-Fu+TZF+kök hücre grubu ile kontrol grubu benzer diğer gruplara göre anlamlı derece farklılık saptanmasına rağmen histopatolojik değerlendirmede TZF ve TZF+kök hücre grubunda anlamlı farklılık saptanmadı. Bu da TZF'nin kısa dönemdeki etkisine bağlandı.

Sonuç olarak;5-Fu+TZF+kök hücre uygulanmış kolon anastomozlarında, anastomoz damarlanmasının ve sağlamlığının 5-Fu, 5-Fu+TZF kullanılan gruplardan daha fazla olduğu ve karın içi yapışıklığın azaldığını gördük. Buna göre ADKKH, kemoteropatik ajan kullanılan anastomozlarda yara iyileşmesinde olumlu etkileri olan yeni bir tedavi yöntemi olabilir. Ayrıca TZF ve kök hücrenin kolon anastomoz üzerinde olumlu etkileri olmasına rağmen, 5-Fu ve benzeri etkenlerle çalışma süresi daha uzun olan farklı çalışmalara gerek vardır.

KAYNAKÇA

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Smigal C, Thun MJ, et al. Cancer statistic, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007;57: 43-66.
2. Kirchoff P, Clavien P.A., Hahnloser, D. Complications in colorectal surgery: risk factors and preventive strategies. *Patient Safety in Surgery* 2010,4:5-8.
3. Owen CD, Bleday R. Surgery of kolorektal cancer. In: Rustgi AK editör. *Gastrointestinal cancers*. Philadelphia: Elsevier Science Ltd, 2003:473-89.
4. Ruiz-Tovar, Jaime. Postoperative complications of colon surgery, Vicent Morales-Castineiras and Eduardo Lobo-Martinez *Cir Cir* 2010,78:281-288.
5. Mark H. Whiteford. Early complication in colorectal surgery ASCRS core subject, 2009.
6. Golub RW, Cantu R, Stein HD, A multivariate analysis of faktör contributing to leakage of intestinal anastomosis. *J Am Coll Surg* 1997;184:364-372
7. Bokey EL, Chapius PH, Fung C, Hughes WJ, et al. Postoperative morbidity and mortality following resection of the colon and rektum for cancer. *Dis Colon Rektum* 1995 ;38:480-7.
8. Mc Ginn FP, Gartell PC, Clifford PC, Brunton FJ. Staples or sutures for low colorectal anastomoses: a prospective randomized trial. *Br J Surg* 1985;72:603-5.
9. Rullier E, Laurent C, Garrelon JL, Michel P, et al. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rektal cancer. *Br J Surg* 1998 ;85 :355-8.
10. Baum ML, Anish DS, Chalmers TC, Sacks HS, et al. A survey of clinical trials of antibiotic prophylaxis in colon surgery: evidence against further use of no-treatment controls. *N Eng J Med* 1991;305:795-9.
11. Soetersa PB, Zoeteta J, Dejonga CH, Williamsb N. S, Baetena C.s.l. : Colorectal Surgery and Anastomotic Leakage, *Dig Surg* 2002, 19:150-155.
12. Bieleck K, Gajda A. The Causes and Prevention of Anastomotic Leak After Colorectal Surgery, *Klinicka Onkologie Zvlastni Cislo* 1999, 25-30.
13. Çetinkaya DU. Mezenkimal kök hücreler. In: Kansu E (ed). *Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar*. Türkiye Bilimler Akademisi Raporları. s.l. : Ankara: Yalçın Matbaacılık, 2009:53-62.
14. Karaöz E, Ovalı E. Kök Hücreler. *Atı Teknoloji yayını no:1*. Trabzon. 2004

- 15.Reviews in basic and clinical gastroenterology Systemic Treatment of Colorektal cancer brian M.Wolpın and Robert J.Mayer 2008.
- 16.Ferguson M. The effect of antineoplastik agents on wound healing. Surgery 1982; 154:421-429.
- 17.Buğra D. Genel Konular. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D. 2.Baskı;17-20, İstanbul,2004.
- 18.J.L., Romolo. Embryology and anatomy of the colon, Shackelford's.
19. Standing S. Gray's Anatomy. s.l. : Edinburg:Churchill Livingstone (elsevier), 2005.
- 20.Sabiston, Townsend MC.s.l. : Modern Cerrahi Pratiğin Biyolojik Temelleri, Nobel 2010, Ankara, 17. Baskı, Çeviri Editörü: Ulusoy AN. Bölüm 12: 1401-1483.
- 21.E.J., Skandalakis. Colon and rectum, Surgical anatomy and tecnigüe. Ed: Skandalakis E.J, Hamilton printing, Newyork,1995: (13) 401-70.
- 22.Skandalakis JE, Kingsnorth AN, Colborn GL,Weidman TA, Skandalakis PN, Skandalakis LJ.s.l. : Land intestine and anorectum. In: Skandalakis JE, Colborn GL, Wiedman TA, eds. Skandalakis' Surgical Anatomy. McGraw-Hill's Access Surgery, 2004: p.861-1002.
23. T., Karahasanoğlu. Bölüm 8 Kolorektal Cerrahide İlkeler, İnsizyonlar, Anastomoz teknikleri, Drenler.Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları ed: Alemdaroğlu K., Akçal t., Buğra D. İstanbul 2004 s103-111.
24. 8. Sabiston, Townsend MC. s.l. : Modern Cerrahi Pratiğin Biyolojik Temelleri, Nobel 2010, Ankara, 17. Baskı, Çeviri Editörü: Ulusoy AN. Bölüm 12: 1401-1483.
- 25.Guyton Arthur C. Gastrointestinal Sistemde Sindirim ve Absorbsiyon. Texbook of Medikal Physiology ; 3.baskı 1143-4,İstanbul 1989.
- 26.Menteş B., İrkörücü O. Kolon Fizyolojisi Bölüm 2. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları ed: Alemdaroğlu K., Akçal T., Buğra D.İstanbul 2004,s 31-37.
- 27.Bozfakıoğlu Y., Müslümanoğlu M. Kolon Hastalıkları. Değerli Ü, Cerrahi Gastroenteroloji. 4.baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitapevi 1997.s.142-68
- 28.Rosai J.In Ackermans Surgical Pathology, 8. Edition, ed: Rosai J St. Louis. Mosby Newyork(1):729-799,1996.
- 29.Kumar V,Abbas AK, Fausto N.The gastrointestinal tract. In:Robbins and Cotran Pathologic Basis Disease 7.ed Philadelphia:Elsevier Saunders Company 2005:857-869.
- 30.Cristine A Lacobuzio-Dd, Elizabeth M. Epithelial neoplazm of colorektum. In: Gastro intestinal and Liver Pathology. Churchill Livingstone Elsevier, 2005:367-394.

31. Kuşakçioğlu Ö. Kolorektal Kanser hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitap evleri, 2003:1-27.
32. Gönen Ö. Kolorektal Kanser Epidemiyolojisi, Kolorektal Özel Sayısı Türkiye klinikleri Journal of surgery 2004;9;57-65.
33. J Ackerman's Surgical Pathology. In Rosai J. Gastrointestinal Tract, Large Bowel 9 th ed Mosby Company ; China ,2004:776-823.
34. Kodner IJ, Fry RD, Fleshman JW, Birnbaum EH Read TE Principles of Surgery 2004 1283-1394.
35. Chan AT, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Schernhammer ES, Curhan GC, Fuchs CS. Long term uses of aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs and colorektal cancer JAMA 2005;294(8):914-23
36. Otake S, Takeda H, Suzuki Y, Fukui T, Watanabe S, Ishihama K, et al. Association of visceral fat accumulation and plasma adiponektin with kolorektal adenoma: Evidence for Participation of insülin rezidistance. Clin Cancer Res 2005;11: 3642-6
37. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Physical activity, obesity and risk for colon cancer and adenoma in men. Ann intern Med 1995;122(5):327-34
38. Kumar V, Robbins S Cotran R (Çeviri: U Çevikbaş) Temel patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri;2000:505-514.
39. Skibber JM, Minsky BD, Hoff PM, Cancer of the colon. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Eds) Cancer, Principles and Practice of Oncology 6.ed Philadelphia Lipincott Williams and Wilkins:2001.p.1216-71
40. Majerus E, Birnbaum E, Picus J. Colorektal Malignancies. İn: Govindan R, Arquette M. The Washington Manuel of Oncology. Philadelphia: Lippincott WW;2002.P.191-202
41. Eraslan E, Türkay C. Kolorektal Kanser Etiyolojisi ve Predispozan Faktörler. Güncel Gastroenteroloji 2007;11:19-26
42. Mitchell RJ, Ferington SM, Dunlop MG and H Campbell. Mismatch repair genes Hmlh1 and Hmsh2 and colorektal cancer. Am J Epidemiol 2002;156:885-902
43. Rutsgli AK. The genetics of hereditary colon cancer. Genes Dev 2007 ; 21(20):2525-38
44. Lagerssted RK, Liu T, Vandrovcova J, Halvarson B, Clendening M, Frebourg T, et al. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorektal cancer) diagnostics. J Natl Cancer Inst 2007 ;99 (4):291-9

- 45.Fratinni M, Balestra D, Suardi S, Oggionni M, AlbericiP, Radice P,et al.Different genetic features associated with colon and rektlal carcinogenesis.Clin Canser Res 2004;10(12):4015-21
- 46.Özbal AN., Karahsanoglu T.Kolon Kanserinde klinik ,Alemdroglu K,Akcal T,Bugre D.Kolon Rektum ve Anal bölge hastalıkları .İstanbul:Türk Kolon ve Rektum Cerrahi derneği;2003.s.421-5
- 47.Menteş B,Leventoğlu S,Kolorektal Kanserlerin Klinik Özellikleri, Kolorektal Özel Sayısı. Türkiye Klinikleri Journal of Surgery 2004;9:36-8
- 48.Meme Gastrointestinal sistem Akciğer Kanserlerinde Tanı-Tedavi ve Takip, Antalya Konsensusu 2003.Aydiner A,Topuz E(Editörler) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi;2004.s.49.
- 49.Küpelioglu AA. Kolorektal Kanserde Histopatoloji, Kolorektl özel sayısı. Türkiye Klinikleri Joournal of Surgery 2004;9;25-7
- 50.Doğusoy G.Kolon Kanserinin Patolojik Özellikleri. Alemdaroğlu K,Akcal T,BuğraD(Editörler)Kolon Rektum Anal bölge hastalıkları İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği 2003.s.413-20
- 51.Miskovitz P,Betancourt M.What to do you get colon cancer. New York: JohnWiley and Sons ,1997.p.34-43
- 52.Compton CC, Greene FL. The staging of colorektal cancer:2004 and beyond CACancer J Clin 2004;54(6):295-308
- 53.Aydiner A, Topuz E, Özmen V, Şakar B, Dinçer M. Gastrointestinal Sistem Tümörleri. Aydiner A, Topuz E.Onkoloji El kitabı. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 2006.s.199-267.
- 54.Martenson JA, Willet CG, Sargent DJ, Mailliard JA, Donohue JH, Gunderson LL, et al. Phase 3 study of adjuvant chemoterapy and radiation therapy compared with chemoterapy lone in the surgical adjuvant treatment of colon cancer: result of intergroup protocol 0130 .J Clin Oncol 2004 ; 22(16):3277-83
- 55.Kuzu MA, Demirkıran A, Kolon Kanserinin Küratif Cerrahi Tedavisi. Alemdaroğlu K.Akcal T, BuğraD(Editörlerden) Kolon ve Rektum ve Anal bölge hastalıkları. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.427-50
- 56.Twelves C,Wong A, Nowacki MP, Abt M, Caarrato A,Cassidy J,et al. Capecitabine as adjuvant treatment for stage 3 colon cancer. N Engl J.Med 2005;352 (26):2696-704
- 57.Gramont A, Boni C, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, et al. Oxaliplatin /5-FU/LV in adjuvant colon cancer: Up dated efficacy results of the MOSAIC trial ,including survival, with a median follow up of six years. Proceedings of the 2007 ASCO Annual Meeting Abstract Book p.106,Chicago,2007.

58. Aykan NF, Kolorektal Kanser, Topuz E, Karadeniz AN, Aydın A (Editörler) Klinik onkoloji. İstanbul 2000.s.90-5
59. Alabaz Ö, Kolon Kanserinde Tedavi Sonuçları. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler) Kolon Rektum ve Anal Bölge hastalıkları. İstanbul: Türk Kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.457-63
60. Kuşakçioğlu Ö. Kolorektal Kanser Hastalıkları. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2003:1-27
61. Mills SE. Intestinal Neoplasms. In Cooper HS (Ed). Sternberg's Diagnostik Surgical Pathology. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins; 2004 .p.1543-601
62. Güler N. Tümör Belirleyicileri. İskender Sayek (Editör) Temel Cerrahi Ankara: Güneş Kitap evi; 2004.s.581-90
63. Reiter W, Steiber P, Reuter C, Nagel D, Lau-Werner U, Lamerz R. Multivariate analysis of prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. Anticancer Res. 2000;20(6):5195-8
64. Osmanoğlu H, Sözbilen M. Tıkayıcı Kolon Kanserlerine Yaklaşım. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D (Editörler) Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. İstanbul: Türk kolon ve Rektum Cerrahi Derneği; 2003.s.465-72
65. Compton CC, Fielding LP, Burgert LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. Prognostik faktörler in colorectal cancer. Arch Pathol Lab Med 2000; 124 :979-94
66. Steichen FM, Ravitch MM. Mechanical sutures in surgery. Br J Surg 1973; 60:191-7
67. Steichen FM, Ravitch MM. Contemporary stapling instruments and basic mechanical suture techniques. Surg Clin N Am 1984; 64:425-40
68. Nance FC. New techniques of gastrointestinal anastomosis with the EEA stapler. Ann Surg 1979;189:587-99
69. Khoury GA, Waxman BP: Large bowel anastomosis: I. The healing process and sutured anastomoses: a review. s.1: Dr J Surg 70:61, 1983
70. Templeton JL, McKelvey STD: Low colorectal anastomoses: an experimental assessment of two sutured and two stapled techniques. s.1: Dis Colon Rectum 28:38, 1985
71. Carrico TJ, Mehrhof Jr. Al, Cohen IK. Biology of Wound Healing. Surg Clin North Am 1984;64:721-33
72. Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE. Factors contributing to leakage of colonic anastomosis. Ann Surg 1973;177:513-8
73. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. s.1: Surg Gynecol obstet 126 (4):747-53, 1968.

74. Graham MF, Ducker DE, Diegelmann RE, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. *s.l. : Gastroenterology* 92 (2):400-405, 1987.
75. Martens MF, Huyben CM, Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblast from human colon: Regulatory aspects differences with skin fibroblasts. *s.l. : Gut* 33(12):1666-70, 1992.
76. Thorntorn FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am* 1997;77:549-73.
77. G., Ellison. Wound healing in the gastrointestinal tract. *Semin Vet Med Surg* 1989;4:287-92.
78. Mast BA: Healing in other tissues. *s.l. : Surg Clin North Am* 77:529-47, 1997.
79. Hawley PR, Faulk WP, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastrointestinal tract. *Br J Surg* 1970; 57: 896-900.
80. Hermann JB, Woodward SC, Puaski EJ. Healing of colonic anastomoses in the rat. *Surg Gynecol Obstet* 1964;119:269-75.
81. RS., Chung. Blood flow in colonic anastomoses. Effect of stapling and suturing. *Ann Surg* 1987;206: 335-9.
82. Shikata J, Shida T. Effects of tension on local blood flow in experimental intestinal anastomoses. *J Surg Res* 1986; 40:105-11.
83. Phillips JD et al. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg* 163,71-77, 1992
84. Nichols RL, Condon RE. Preoperative preparation of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 1971;132:323-7.
85. Nichols RL, Condon RE. Preoperative preparation of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 1971; 132:323-7
86. Wagninger J, Kaufmann GW, Shah IA, Farhmann EH. Influence of the distance between interrupted sutures and the tension of sutures on the healing of experimental colonic anastomoses. *Am J Surg* 1992; 163: 319-23.
87. Hunt TK, Hawley PR. Surgical judgement and colonic anastomoses. *Dis Colon Rektum* 1969;12:167-71
88. Hawley PR, Faulk WP, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastrointestinal tract. *Br J Surg* 1970; 57:896-900.
89. TT., Irvin. Collagen metabolism in infected colonic anastomoses. *Surg Gynecol Obstet* 1976; 143: 220-4.

- 90.Berliner SD, Burson LC, Lear PE: Use and abuse of intraperitoneal drains in colon surgery. s.l. : Arch Surg 89:686, 1964.
- 91.Ahrendt GM, Tantry US, Barbul A. Intraabdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. Am J Surg 1996;171:102-7.
- 92.Kim SC, Buchmiller LT, Fonkalsrud WE, Philips D. The effect of anabolic steroids on ameliorating the adverse effect of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits. Gyn. And Obs.Surg .s.l. :1993;176:73-79 .
- 93.Şahin F, Saydam G, Omay SB. Kök hücre plastisitisi ve klinik pratikte kök hücre tedavisi.s.l.: Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 2005;1(15):48-56.
- 94.Bunnell BA, Flaat M,Gagliardi C, Patell B. Adipose -derived stem cells: Isolation,expansion and differentiation .s.l . : Methods. 2008;45:115-20.
- 95.Çamurdanoğlu BZ, Kansu E. Erişkin ve hemopoetik kök hücreler . In:Kansu E(ed). Kök hücre biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. s.l. : Türkiye Bilimler Akademisi Raporları. Ankara: Yalçın Matbaacılık, 2009:41-51.
- 96.Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hemopoietic organs. s.l. : Exp Hematol. 1976;4(5):267-74.
- 97.Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. s.l. : Tissue Eng. 2001;7:211-28.
- 98.Bektaş M. Kök hücre kaynağı olarak kordon kanı. In: Kansu E (ed). Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar. Türkiye Bilimler Akademisi Raporları. . s.l. : Ankara: Yalçın Matbaacılık, 2009:29-39.
- 99.Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD,et al.Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. s.l.: Science. 1999;284:143-7.
- 100.Ichioka S, Kudo S, Shibata M, Ando J, Sekiya N, Nakatsuka T. Bone marrow cell implantation improves flap viability after ischemia-reperfusion injury. s.l. : Ann Plast Surg. 2004;52(4):414-8.
- 101.Karaoz E, Ayhan S, Gacar G, Aksoy A, Duruksu G, Okçu A, et al. Isolation and characterization of stem cells from pancreatic islet: pluripotency, differentiation potential and ultrastructural characteristics. s.l. : Cytotherapy. 12(3):288-302, 2010.
- 102.Strem BM, Hicok KC, Zhu M et al. Multipotential differentiation of adipose tissue derived stem cells. s.l. : Keio J Med. 2005;54(3):132-41.
- 103.Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. s.l. : J Inflamm (Lond). 2005;26(7):2-8.

- 104.Cannon B, Nedergaard J. Developmental Biology: Neither fat nor flesh.s.l. : Nature 2008;21:947-8.
- 105.Mosesson M.W., Siebenlist K.R., Meh D.A. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin . s.l. : Ann N Y Acad Sci,2001, S:11-30.
- 106.Waclawiczek H.W., Chmelizek F., Endoscopic treatment of bronchus stump fistulae following pneumonectomy with fibrin sealant in domestic pigs. s.l. : Thorac Cardiovasc Surg, 33 (6), 1985,S: 344-346.
- 107.Esposito M., Hirsch J.M., Lekholm U., Thomsen P.(1997) Failure patterns of four osseointegrated oral implant systems . s.l. : J Mater Sci Mater Med, 8, 843-7.
- 108.Graham-Rowe D. Fetal tissue graft restores lost sight.s.l. : New Sci. 2004;184(2471):16-7.
- 109.Karaoz E, Okcu A, Saglam O, Genc ZS, Ayhan S,Kasap M, Pancreatic islet derived stem cells can express co-stimulatory molecules of antigen-presenting cells.s.l. : Transplant Proc. 2010;42(9):3663-70.
110. Phillips JD et al. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. Am J Surg 163, 71-77, 1992.
- 111.Zhen Y, YI C, Xia W, Ding T, Zhou Z, Han Y,et al. Mesenchymal stem cells transduced by vascular endothelial growth factor gene for ischemic random skin flaps. s.l. : Plast Reconstr Surg. 2008;121(1):59-69.
- 112.Uysal AC,Mizuno H, Tobita M,Ogawa R,Hyakusoku H,The effect of adipose-derived stem cells on ischemia-reperfusion injury:immunohistochemical and ultrastructural evaluation.s.l.:Plast Reconstr Surg.124(3):804-15,2009
- 113.Kanthan SR, Kavitha G, Addi S, Choon DSK, Kamarul T, Platelet-rich plasma (PRP) enhances bone healing in non-united critical-sized defects: A preliminary study involving rabbit models.Injury ., s.l. : Ìnt. J. Care Injured (2011) 42 782-789.
- 114.Ogawa R.The importance of adipose-derived stem cells and vascularized tissue regeneration in the field of tissue transplantation.s.l.: Curr. Stem Cell ResTher.2006;1:13-20
- 115.Houston KA, Rotstein OD. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. s.l. : Arch Surg 1998;123:230 –34.
- 116.Aguilar-Nascimento JE, Mathie RT, Man WK, Williamson RC. Enhanced intra-anastomotic healing by operative lavage with nutrient solutions in experimental left-sided colonic obstruction,. s.l. : Br J Surg 1995, 82:461-4.

- 117.Uysal CA, Ogawa R, Lu F, Hyakusoku H, Mizuno H. Effect of mesenchymal stem cells on skin graft to flap prefabrication: an experimental study.s.l. : Ann Plast Surg. 2010;65(2):237-44.
- 118.Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizona H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. s.l. : Mol Biol Cell.2002;13:4279-95.
- 119.Zeng Q., Li X., Beck G., Balian G., Shen FH. Growth and differentiation factor-5 (GDF-5) stimulates osteogenic differentiation and increases vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in fat derived stromal cells in vitro. s.l. : Bone 2007;40:374-81.
- 120.Perçem AK. İskemik kolon anastomozunda plasmidlere klonlanmış vasküler endotelial growth faktör ve fibroblastik growth faktör'ün anastomoz yara iyileşmesi üzerine etkisi. s.l. 2009.
- 121.Yoo HJ, Shin JH, An MS et al (2012) Adipose-tissue-derived stem cells enhance the healing of ischemic colonic anastomoses: an experimental study in rats.s.l. : J Korean Soc Coloproctol 28:132–139.
- 122.Adas G., Arıkan S., Karatepe O., Kemik O., Ayhan S., Karaoz E., et al. Mesenchymal stem cells improve the healing of ischemic colonic anastomoses (experimental study) . . s.l. : Langenbecks Arch Surg 2011;396:115-26).
- 123.Tadauchi A., Narita Y., Kagami H., Niwa Y, Ueda M., Goto H. Novel cell-based therapeutic strategy for ischemic colitis with use of bone marrow-derived mononuclear cells in rats. . s.l. : Dis Colon Rectum 2009;52:1443-51.
- 124.Docherty JG, McGregor JR, Akyol AM, Murray GD, Galloway DJ. Comparison of Manually Constructed and stapled Anastomoses in Colorectal Surgery, West of Scotland and Highland Anastomosis Study Group. Ann.Surg 1995,221:176-184
- 125.Fingerhut A, Hay JM, Elhadad A, Lacaine F, Flamant Y. Supraperitoneal Colorectal Anastomosis: hand-sewn versus circular staples, A controlled clinical trial: French Associations for Surgical Research. Surgery 1995,118:479-485
- 126.Carrico TJ, Mehrhof Jr. Al, Cohen IK. Biology of Wound Healing. s.l. : Surg Clin North Am 1984; 64: 721-33.
- 127.Vignali A, Fazio VW, Lavery IC, Milsom JW et al. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1014 patients..s.l. : J Am Coll Surg 1997; 185: 105-13
- 128.Ryan NT. Metabolic adaptations for energy production during trauma and sepsis . s.l. : Surg Clin North Am 1976;56:1073-90

- 129.Ehrenfest D., David M., et al. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukron's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standart to achieve for all surgical platelet concentrates technologies s.l. : Growth Factors, 2009, 27.1: 63-69.
- 130.Kayaalp O. Tibbi Farmakoloji Cilt 1: 900-946
- 131.Welber S, Graf W, Glimelius B, et al. The effect of 5-Fluorouracil on wound healing and collogen synthesis in the left colon anstomoses. Eur Surg Res 1994;26: 173-178
- 132.Kanellos I, Mantzoros I, Demetriades H, et al. Healing of colon anastomoses covered with fibrin glue after immediate postoperative intraperitoneal administration of 5-Fu. Dis Colon Rectum 2004; 47: 510-5
- 133.Kanellos I, Mantzoros I, Goulimaris I, Effects of the use of fibrin glue around the colonic anastomosis of the rat. Tech Coloproctol 2003; 7.82-4
- 134.Martens M, Hendriks T, Wobbes T, Intraperitonel cytostatics impair early postoperative collagen synthesis in experimental intestinal anastomoses. Br J Cancer 1992;65: 649-654
- 135.Aszodi A, Ponsky J. Effects of 5-Fu on the healing of bowel anastomosis in rats. The American Surgeon 1985;52: 671-674
- 136.Graf W, Weiber S, Glimelius B, et al influence of 5-Fluorouracil and folinic acid on colonic healing: an experimental study in the rat. Br J Surg 1992;79: 825-828
- 137.Falcone E, Nappi F. Chemoterapy and wound healing Surh Clin N Am 1984; 64: 779-794
- 138.Klausner M. The effects of perioperative fluorouracil administration on convalescence and wound healing. Arch Surg 1986;136:239-242
- 139.Cronin K, Jackson D S, Dunphy J. E. Spesific activity of hidroxyproline tritium in the heling colon. Surg Gyn Obst,1968; 1260: 1061-65
- 140.Küçükkartallar T, Tekin A, Belviranlı M, Aksoy F, Vatansev C , Eritropoetin kemoterapi uygulanan ratlarda kolon anastomozlarının üzerine etkisi
- 141.Choukroun J, Diss A, Simonperi A, Girard M, O Schoeffler C, Dohan S, L, Dohan A, J, Mouhyi J, Platelet rich fibrin(prf):a second generation platelet.s.l.:concentrate .Part IV:clinical effects on tissue healing .Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod,101,56-60,2006
- 142.Ogawa R, Mizuno H, Hyakusoku H, Watanabe A, Migita M, Shimida T, Chondrogenic and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells isolated from GFP transgenic mice.s.l.J Nihon Med Sch.71(4):240-1,2004