

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**PELVİK RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ
SIÇANLARDA KOLOREKTAL ANASTOMOZ
ÜZERİNE SARILAN AMNİYOTİK MEMBRANIN
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BAHA ARSLAN

İZMİR 2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ
ANABİLİM DALI

**PELVİK RADYOTERAPİ UYGULANMIŞ
SIÇANLARDA KOLOREKTAL ANASTOMOZ
ÜZERİNE SARILAN AMNİYOTİK MEMBRANIN
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BAHA ARSLAN

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
YARD. DOÇ. DR. ALİ İBRAHİM SEVİNÇ**

ÖNSÖZ

Bu değerli mesleği edinmeme yardımcı olan, sabır ve emeklerini esirgemeyen hocalarım, başta Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Mehmet FÜZÜN olmak üzere, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İbrahim ASTARCIOĞLU, Prof. Dr. Hüseyin GÜLAY, Prof. Dr. Seymen BORA, Prof. Dr. Serdar SAYDAM, Prof. Dr. Selman SÖKMEN, Prof. Dr. Cem TERZİ, Prof. Dr. Sedat KARADEMİR, Prof. Dr. Mehmet Ali KOÇDOR, Prof. Dr. Hüseyin Yavuz ASTARCIOĞLU, Doç. Dr. Koray ATILLA, Yard. Doç. Dr. Ali İbrahim SEVİNÇ, Yard. Doç. Dr. Tarkan ÜNEK, Yard. Doç. Dr. Aras Emre CANDAN ve Yard. Doç. Dr. Mücahit ÖZBİLGİN'e, ameliyathane ve genel cerrahi anabilim dalında bu ekibin en önemli parçalarını oluşturan hemşire, personel ve teknisyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu deneysel araştırmanın oluşmasında büyük emeği geçen "ağabeylerim" tez danışmanım Yard. Doç. Dr. Ali İbrahim SEVİNÇ'e ve Prof. Dr. Cem TERZİ'ye, ayrıca çalışmaya katkıları nedeni ile dostlarım Dr. Mehmet Can YAKUT ve Dr. Abdullah Haluk ŞİRİN'e teşekkürü borç bilirim. Çalışmaya desteklerini esirgemeyen ONKOMER Özel Onkoloji Dalı Merkezi çalışanları adına Prof. Dr. Hilmi ALANYALI, Prof. Dr. Serdar ÖZKÖK, Med. Fiz. Uzm. Burçin PAYIDAR, Med. Fiz. Uzm. Yeliz YALÇIN, Tek. Gökçenur BOSTANOĞLU'na; ayrıca histopatolojik değerlendirmeleri yapan Uzm. Dr. Mehtat ÜNLÜ'ye, istatistiksel çalışmaların yapılmasını sağlayan Öğr. Gör. Dr. Hatice ŞİMŞEK'e teşekkür ederim.

Tanrının bana verdiği en önemli ilk üç armağan Melihat-İsmail ARSLAN ve Şule ROGENBUKE'ye bana olan güven ve destekleri için minnettarım. Bu dünyaya birlikte kucak açtığım dostum, eşim Yard. Doç. Dr. Gülşah GÜROL ARSLAN ve bu dünyanın en değerli varlığı kızım Çınla Sadberk'e sabır ve destekleri için teşekkür ederim.

Sevgili dostum Dr. Resul İNAN'a saygılarımla...

Dr. Baha ARSLAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Aralık 2011

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
RESİM LİSTESİ.....	IV
KISALTMALAR.....	V
ÖZET	1
İNGİLİZCE ÖZET	3
GİRİŞ- AMAÇ.....	5
GENEL BİLGİLER	7
YARA İYİLEŞMESİNİN TEMEL PRENSİPLERİ.....	7
NEOADJUVAN RADYOTERAPİ.....	21
AMNİYOTİK MEMBRAN	27
GEREÇ VE YÖNTEM	30
BULGULAR	41
TARTIŞMA	54
SONUÇ	61
KAYNAKLAR	62
ETİK KURUL ONAYI	72

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Yara İyileşmesi İle İlgili Hemostatik Trombosit Derive Faktörler	8
Tablo 2. Fibroblast Proliferasyonunda Büyüme Faktörlerinin Etkisi	9
Tablo 3. Büyüme Faktörleri ve Yara İyileşmesi	15
Tablo 4. Cilt ve GIS' teki Yara İyileşmesinin Karşılaştırılması	20
Tablo 5. Gastrointestinal İyileşmeyi Etkileyen Faktörler	21
Tablo 6. Amniyotik Membranın İçerdiği Biyolojik Maddeler	29
Tablo7. Üçüncü gün deneklerinde komplikasyonlar	43
Tablo 8. Yedinci gün deneklerinde komplikasyonlar	43
Tablo 9. Üçüncü ve yedinci gün histopatolojik değerlendirme sonuçları (cerrahi teknik kontrolü)	47
Tablo 10. Üçüncü ve yedinci gün histopatolojik değerlendirme sonuçlar tablosu (yara iyileşmesi)	50

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Randomizasyon Sonrası Gruplara Ayrılma Şeması.....	30
Şekil 2. Üçüncü gün gruplarının ağırlık değişimi.....	41
Şekil 3. Yedinci gün gruplarının ağırlık değişimi.....	41
Şekil 4. Üçüncü gün gruplarının anastomoz patlama basınçları dağılım grafiği.....	45
Şekil 5. Yedinci gün gruplarının anastomoz patlama basınçları dağılım grafiği	46

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Işınlama Alanlarının Simülatörde Tespit Edilmesi.....	31
Resim 2. Işınlama Esnasında Sıçanların Yerleşimi	32
Resim 3. Işınlama Alanlarının Görünümü	32
Resim 4. Barsak Anastomozunu Tamamlanmış Hali	35
Resim 5. Anastomoz Hattı Üzerine Örtülen Amniyotik Membran	35
Resim 6. Amniyotik Membran İle Sarılmış Anastomoz Hattı Görünümü	36
Resim 7. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü İçin Kullanılan Düzenek	38
Resim 8. Patlama Basıncı Ölçümü Sonu, Anastomoz Hattından Patlama.....	38
Resim 9. Anastomoz Patlama Basıncının Monitörden İzlenmesi	39
Resim 10. Muskularis propria rejenerasyonu.....	52
Resim 11. Mukoza reepitelizasyonu.....	52
Resim12. Enflamatuar eksuda (mavi), AM (siyah), granülasyon dokusu (yeşil) (RT'li+AM'lı, yedinci gün).....	53
Resim 13. Enflamatuar eksuda (mavi), AM (siyah) (üçüncü gün RT'li+AM'lı).....	53

KISALTMALAR

AM: Amniyotik Membran

AD: Anlamlı Değil

b-FGF: Basic Fibroblast Growth Factor

BNP: Brain Natriuretic Peptide

EGF: Epidermal Growth Faktör

eCG: Equine Gonadotrophic Hormon

HGF: Hepatocyte Growth Faktör

HCG: Human Korionic Gonadotropin

GFmRNA: Growth Factor mRNA

IFN: İnterferon

IL: İnterlökin

KGF: Keratocyte Growth Faktör

KRT: Kemoradyoterapi

KT: Kemoterapi

NGF: Nerve Growth Factor

PAF: Platelet Activating Factor

PDGF: Platelet-Derived Growth Faktör

RT: Radyoterapi

TCD95: Tümör Letal Dozu

TGF- β : Transforming Growth Faktör- β

TNF- α : Tümör Nekroze Edici Faktör α

ÖZET

Pelvik Radyoterapi Uygulanmış Sıçanlarda Kolorektal Anastomoz Üzerine Sarılan Amniyotik Membranın Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi

Dr. Baha Arslan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı,

İnciraltı, İzmir - TÜRKİYE

Tel: 0 232 4122901

GSM: 0505 3241633

Çalışmada, pelvik RT uygulanmış olan sıçanlarda kolon rezeksiyonu ve primer anastomoz sonrası anastomoz hattı üzerine sarılan AM'in, anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Çalışma başında 56 adet erkek Wistar Albino sıçanı dört ana (I. Grup, sol kolon rezeksiyonu ve primer anastomoz; II. Grup, anastomoz sonrası amniyotik membran; III. grup preoperatif RT; IV. grup, preoperatif RT ve AM grubu) ve iki alt gruba (üçüncü ve yedinci gün sonlanım grupları) yedişer adet rastgele dağıtıldı. Tüm sıçanlara 1 cm'lik sol kolon rezeksiyonu ve primer anastomoz yapıldı. Gruplardaki tüm sıçanların yarısı üçüncü, diğer yarısı da yedinci günde analitik işlemler için genel anestezi altında reopere edildi. Vücut ağırlığı, abdominal yara iyileşmesi, intraabdominal adezyonlar, anastomoz komplikasyonları, anastomoz patlama basıncı, anastomoz patlama yeri kaydedildi. Histopatolojik inceleme için anastomoz hattı çıkarılarak patoloji laboratuvarına gönderildi.

Hiçbir denekte anastomoz ayrılması izlenmezken takip edilen komplikasyonlarda gruplar arası istatistiksel bir fark görülmedi. Üçüncü gün grupları adezyon skoru ortalaması AM uygulanan gruplarda istatistiksel anlamlı olarak düşük bulunurken ($p<0.05$) yedinci gün gruplarında anlamlı fark yoktu. Üçüncü ve yedinci gün gruplarında AM uygulanan gruplarda anastomoz patlama basıncı uygulanmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlendi ($p<0.05$). Amniyotik membran uygulanmayan RT'li ve RT'siz gruplarda ise anlamlı istatistiksel fark izlenmedi. Üçüncü gün gruplarında AM uygulanan deneklerin sadece birinde anastomoz hattından patlama izlenirken ($p<0.05$), AM uygulanmayan gruplarda ise anastomoz hattından patlama izlendi. Yedinci gün gruplarında ise bu karşılaştırma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Histopatolojik değerlendirmede üçüncü gün gruplarında hiçbir parametrede istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi. Yedinci gün gruplarında ise nekrozun ve inflamatuvar eksudanın istatistiksel anlamlı olarak RT'li gruplarda fazla olduğu ve AM

uygulanan grupta ise anlamlı yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). Yedinci gün grupları arasında granülasyon dokusu ve fibroblast miktarı ise RT'siz+AM'lı grupta anlamlı yüksekti ($p<0.05$). Yedinci gün grupları arasında makrofaj miktarı ise AM'ın uygulandığı her iki grupta da anlamlı düşük izlendi ($p<0.05$).

İster RT'li ister RT'siz barsaklarda yapılan anastomoz üzerine AM uygulanması anastomoz sağlığını olumlu etkileyerek iyileşmeye katkıda bulunabilir, hatta olguların çoğunda saptırıcı stoma ihtiyacını ortadan kaldırabilir.

Anahtar kelimeler: Radyoterapi, amniyotik membran, anastomoz iyileşmesi.

SUMMARY

Study On Healing Effects Of Covered Amniotic Membran Application On Colorectal Anastomosis After Pelvic Radiotherapy On The Rats.

Baha ARSLAN, MD

Dokuz Eylul University Faculty of Medicine, Department of Surgery,

Inciralti, Izmir - TURKEY

Tel: 0 232 4122901

Mobile: 0505 3241633

ON this study it's intended to investigate the healing effect of AM which wrapped onto the anastomosis line after colonic resection and primer anastomosis on the rats which applied pelvic RT.

At the beginning, 56 mail wistar albino rats were divided four main group (I. Group left colon resection; II. Group AM after anastomosis; III. Group preoperative RT; IV. Group preoperative RT and AM) and two sub groups (ended on the third and seventh day) that there were seven rats each of them those were randomly distributed. All the rats were implemented with left colonic resection and primer anastomosis. Half of the rats for each group were reoperated on the third day and the other half of them were reoperated on the seventh day in general anesthesia for analytical procedures.

Body weight, abdominal wound healing, intra-abdominal adhesions, anastomotic complications, anastomotic bursting pressure, anastomotic bursting site was recorded. Anastomosis line removed and sent to pathology laboratory for histopathological examination.

Any anastomotic split and statistical differences for the subsequenced complications between the groups were not observed. Average adhesion score on the AM applicated groups was determined lower in statistically ($p < 0,05$) on the third days group; but there were not significantly difference on the seventh day groups.

On the AM applied groups of third and seventh days, anastomotic bursting pressure was determined significantly higher than the non AM applied groups ($p < 0,05$). There were not significantly statistical difference between the groups with RT and Groups without RT which the groups were not applied AM. On the third days groups, anastomotic bursting on anastomosis line was observed just one of the AM applied subject ($p < 0,05$), but anastomotic bursting on anastomosis line were observed most of the non AM applied subjects.

On the seventh day groups, this statistical comparison were not significant. On the histopathological assesement, there were not any significantly differences on any parameters for the third day groups.

Necrosis and inflammatory exudate in the Seventh-day groups, was found statistically significantly more on the groups with RT'; and significantly higher in the group that was applied AM ($p < 0.05$).

Granulation tissue and the amount of fibroblasts are significantly higher on the seventh day groups with AM + RT ($p < 0.05$). Amonut of macrophage are significantly lower on both seventh day groups which applied AM ($p < 0.05$).

Whether with RT or without RT, application of AM on bowel anastomosis may contribute to anastomotic healing by positively affecting the health of anastomosis, even in most cases eliminate the need for diversion stoma.

Key words: radiotherapy, amniotic membrane, anastomotic healing

GİRİŞ VE AMAÇ

Rektum kanseri kadınlarda meme ve akciğer, erkeklerde ise prostat ve akciğer kanserinden sonra 3. sıklıkta görülen bir kanserdir (1). Sadece cerrahi yapılan rektum kanserli T3, T4, N+ lezyonlar yüksek lokal nüks riski taşır. Opere edilebilir rektum kanserli hastalarda uygulanan preoperatif radyoterapi (RT) tek başına cerrahi tedavi ile karşılaştırıldığında lokal nüksü azaltarak sağ kalımda anlamlı iyileşmeye katkıda bulunur (2). Bu yararlı etki ile beraber uygulanan preoperatif RT uygulandığı bölgede oluşturduğu doku hasarı ile cerrahi sonrası anastomoz sağlığı üzerine olumsuz etkisini sürdürmeye devam eder (3-5).

Anastomoz gücünün oluşması enflamasyon, kollajen metabolizması ve reepitelizasyondan etkilenir. Mukozal tabakada oluşan bakteriyel kontaminasyona bağlı ikincil bir enflamatuvar süreçte olaya dahil olur. Bu durumda kollajen yıkımı artar. Anastomoz dayanıklılık süresi kollajen liflerinin oluşmasında gecikme ile uzar, anastomoz sağlığı etkilenir. Radyasyon ve hücre arasında bir dizi moleküler olaylar sonucunda hücre bölünmesi inhibe olur. Radyasyon özellikle bölünen hücreler üzerine letal etkilidir. Radyasyon hücre üzerine doğrudan ve dolaylı yoldan etki eder. Doğrudan etki ile DNA üzerindeki moleküller zarar görür. Radyasyon ayrıca ortamda bulunan su molekülü ile etkileşime girerek serbest radikaller oluşturur. Dolaylı etki ile, serbest radikaller ortamdaki DNA üzerine etki eder. DNA'nın tek veya çift zincirlerinde kırıklar oluşur (6).

Radyasyonun organ fonksiyonu üzerine olan etkileri, hücrelerin çoğalma hızına bağlıdır. Proliferasyon hızı yüksek olan hücreler radyosensitif, düşük olanlar radyorezistandır. Akut radyasyon komplikasyonları deri, gastrointestinal sistem, mesane, vagina mukozası, kemik iliği hücreleri, gonadlar ve ekzokrin bezlerde daha fazla görülür (7).

Neoadjuvan kemoradyoterapi (KRT) sonrası rektum kanseri nedeni ile sfinkter koruyucu cerrahi yapılan hastalarda kolorektal anastomoz kaçığı oranı literatürde %3 ile %18 arasında verilmektedir (8-19). Buna bağlı mortalite ise %6-22'dir (9,13,14,19).

Neoadjuvan KRT alan rektum kanserli hastalarda sfinkter koruyucu cerrahi sonrası yapılan saptırıcı stoma kolorektal anastomoz kaçığını önlemek için yaygın olarak kullanılır. Ancak literatürde tartışmalar saptırıcı stomanın anastomoz kaçığını önlemede mi yoksa anastomoz kaçık şiddetini azaltmada mı etkili olduğu konusunda devam etmektedir (20,21).

Amniyotik membran (AM) fetal membranların en içteki tabakasını oluşturur. Tek katlı epitelyal tabaka, kalın bir bazal membran ve avasküler mezenşim olmak üzere üç tabakadan oluşur. Bazal membranın bileşiminde growth faktör ve proteinaz inhibitörleri bulunur. Çalışmalar AM'nin antibakteriyel ve düşük immünijenite özelliğine sahip olduğunu, inflamasyon ve skar oluşumunu azalttığı anjiyogeneze izin vererek yara iyileşmesini ve epitelizasyonu hızlandırdığını göstermiştir (22-29).

Amniyotik membran 1917 de Davies tarafından cilt transplantasyonunda ilk olarak kullanılmasının ardından günümüze kadar birçok rekonstrüksiyon ameliyatında kullanılmıştır (30-36).

Literatüre bakıldığında ratlarda AM'nin konvansiyonel olarak dikilen yüksek riskli kolonik anastomozlarda anastomoz iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu belirtmişlerdir (37,38).

Bizim çalışmamızda, klinik uygulamaya benzer deneysel bir model üzerinde pelvik RT uygulanmış olan sıçanlarda kolon rezeksiyonu ve primer anastomoz sonrası anastomoz hattı üzerine sarılan AM'nin, anastomoz iyileşmesi üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

Yara İyileşmesinin Temel Prensipleri:

Yaralanma, yara iyileşmesine neden olan selüler ve biokimyasal olayların kaskadını tetikler. Daha kolay anlaşılması için, yara iyileşmesi yanıtı üç farklı, fakat üstüste binmiş faza ayrılabilir :

- 1- Hemostaz ve inflamasyon
- 2- Proliferasyon
- 3- Matürasyon ve remodelling (3,39).

Bu fazlardan herhangi birindeki bozulma veya uzama yara iyileşmesinde gecikmeye veya yaranın kapanmamasına neden olabilir (40).

1-Hemostaz ve inflamasyon:

İnflamatuvar faz; yara iyileşmesinde vasküler permeabilitede artış, dolaşımdan yara bölgesine hücrelerin kemotaksisi, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin lokal olarak salgılanması ve göç eden hücrelerin aktivasyonu ile karakterize önemli bir dönemdir.

Hemostaz, inflamasyondan önce gelir. Damarların rüptürüyle subendotelial kollajen açığa çıkar ve trombositler agregre olarak koagülasyon kaskadının intrensek kısmını başlatır. Kollajen ve trombositler arasındaki temas gibi trombin, fibronektin ve bunların fragmanlarının varlığı; platelet-derived growth faktör (PDGF), transforming growth faktör- β (TGF- β), platelet activating faktör (PAF), fibronektin ve serotonin gibi sitokinler ve büyüme faktörlerinin trombosit α granüllerinden salgılanmasına neden olur (Tablo 1). Lokal olarak oluşan fibrin pıhtısı, nötrofil, monosit, fibroblast ve endotelial hücreler için yapı iskeletini oluşturur. Faktör XIII (Fibrin stabilize edici faktör) eksikliğinde olduğu gibi tam olmayan pıhtı oluşumu da hücrelerin iltihap alanına adezyonunda azalmaya veya azalmış kemotaksise sekonder olarak yara iyileşmesinde bozulmaya neden olur (41).

Kemotaksis: Nötrofiller yaraya göç eden ilk hücrelerdir. İnflamasyona bağlı olarak artmış vasküler permeabilite, prostoglandinler ve İnterleukin I, Tümör Nekroze Edici Faktör α (TNF- α), TGF- β , Trombosit Faktör 4 ve bakteriel ürünler gibi kemotaktik maddeler nötrofil göçünü uyarır.

Endotelial hücre yüzeyindeki reseptör olan selektin, nötrofillerin endotele yapışmasına yardım eder. Nötrofil hücre yüzeyindeki integrin reseptörleri, ekstraselüler matrikse yapışmayı arttırmırlar. Bu iki hücre reseptörü arasındaki ilişki hücrelerin marginasyonu için önemlidir.

Kemotaktik sinyale hücrelerin yanıtı ayrıca hücre yüzeyi reseptörleri tarafından düzenlenir. Bunlar uyarı ve yanıt arasında kesin bir ayırım sağlar. Örneğin PDGF fibroblastlar ve düz kaslar için çok güçlü bir kemotaktik ajandır, fakat endotelial hücreleri, epitelial hücreleri ve lökositleri etkilemez.

Sitokinler ve büyüme faktörleri genellikle hücre üzerinde spesifik etkiden fazlasını gösterirler. Kemotaksis ve proliferasyon bir çok faktör tarafından konsantrasyona bağlı olacak şekilde etkilenir. Örneğin TGF- β , monositler için femtomolar düzeyde kemotaktik iken, fibroblastlardaki kollajen sentezini arttıran düzeyi nanomolar düzeydedir. Aynı durum fibroblastlar için 100 kat daha düşük düzeyde kemotaktik etki eden PDGF için de geçerlidir (39) (Tablo 2).

Tablo 1. Yara İyileşmesi İle İlgili Hemostatik Trombosit Derive Faktörler:

Hemostatik faktörler	Fonksiyon
Fibrin, plazma fibronektini	Koagülasyon, kemoatraksiyon, adezyon, hücre göçü için yapı iskeleti.
Faktör XIII (Fibrin-Stabilizing Factor)	Kemoatraksiyon ve adezyonu artırır.
Dolaşımsal büyüme faktörleri	Kemoatraksiyonu, mitogenezi ve fibroplaziyi düzenler.
Kompleman	Antimikrobiale aktivite, kemoatraksiyon.
<u>Trombosit derive faktörler:</u>	
Sitokinler, büyüme faktörleri	Kemoatraksiyonu, mitogenezi ve fibroplaziyi düzenler.
Fibronektin	Trombosit agregasyonu için erken matriks bağı
Trombosit aktive edici faktör (PAF)	Trombosit agregasyonu
Tromboksan A2	Vazokonstriksiyon, Trombosit agregasyonu, Kemotaksis
Trombosit Faktör IV	Fibroblast ve monositler için kemotaktik, Heparinin aktivitesini nötralize eder, Kollajenazı inhibe eder.
Serotonin	Vasküler permeabiliteyi artırır, nötrofiller için kemoatraktanttır.
Adenozin dinükleotid	Hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu uyarır, trombosit agregasyonunu artırır.

Tablo 2. Fibroblast Proliferasyonunda Büyüme Faktörlerinin Etkisi:

Faktör	Konsantrasyon	Etki	Mekanizma
Trombosit derive GF	ng değerinde Max 5-10ng/mL	↑	
İnterferon γ	1-100 U/mL 1-1000 U/mL	↑	Go/G1 ve G2 yi uzatır
TGF- β	0.1-1 ng/mL 1-10 ng/mL	↑ ↓	PDGF salgısını artırır
Fibroblast Growth Factor		↑	
Epidermal Growth Faktör	max.20 ng/mL	↑	
İnterleukin I		↑ ↓	PDGF salgısını artırır
TNF- α	0-1.2 nm Düşük Yüksek	→ ↑ ↓	PDGF yi artırır

Hücre aktivasyonu:

Hücrelerin yara alanına kemotaksisini, fonksiyonel aktivasyon takip eder. Hücre aktivasyonu, lokal mediatörlerce sağlanan hücresel, biokimyasal ve fonksiyonel fenotipik değişikliklere neden olur. Aktivasyon yeni hücre yüzey antijen oluşumunu, sitotoksiteyi, sitokinlerin oluşumunu ve salgılanmasını arttırabilir ve öteki fenotipik değişikliklere neden olabilir.

Yara iyileşmesinde rol alan tüm hücreler aktive olmalıdır. Nötrofil, makrofaj ve lenfositler inflamasyonda baskın hale geçerler. İyi bir yara iyileşmesi için bunların iyileşme aşamalarındaki konsantrasyonları farklıdır. Makrofajlar ve lenfositler kritik roller oynarlar, fakat nötrofiller bakteriyel kontaminasyonun olmadığı ortamda, fagositozda rol oynadıkları için ve antimikrobial savunma makrofajlar tarafından yapıldığı için pek önemli değillerdir (42).

Makrofajların aktivasyonu yara iyileşmesinin birikme, matris sentezi ve anjiogenez gibi pek çok döneminde önemli rol oynar. Trombositlerden faktörlerin salgılanması makrofaj aktivasyonu için ilk ve güçlü uyarıdır. Fibrinojen veya kollajen gibi hücrel artıkların fagositozu ayrıca bunların aktivasyonunu artırır. Örneğin fetal iyileşme minimal inflamasyon ve iz bırakmadan olur. Çünkü normal fetal trombositler erişkin trombositlerine göre daha az sitokin salgırlar. Bu da daha az makrofaj aktivasyonuna ve daha az inflamasyona neden olur (43).

Makrofajların aktivasyonu, anjiogenez ve fibroplaziyi kontrol eden sitokin salgılanmasını sağlar. Makrofajların yara iyileşmesinde kritik bir rol oynadığını kanıtlayan bir çok çalışma mevcuttur (42).

Yara makrofajlarının aktivasyonu ayrıca, antimikrobiyal özellikleri de olan, bir çok fonksiyona sahip nitrik oksit sentezine neden olur. Albina ve arkadaşları yara iyileşmesinin erken fazında makrofajlardan aktive olan nitrik oksit sentezinin arttığı ve hipoksik yara ortamında bu etkinin güçlendiğini göstermişlerdir. Yara iyileşmesinde rol alan bir çok hücre; edotelial hücreler, fibroblastlar, monositler ve lenfositlerde nitrik oksit üretimi için aktive olurlar. Yakın zamandaki çalışmalar tam olmayan yara iyileşmesi modellerinde nitrik oksidin sentezinin azaldığını göstermiştir (44). Bu bilgi bize nitrik oksidin yara iyileşmesinde antimikrobial rolden daha fazla bir rolünün olduğunu göstermektedir.

Aktive edilmiş makrofajlar, lenfositler ve sitokinler gibi öteki hücreleri de aktive ederler. İlginç olan salgılanmış IFN γ , makrofajlar ve monositler üzerine etki ederek TNF- α ve IL-1 gibi öteki sitokinlerin salgılanmasını azalttırlar. Bu sitokinlerin yara ortamında uzun dönem varlığının ve iyileşme esnasında hücreler arasındaki kompleks ilişkilerini gösteren parakrin mekanizmanın bir örneğidir (45).

Daha önce belirtildiği gibi, yara iyileşmesi esnasında hücre aktivasyonu ayrıca belirli hücre popülasyonlarında fenotipik değişikliklere yol açar. Fibroblastlar bu durumda en çok dikkati çeken hücrelerdir fakat epidermal hücreler de ayrıca fenotipik değişikliklere gider. Yara yerindeki fibroblastlar kollajen sentezini ve kontraksiyonunu arttırlar, fakat proliferasyonu normal dermal fibroblastlara göre azaltırlar. Bu en iyi TGF- β 1 tarafından arttırılan

myofibroblastik fenotip için gösterilmiştir. Matriks hücreleri ayrıca fenotipleri etkileyebilir. Örneğin, extraselüler matriks molekülü fibronektinin sentezi ile oluşan hücre adezyonu fenotipik değişikliklere neden olabilir (46,47).

Azalmış inflamatuvar cevap, klinik ve deneysel olarak diyabette ve steroid tedavisinde gösterildiği gibi gecikmiş yara iyileşmesine neden olabilir. Diyabette inflamatuvar hücrelerin gecikmiş aktivasyonu, azalmış kemotaksis ile birleşerek bakterilerin öldürülmesini azaltır, ardışık enfeksiyonlara neden olur ve kollajen birikimini azaltır. Steroidler tarafından etkilenen gecikmiş inflamasyon, hücre migrasyonunu ve angiogenezi etkiler. Bu durum A vitamini verilmesiyle tersine çevrilebilir (48,49).

2-Proliferatif faz:

Bu fazda, fibroblastlar ve endotelial hücreler proliferasyonu sağlayan primer hücrelerdir. Fibroblastlar çevre dokudan yara kenarına göçerler. Endotelial hücreler yaradaki hasar görmemiş venüllerden çoğalıp angiogenez için yeni kapillerler oluşturur. Büyüme faktörleri ve sitokinler, trombositlerden ve aktif makrofajlardan köken alan bu iki hücre tipinin proliferasyonundan sorumludurlar. Bu hücrelerin bazıları fibrin pıhtısında depolanır. Mezenkimal hücrelerin bazıları büyüme faktörü ve sitokinlerin otokrin karakterde salgılanmasını arttırır.

Sitokinlerin bildirilen bazı proliferatif etkileri birbirinin zıddıdır. İnvitro sonuçların invivo durumlara doğrudan güçtür.

Eksizyonel yara iyileşmesinde, sıvı kayıplarına ve enfeksiyonlara karşı bariyer oluşturan epitelial hücre proliferasyonunun rolü yadsınamaz. Epitelial hücreler, yaralanmadan birkaç gün sonra yara kenarlarından veya yaradaki hasarlanmamış epitelial adacıklarda proliferasyona başlarlar. Epitelial hücre proliferasyonundaki uyarı henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Fakat bu hücreler kadar makrofajlar da otokrin ve parakrin mekanizma ile hareket eden sitokinler ve büyüme faktörlerinin kaynağını oluştururlar (39).

Proliferatif faza dönmeyi sağlayan sinyaller üzerinde ilgi artmakla birlikte, bu fazı bitiren sinyaller hakkında çok az şey bilinmektedir. Olasılıkla negatif geri bildirim mekanizmaları bu durumda rol oynamaktadırlar (50).

Yara iyileşme kaskadında görevini tamamlayan bazı hücrelerin kaderi tam olarak belli değildir. Nötrofiller apoptozise uğrar ve makrofajlarca temizlenir. Makrofajların da yara metabolizmasının arginaz salgısının etkisiyle aynı kaderi paylaştığı düşünülmektedir. Yakın

zamanda bir peritoneal inflamasyon modelinde, makrofajların lokal lenf nodlarına drene olduğu ve apoptozise uğradığı gösterilmiştir (51,52).

3- Matürasyon ve remodelling dönemi:

Matürasyon fazının temel özelliği, kollajenin yaradaki birikimidir. Klinik olarak iyileşmenin en önemli dönemi budur, çünkü matriks birikiminin kalitesi, oranı ve toplam miktarı iyileşmenin gücünü saptar. Klinikte ortaya çıkan pek çok iyileşme bozukluğu kötü kollajen birikimi nedeni ile oluşur. Diyabette kötü matriks birikiminin sebebi, azalmış inflamasyona bağlıdır. Diğer taraftan hipertrofik skar ve keloidde olduğu gibi aşırı kollajen sentezi de tedavi gerektiren klinik problemlerdir (39).

Yarada matriks birikimi:

Yaradaki matriks zaman içerisinde değişik özellikler gösterir. Başta temel olarak hemostaz ve makrofajlar tarafından oluşturulan fibrin ve fibronektinden oluşur. Diğer bir erken oluşan protein de yara sıvısındaki hücrelerce desteklenen, trombospondin-1'dir. Glikozaminoglikan, proteoglikan ve SPARC (Secreted Protein Acidic Rich in Cystein) gibi öteki proteinler daha sonradan sentez edilirler ve sonraki matriks birikimi ve remodelling'i sağlarlar. Sonuçta kollajenler baskın skar proteini haline gelir (39).

Sağlam deride kollajen I (%80-90) ve kollajen III (%10-20) oranında bulunur. Granülasyon dokusunda tip III kollajen artar (%30), matür skarda tip III kollajen biraz daha düşüktür (%10). Tip VI kollajenin geçici oluşumu ayrıca gözlemlenmiştir. Tip III kollajenin erken oluşumu fibronektin oluşumunu da etkiler ve bu da fibronektin ile örtülü denatüre kollajenin fagositozu arttırmasının sebebidir. Bununla beraber yaranın gücü üzerinde belirgin bir etki yapamayan Tip III kollajenin erken birikimi tam olarak anlaşılmalıdır (53).

Yaralanmadan 4-5 hafta sonra kollajen sentezi artar. Fibroblastlar kollajen sentez eden ana hücrelerdir. İyileşme esnasındaki artmış kollajen sentez oranı sadece hücre sayısının artması ile değil, her hücredeki artmış kollajen sentezi ile de olur.

Matriks yapısı zamanla değişir. Normal deri file tipi bir yapılanma gösterir. Skarda ise ince kollajen lifleri cilde paralel yerleşir. Bu ince kollajen lifleri yaralanma ve organizasyon sonrası yara yerinde kalınlaşmaya başlar. Bu değişiklik artmış yara gücü ile gözlenir. Biokimyasal olarak granülasyon dokusundaki kollajen ile yaralanmamış derideki kollajen lizin rezidülerinin yüksek hidroksilasyon ve glikozilasyonu ile birbirlerinden farklıdır. Yüksek

glikozisasyon kalın fiber çapıyla bağlantılıdır. Fakat rolü tam net değildir. Uzun ve sürekli remodelling fazına rağmen (1 yılı aşkın) iyileşmiş dokudaki kollajen lifleri, hasarsız ciltteki gibi organize olamazlar. Bununla bağlantılı olarak yara ayrılma gücü hiçbir zaman cilttekine eşit olmaz. Yaradaki ayrılma gücü, son gücüne göre birinci haftada %3, üçüncü haftada %20 oranındadır. 3 ay sonra sağlam dokunun %80' i kadar bir güce kavuşur fakat bundan sonra hiç artmaz (54).

Kollajen metabolizması:

Hücre içinde bir çok protein gibi bilinen 19 kollajenin sentezi gerçekleşir. Kollajen molekülü tekrarlayan sıralarla Gly-X-Y den oluşur ve X genellikle prolin, Y genellikle hidroksiprolindir. Molekül prokollajen oluşumuna kadar 8 aşamadan geçer. Bu aşamalar:

- 1- Sinyal peptidlerinin ayrılması.
- 2- Prolin veya Lizin aminoasitlerinin X pozisyonunda hidroksilasyonu ile 4-hidroksiprolin veya 4-hidroksilizine dönüşmesi.
- 3- Bazı prolin rezidülerinin 3-hidroksiprolin hidroksilasyonu .
- 4- Bazı hidroksilizin moleküllerinin galaktoz veya glikoza glikozilasyonu.
- 5- Oligosakkaritlerin propeptidlere eklenmesi.
- 6- C terminal propeptidlere bağlanma.
- 7- Zincirlerin ve zincirler arası disülfid bağlarının oluşması.
- 8- C terminal ucundan bağlanıp N terminal ucuna ulaşan üçlü zincir heliksin oluşumu olarak sıralanabilir (39-53).

Post-translasyonel değişimler tamamlandığında prokollajen olarak adlandırılan üçlü heliks, ekstraselüler ortamda prokollajen C çözünürlüğünün azalması ile doğrudan ilişkili bir işlemdir. Daha sonra fibril formasyonu işlemi başlar. Fibriller arasındaki çapraz bağlantılar, birkaç lizin ve hidroksilizin rezidülerinin sahip oldukları serbest aminoasit saplarını lizil oksidaz enzimi ile aldehid rezidülerine çevirmesi ile gerçekleşir. Çapraz bağlantı, bu nontransforme aldehid grupları ile aminoasit gruplarının lizin veya hidroksilizin rezidüleri arasında gerçekleşir.

Ehler-Danlos sendromu grubu, post-translasyonel modifikasyonlardaki defekt sonucu oluşan tam olarak iyileşmeyen yara iyileşmesinin klinik örneğidir. Diğer taraftan, lizil oksidazın bu spesifik post-translasyonel enzimlerinin inhibisyonu hipertrofik skar ve keloid gibi fibrotik hastalıkların gelecekteki tedavi seçeneği olabilir. Bu spesifik enzimler kollajenin stabil üçlü heliks yapısını spesifik kenarlarından degrade etme özelliğine sahiptir (55).

Kollajenaz aktivitesi, sitokinler tarafından kontrol edilir. Bir çok sitokinler yaradaki matriks metabolizması üzerindeki etkilerini sadece gen transkripsiyonunu azaltarak değil ayrıca kollajenaz aktivitesini de azaltarak (örneğin TGF- β 1) sağlar. İnvitro çalışmalara dayanarak kollajenazın ayrıca hücredeki ve ekstraselüler matriksteki sitoskeletonunun organizasyonu ile düzenlendiği iddia edilebilir (56).

Matriksin etkisi:

Yara iyileşmesindeki matriks birikimi, birikme ve ayrılma arasındaki denge ile sağlanır. Hücrelerin kendileri bu dengeyi ayarlarlar. Fakat bir çok veri doku tamirinde matriks ve hücreler arası ilişkisinde matriks için bir rol oynadığını göstermiştir. Örneğin pıhtı, başlangıçta göç eden hücreler için yapı iskeleti oluşturan yüksek miktarlarda plazma fibronektini içerir. Hücreler invazyonun oluşumu ile pıhtı lizise uğrar ve hücreler, hücreler fibronektin sentezine başlarlar. Fibronektin ve parçalanmış ürünleri, kemotaktik, adhesif etkilerini ve proliferasyonu artırarak tamamlanmamış fibronektin partiküllerini oluşturan matriks, fibroblastlardaki kollajenaz aktivitesini artırır. Böylece ekstraselüler matriks insitu hücreler aktivitesini etkileyen kendi dönüşüm turunu düzenleyebilir (54).

Bu hücre – matriks ilişkisi, transmembran hücre yüzeyi reseptörleri olan ve α , β olarak iki alt gruptan oluşan integrinlerin aracılığı ile sağlanır. Gerçi integrinler tarafından tetiklenen sinyal transdüksiyon yolu hakkında pek bilgi yoktur fakat iyileşme esnasında fibroblastların integrin reseptör yapılarını değiştirdiği gözlemlenmiştir. Başlangıç döneminde, tanıtıcı hücre göçü ağır basar. Daha sonra yapı hücreleri bağlanmasını ve matriks sentezini tercih eder. α 1, β 1 integrinleri mezenkimal hücrelerde saptanan temel integrinlerdir ve kollajene bağlı adezyon, migrasyon ve gel kontraksiyonunu düzenler. Öyleyse integrin, yaralanmadan sonra remodelling için önemlidir. Değişik integrin yapıları olasılıkla yaralanma alanındaki sitokinler tarafından düzenlenir. Bunlar TGF- β , PDGF ve TNF- α dır (57) (Tablo 3).

Belirlenmiş integrin reseptörü, hücre tipine bağlı olarak birçok farklı fonksiyon için kodlanabilir. Bu değişkenlik yara iyileşmesindeki karmaşıklığı bir kez daha göstermektedir.

Yara kontraksiyonu:

Yara kontraksiyonu yara kenarlarının birbirlerine yaklaşmasıdır ve skar oluşumunu hızlandırır. Primer veya sekonder iyileşme niyeti, iyileşme işlemindeki yara kontraksiyonunun rolünü saptar. Yara kontraksiyonu ile ilgili pek çok teori mevcuttur. Bir teoride, myofibroblastların kontraksiyondan sorumlu olduğunu söylenirken, diğerinde ise fibroblastların

taşınmasının matriks reorganizasyonunu sağladığı ve kontraksiyona neden olduğunu idida edilir (58).

Myofibroblastlar, hücre iskelet yapısı ile normal fibroblastlardan farklıdır. Tipik olarak bu hücre stres lifleri olarak adlandırılan kalın bantlarında α düz kası aktini gösterir. Bu α düz kası aktini, 6. güne kadar saptanamaz, daha sonra yara iyileşmesinin 15. gününde progressif olarak gösterilir. Görülmesinden sonraki 4 haftada bu hücrenin apoptoza gittiğine inanılır. Bu işlem zengin hücre granülasyon dokusunu, fakir hücre skar dokusuna çevirir. α düz kası aktini, normal deri fibroblastlarının tersi olarak myofibroblastları kontraksiyona yönlendirir. Tüm kontrakte edici hücrelerin birleşimi yara kenarlarının yaklaşmasını artırır. İlginç olarak myofibroblastların ortaya çıkışı, yara kontraksiyonunun başlama zamanı ile bağlantılı değildir, genellikle yaralanmadan hemen sonra başlar ve bundan sonraki 2-3 hafta devam eder (58).

Tablo 3. Büyüme Faktörleri ve Yara İyileşmesi:

Büyüme faktörü	Biolojik etki
Trombosit derive büyüme faktörü (PDGF)	Proliferasyonu,kemotaksisi,matriks sentezini↑
Epidermal büyüme faktörü (EGF)	Epitelizasyonu,proliferasyonu uyarır
Değiştirici büyüme faktörü α (TGF- α)	Angiogenez ve epitelizasyonu ↑
Fibroblast büyüme faktörü (FGF)	Proliferasyon,anjiogenez uyarır
Değiştirici büyüme faktörü β (TGF- β)	Matriks sentezi,proliferasyonu ↑

Gastrointestinal Sistemin Yapı ve Histolojisi:

Gastrointestinal yol, içerideki mukozayı çevreleyen sirküler ve longitudinal düz kas liflerinden oluşur. Peritonun içerisinde içi boş organlar, visseral periton ile devam eden seroza ile çevrilidirler. Özefagus ve rektum ekstraperitonealdir ve serosal katmanları yoktur.

Gastrointestinal sistemde histolojik olarak birkaç katman saptanmıştır. Mukoza, submukoza, muskularis propriya ve seroza değişik hücre tiplerinde ve farklı fonksiyonel özelliktedirler. Mukoza yer aldığı yere göre, bezler, villiler veya kripler oluşturan epitelial hücreler içerir. Barsakların iç yüzeyi kolumnar epitel ile döşelidir. Özefagusta mukoza skuamoz epitel ile örtülüdür. Epitelin altında lamina propria yer alır. Lamina propriyada kan damarı ve lenfatiklere ek olarak fibroblast, myofibroblast ve düz kas hücreleri kadar lenfositler, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Lamina propria elastin ve Tip I, III, V

kollajen içerir. İnce bir düz kas katmanı olan muskularis mukozada mukozanın en derininde yer alan katmandır (53).

Submukoza esas olarak konnektif doku ve kan damarlarından oluşan farklı bir dokudur. İntestinal traktüsteki kollajen birikimi submukozada yer alır. Çünkü bu katman barsağın yapısal bütünlüğünden sorumludur. Submukoza gastrointestinal yolun gerilme gücünü sağlayan ve 1887'de Halsted'in saptadığı sonradan da Matheson'un popülerize ettiği gibi anastomoz barsak kenarlarını birarada tutan en önemli barsak katmanıdır (59-64). Kollajen oranları ciltten farklı olarak Tip I %68, Tip II %20 ve Tip V %12 oranındadır. İzole edilmiş canlı barsak düz kas hücreleri, dermal fibroblastlara göre yüksek oranlarda Tip I, III ve V kollajen içerir. Ek olarak düz kas hücrelerinin Tip V kollajene karşı reseptörleri ve seçici bağlantıları vardır. Öyleyse lamina propriyadaki kollajen, muskularis mukoza ve muskularis propriyayı çevreleyen düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Tip I kollajen submukozal gerilme kuvvetinin sağlanması için önemlidir. Tip II kollajen sentezi erken yara iyileşmesinde esas olarak granülasyon safhasında gözlenir (53).

Muskularis propriya düz kas hücrelerinin ilk katmanıdır ve kollajen Tip I, III, V'den oluşur. Bu katmandaki kollajen iskelet kaslarındakinden belirgin olarak daha fazladır ve barsak içerisinde kontraksiyonları sağlayan internal tendonlar gibi hareket ederler. İlginç olarak obstrüksiyona cevap olarak muskularis propriya hipertrofiye uğrar ve kollajen içeriği artar (40).

Peritoneal kavitede, gastrointestinal sistemin dış örtüsünü serosa oluşturur. Seroza, visseral peritonla devam eden primer olarak vaskülarize konnektif bir dokudur.

Anastamoz iyileşmesi:

Gastrointestinal sistemdeki insizyonel veya anastomatik iyileşme, tam kat oluşan yaralanmalardan farklılık gösterir. Kesilmiş uçlar biyolojik iyileşme oluşurken luminal devamlılığın sağlanması için birbirlerine yaklaştırılır. Bu tam kat yaralanma inflamasyon, proliferasyon ve konnektif doku birikiminin yer aldığı fibrotik bir yanıtı neden olur; onarım safhasında fibrotik bir skar oluşur. Talihsiz bir şekilde iyileşmenin komplikasyonları nadir değildir ve yetersiz iyileşme (anastomoz kaçağı, fistüller) veya aşırı iyileşme (darlık oluşumu, intestinal obstrüksiyon) şeklinde görülür (59-63).

Cerrahi işlemden sonraki barsak iyileşmesi, ciltte görülen ile benzer özellikler taşır. En belirgin farklılık kollajen yapımında rol alan fibroblastlardan ziyade intestinal düz kaslarda görülür. Daha önceden de bahsedildiği gibi, yapısal ekstraselüler matriksin oluşumunda düz kas hücrelerinin primer olarak sorumlu olduğunu gösteren pek çok bulgu mevcuttur (65). Derideki fibroblastlara benzer şekilde, düz kas hücreleri de sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin düzenleyici etkisi altındadır. Bununla birlikte bu ajanların düz kas üzerindeki etkileri cilttekine göre daha az birbirinin üzerine binmiştir. Örneğin, dermal fibroblastlar proliferasyon ve kollajen yapımı için genellikle PDGF ve TGF- β tarafından uyarılırlar. Bunun tam tersi olarak interlökin-1 β intestinal düz kaslarda proliferasyonu uyarırken kollajen sentezini azaltır ve kollajenaz etkisini artırır. PDGF ayrıca bu hücreler için mitojeniktir fakat kollajen metabolizması üzerinde az bir etkisi vardır. TGF- β intestinal düz kas hücrelerinde kollajen miktarını selektif olarak artırır fakat proliferasyon üzerine etkisi yoktur. Bu selektif etkiler intestinal tamirde ardışık düzenleyici rol oynar. İnterlökin-1 tamir işlemlerinin erken döneminde salgılanan pro-inflamatuvar bir sitokindir ve düz kas hücrelerinde proliferasyonu uyarır. Kollajen miktarındaki benzer azalma ve kollajenaz aktivitesindeki artma yara bölgesine hücre göçünü artırır. Sitokinlerin aktivitesindeki ikinci bir faz, TGF- β gibi faktörlerin selektif olarak bu göç eden hücreleri kollajen sentezi ve barsağın yapısal devamlılığının oluşması için uyarması ile olur (40,53,54,66).

İyileşmekte olan sütür hattının gücü, tamir işleminin kalite ve niceliğini gösterir. İntestinal yaraların gücünde, ilk 3, 4'üncü günde azalma olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (39). Bunun yara alanındaki artmış kollajenaz aktivitesi ile bağlantılı olduğu düşünülebilir. Bununla beraber kollajen miktarındaki azalma kesin olarak dökümanite edilmemiştir. Öyleyse güçteki azalmanın kollajen liflerindeki reorganizasyonun enzimatik olarak azalması ile bağlantılı olduğu düşünülebilir. Ek olarak; gözlemlenen güçteki azalma, yara alanındaki nötrofil birikimi ile de bağlantılı olabilir. Öyleyse nötrofil derive proteazlar ve serbest oksijen radikalleri güçteki azalmaya neden olabilecek ekstraselüler matriksteki değişikliklerden sorumlu olabilir (55,56). 3-4 gün sonra kollajen yapımı ve birikimi intestinal yara alanında ortaya çıkar. Bu artmış kollajen miktarı yaradaki ani güç kazanımına neden olur. Bununla birlikte ciltte olduğu gibi, barsak yaraları da yaralanmamış dokulardaki güce ulaşamazlar. Köpeklerde, kolondaki anastomoz gücü normal kolona göre 14'üncü günde %45 ve 4'üncü ayda %75 oranına ulaşır (Tablo 4).

Gastrointestinal yoldaki iyileşmeyi birçok intrensik ve ekstrensik faktörler etkiler. Gerçi anastomoz kaçağı daha çok yaşlı hastalarda görülür fakat genç ve yaşlı ratlarda yapılan kontrollü çalışmalarda anastomoz kaçaklarında bir farklılık gözlenmemiştir (67). Öyleyse yaş ve anastomoz kaçağı arasındaki bağlantı bir çok klinik faktöre bağlıdır. Ciltteki yara iyileşmesi gibi, protein malnütrisyonunun kolon cerrahisini takiben anastomoz gücü ve artmış kaçak oranları ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (56,68-72). Birçok antiinflamatuvar ve antineoplastik ajanın ciltteki iyileşmeyi geciktirdiği gösterilmiştir. Benzer şekilde kronik steroid kullanımının, farelerde mide iyileşmesinde ters etki ettiği, 5-FU'nun ise fare kolon ve ileumundaki anastomoz iyileşmesinde etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Şiddetli travma ve sepsis gibi sistemik faktörler intestinal iyileşmeyi etkileyen diğer faktörlerdir (Tablo 5).

Pek çok lokal ve intrensik faktörler nedeni ile azalmış kan akımı, peritoneal sepsis, fekal kontaminasyon anastomoz ayrılma oranlarını arttıran önemli faktörlerdir (53,60,61).

Özefagus ve rektumun serozasının olmamasının yanısıra anatomik olarak güç ulaşılan yerleşimleri ve kötü kanlanmaları anastomoz açısından risk yaratan faktörlerdir.

Gastrointestinal anastomozların mukozal kısmının onarımı yarayı granülasyon dokusu ile kaplayıp, defekti kapatan ve intraluminal maddelere karşı bariyer oluşturan epiteliyal hücrelerin göçü ve hiperplazisi ile sağlanır. Bu kapanma 3'üncü günde eğer barsak katmanları tam olarak karşı karşıya gelmişse sağlanır. Mukozal eversiyon ve inversiyonun herikisi de bu işlemi geciktirir (12).

Seroza, muskularis eksternayı kaplayan ince bir konnektif doku içerir. Bunun dış kısmını peritoneal kavitenin mezotelinin uzantısı sarar. Kaçak riskini minimize etmek için serozanın iyi bir şekilde karşı karşıya getirilmesi gerekir. Bunu sağlamanın da en iyi yolu invert edici sütür tekniğini kullanmaktır. Gastrointestinal sistemin anastomoz korunmasında önemli rol oynayan serozal örtüsü olmayan ekstraperitoneal segmentlerinde, özefagusta ve rektum alt 1/3 kısmında görüldüğü gibi yüksek komplikasyon riskleri mevcuttur.

Kolonda hem fibroblastlar hemde düz kas hücreleri kollajen yapar ve üç kollajen subeptidi de submukozada bulunur.

Barsak duvarının kesilmesi ile baştaki hemostatik vazokonstrüksiyonu takiben esas olarak kininler tarafından arttırılan sekonder vazodilatasyon ve artmış damar permeabilitesi

oluşur. Bu işlemin sonunda dokularda ödem ve şişme oluşur. Sütür atarken iskemik nekroz oluşabileceği ve şişen dokuyu, sütürün kesebileceği düşünülerek akılda tutulmalıdır (12,59).

Kollajenaz, anastomoz devamlılığı ve sütür taşıma kapasitesi nedeniyle iyileşmenin ilk birkaç gününde önemli rol oynar. Bu protein sütür hattına yakın dokuda olduğu kadar gastrointestinal sistemin her tarafında ayarlanır. Enzimin hücresel kaynağı ve sentezi kontrol eden faktörler tam olarak saptanmamıştır. Bu mekanizmaların anlaşılması iyileşme işleminin manipulasyonunu sağlayabilir (40,53-56,73,74).

Tablo 4. Cilt ve GIS' teki Yara İyileşmesinin Karşılaştırılması:

	GİS	CİLT
Yaradaki ph	Lokal ekzokrin sekresyonlara bağlı değişken.	Sepsis veya lokal infeksiyon dışında sabit.
Mikroorganizmalar	Özellikle kolon ve rektumda aerobik ve anaerobik. Eğer peritoneal kaviteyi kontamine etmişse problem oluşturur.	Ciltteki kommensaller nadiren problem çıkarır. İnfeksiyon genelde ekzojen kontaminasyon ve hematojen yayılım ile olur
Kesilme stresi	İntraluminal kitle anastamozdan geçerken yaptığı peristaltizmle farklı güçler ortaya çıkarır.	İskelet hareketleri sütür hattını rahatsız edebilir. Fakat ağrı genellikle koruyucu mekanizma gibi hareket eder ve aşırı hareketlerden korur.
Doku oksijenizasyonu	Hasarlanmış damar miktarına ve yeni kapiller oluşumuna bağlı.	Oksijen sirkülatuar taşınması kadar difüzyon.
Kollajen sentezi hücre tipi	Fibroblastlar ve düz kas hücreleri	Fibroblastlar
Latirojenler	D-Penisilamin kollajen çapraz bağları arasında hiçbir etkisi yoktur.	Çapraz bağlarda belirgin inhibisyonla birlikte azalmış yara kuvveti
Steroidler	GI iyileşmede negatif etkilerini gösteren zıt kanıtlar ortaya çıktı. Anastamoz hattında artmış abseler anlamlı rol oynayabilir.	Ciltteki yaralanmalarda belirgin rolü yoktur.
Kollajenaz aktivitesi	Transeksiyon ve reanastamozdan sonra varlığını arttırır. Sepsiste ortaya çıkan enzimler dokunun sütür taşıma kapasitesini azaltarak ayrılmayı arttırabilir.	Cilddeki yaralanmalarda belirgin rolü yoktur.
Yara kuvveti	Preoperatif dönemdeki haline çabucak döner.	GI dokudan daha yavaş döner.
Skar oluşumu	Fetal yara yerlerinden belirgin skar oluşur.	Fetüste genellikle skarsız iyileşir.

Tablo 5. Gastrointestinal İyileşmeyi Etkileyen Faktörler:

<u>Lokal Faktörler</u>	<u>Sistemik Faktörler</u>
Yetersiz kan miktarı	Hastanın beslenmesi
Anastomoz gerginliği	Sepsis
Sağlıklı doku kenarları	Hipovolemi
Bakteriyel kontaminasyon	Tedaviler (Steroidler, NSAII, 5-FU)
Distal obstrüksiyon	İmmunkompetans
Radyasyon hasarı	Kan transfüzyonu
Barsak hasarı	Üremi
Hipertermi	Sarılık

Neoadjuvan Radyoterapi:

Radyoterapi, malign ve seçilmiş bazı benign hastalıklarda iyonizan radyasyonun kullanılması ilkesine dayanan bir tedavi yöntemidir. İlk kez 1895’de Roentgen tarafından X-ışınları tarif edilmiştir. 1898’de radyum bulunmuştur. 1899’da RT ile ilk hasta tedavi edilmiştir. 1910’da Ra-226 iğne ve tüpleri ile ilk brakiterapi denemeleri yapılmıştır. 1913 ve 1922 yıllarında 140 ve 200 kV X-ışınları cihazları ile derin dokuların ışınlanması mümkün olmuştur. 1920-1950 yılları arasında radyum ve radon gazı öncelikle jinekolojik tümörlerin tedavisinde kullanılmıştır. 1934’de Coutard tarafından uzun süreli bölünmüş doz tedavisi tanımlanmıştır. 1960-1970 yıllarında Co-60 teleterapi ünitelerinin ve lineer akseleratörlerin yaygın olarak kullanılmaya başlaması ile birlikte kanser tedavisinde tek başına brakiterapi uygulamaları yaygınlaşmıştır. 1980’lerde brakiterapi uygulamalarına, özellikle eksternal RT ile kombine edilerek yeniden başlanmıştır (6).

Radyasyon ve hücre arasında bir dizi moleküler olaylar sonucunda hücre bölünmesi inhibe olur. Radyasyon özellikle bölünen hücrele üzerine letal etkilidir. Radyasyon hücre üzerine doğrudan ve dolaylı yoldan etki eder. Doğrudan etki ile DNA üzerindeki moleküller

zarar görür. Radyasyon ayrıca ortamda bulunan su molekülü ile etkileşime girerek serbest radikaller oluşturur. Dolaylı etki ile, serbest radikaller ortamdaki DNA üzerine etki eder. DNA'nın tek veya çift zincirlerinde kırıklar oluşur (6).

Radyosensitivite, hücrelerin iyonize radyasyona olan yanıtını gösterir. Hücresel yanıt, klonojen hücrelerin başlangıçtaki popülasyonunun %37'sine düşürmek için gerekli olan doz miktarını (Do) tanımlar. Belli bir oranda hücre ölümü için geçerli olan doz ne kadar azsa tümör o kadar radyosensitiftir. Memeli hücreleri en çok mitotik faz ve daha az oranda G2 fazında radyosensitiftir. Radyosensitivite, hücreler G1 ve S fazına ilerledikçe azalır. Geç S fazında minimuma iner. Değişik tümörlerde lokal kontrolü sağlamak için uygulanması gereken doz farklıdır. Tümör letal dozu (TCD95) %95 oranında lokal kontrolü (kür) sağlayan dozdur (6).

Radyasyonun organ fonksiyonu üzerine olan etkileri, hücrelerin çoğalma hızına bağlıdır. Proliferasyon hızı yüksek olan hücreler radyosensitif, düşük olanlar radyorezistandır. Akut radyasyon komplikasyonları deri, gastrointestinal sistem, mesane, vagina mukozası, kemik iliği hücreleri, gonadlar ve ekzokrin bezlerde daha fazla görülür (7).

Kanserde preoperatif RT'nin kullanımı ile ilgili ilk bildiri 1914'de Symonds tarafından Londra'da yapılmıştır. Alt rektum kanserinde radium bromid uygulaması ile lezyonda belirgin bir regresyon gözlenmiş ve üç ay sonra başarılı bir cerrahi rezeksiyon gerçekleştirilmiştir. Bu cesaretlendirici bildiriye rağmen, geçen 45 yılda, 1959 yılında Memorial Hospital for Cancer and Allied Diseases of New York'tan yayınlanan retrospektif çalışmalara kadar preoperatif RT'nin uygulaması ile ilgili birkaç yayın yapılmış bu konuya çok az ilgi duyulmuştur. Bu çalışmada, rektumda ileri evre kanseri olan bir grup hastaya çeşitli dozlarda radyasyon tedavisi uygulanmış ve sadece cerrahi ile tedavi edilen benzer gruptaki hastalar ile karşılaştırılmıştır. Bu retrospektif çalışmanın sonucunda, preoperatif RT alan hastalarda 5 yıllık sağkalım oranlarında belirgin bir artma görülmüştür (75).

Kolon ve rektum kanserinde tama yakın rezeksiyon yapılmasına rağmen, birçok hastada primer kanserin eksize edildiği alanlarda ve uzak organlarda rekürrens görülmektedir. Radyasyon tedavisi; tek başına veya kemoterapi ile kombine şekilde, rekürrens riskini azaltmak için cerrahiye adjuvan tedavi olarak kullanılmaktadır (76).

Randomize çalışmalar; Evre II ve III rektal kanserlerde, radyasyon tedavisinin genellikle pelvik rekürrens riskini azalttığını fakat sağkalım oranlarında ve ekstrapelvik metastaz üzerinde önemli bir etkilerinin olmadığını göstermiştir. Yeni çalışmalar radyasyon ve kemoterapinin kombine kullanımının hastalısız sağkalım ve sağkalım oranlarını arttırdığını göstermektedir. Bu tedavi yöntemi, bir çok çalışmada orta dereceli bir toksisite yaratmıştır. Lokal eksizyondan sonra yapılan ışınlamanın pelvik rekürrens riskini azalttığı ve anorektal fonksiyonun korunmasını sağladığını göstermektedir (77).

Bir başka çalışmada; Evre II ve III rektal kanserlerde, KT ve RT kombinasyonunun tek başına RT'ye göre lokal rekürrensi azaltmada ve sağkalım oranlarını arttırmada daha etkili olduğu görüldü (7).

Rezeksiyon sonrası kolon ve rektum kanserlerinde nüks %24 oranında bildirilmiştir (6). Bu nükslerin tedavisi oldukça zordur ve genellikle palyatif tedavi ile sonuçlanır. Reoperasyon serilerinde rekürrensin en fazla saptandığı alanın primer tümörün rezeke edildiği alan olduğu görülmüştür (76).

Adjuvan RT'nin amacı cerrahi işlem sırasında çıkarılmayan kanser hücrelerinin büyümesini önlemekse, preoperatif RT'nin amacı bu hücrelerin proliferasyonunu önleyerek lokal olarak sınırlamak ve pelvis dışına yayılmalarını engellemektir.

Rektum kanseri tedavisinde preoperatif radyoterapinin yeri üzerine yapılan çalışmalar

Preoperatif RT'yi tek başına cerrahi ile karşılaştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. 1987 ile 1990 yılları arasında yürütülen İsveç Rektum Kanseri çalışmasında kısa süreli preoperatif RT ile toplam sağkalımda avantaj elde edildiği gösterildi. Bu çalışmada Evre I, II ve III hastalar ile üst orta ve alt rektum yerleşimli tümörü olanlar dahil edildi. Beş yıllık izlem sonucunda preoperatif RT alan hastalarda lokal nüks %11, yalnızca cerrahi yapılan grupta %27 bulundu sağ kalım ise yine sırasıyla % 58'e karşı % 48 olarak daha anlamlı idi. 2005 yılında 13 yıllık sonuçları da açıklanan çalışmanın lokal nüks ve sağkalım üzerine sağlanan avantajların devam ettiği izlendi (77).

14 çalışmanın dahil edildiği bir metaanalizde ise yalnız başına cerrahi ile preoperatif RT ve cerrahi kombinasyonu karşılaştırıldığında lokal kontrol ve sağkalım preoperatif RT ve cerrahi kolunda önemli derecede artmış olarak bulunmuştur. (2)

2007 yılında yayınlanan bir Cochrane sistematik analizinde rezektabl rektum kanserinde 19 çalışmanın preoperatif KRT ile yalnızca cerrahi sonuçları karşılaştırıldığında preoperatif KRT ile genel mortalitede sınırlı, lokal nükste ise anlamlı iyileşme olduğu saptandı. Preoperatif RT alan ve almayan hastalar karşılaştırıldığında preoperatif RT'nin lokal nüksü azaltmada etkin olduğu gösterilmiştir (78).

Hollanda çalışması

Bu randomize çalışma sadece TME ile karşılaştırıldığında preoperatif kısa dönem RT'nin lokal nüksü belirgin şekilde azalttığını (%2,4'e karşı % 8.2) fakat genel sağkalımı değiştirmediğini göstermiştir. Beş yıllık uzun dönem sonuçlarında yayınlanan çalışmanın lokal nüks oranı preoperatif RT ve TME yapılan grupta % 5,6 ya karşın %10,9 olarak anlamlı sonucun devam ettiği fakat genel sağkalım sonuçlarında ise % 64,2 ye karşın % 63,5 olarak fark olmadığı belirtildi (79).

İngiltere (MRC CR07) Çalışması:

Bu çalışma, preoperatif RT'nin lokal kontrol üzerinde tüm evrelerde ve tüm tümör yerleşim yerlerinde (üst/orta/alt rektum) olumlu etkisi yaptığını göstermiştir. Preoperatif RT'nin TME kalitesi nasıl olursa olsun (iyi/orta/kötü) tüm hastalarda lokal nüksü azalttığı sonucuna ulaşıldı. Daha ötesi preoperatif RT alan hastalarda total mezorektal eksizyon (TME) tekniği mükemmel uygulandığında lokal nüks 3 yıllık izlemde %1 olarak bulunmuştur ((80)).

EORTC Çalışması:

Bu randomize faz 3 çalışma, preoperatif veya postoperatif olarak verilen kombine KRT'nin, genel sağ kalım üzerine etkisinin gösterilmemesine rağmen, belirgin olarak lokal nüks oranlarını düşürüp patolojik tümör yanıtı oranlarını arttırdığını gösterdi. Lokal nüks preoperatif KRT alan grupta %8,8, postoperatif KT alan grupta %9,6, hem preoperatif KRT hem de postoperatif KT alan grupta %8, postoperatif KT almayan grupta %17.1 olarak saptandı. 5,4 yıllık ortanca izlem süresince genel sağkalım ve hastaliksız sağ kalımda anlamlı fark izlenmedi (81).

Fransa (FFCD) Çalışması:

Bu randomize çalışma preoperatif KRT'nin preoperatif RT ile karşılaştırıldığında patolojik tümör yanıtını arttırıp (% 12'ye karşı % 4) lokal nüks oranını azalttığını (% 8'e karşı % 16,5), fakat genel sağ kalım ve hastaliksız sağ kalımı arttırmadığını göstermiştir (82).

Tüm bu çalışmalardan çıkan sonuç şöyle özetlenebilir: Neoadjuvan RT'ye eş zamanlı KT eklenmesiyle patolojik tam yanıt oranı artmakta ve lokal nüks azalmakta, ancak sfinkter koruyucu cerrahi ve sağ kalım üzerinde bir avantaj oluşup oluşmadığı hala belirsiz kalmaktadır.

Preoperatif Radyoterapinin Temel Gerekçeleri:

1- Rezeksiyondan sonra geride kalan kanser hücrelerinden ekstrapelvik metastaz ve pelvik nüks riskinin azaltılması.

2- Primer tümör boyutu ve yüzeysel lenf nodu metastazlarını rezeksiyondan önce azaltılması.

3- Geç radyasyon enteriti olasılığını azaltmak. (İnce barsaklar postoperatif daha çok oranda pelvise yapışırlar.)

4- Yakın zamanda cerrahi geçirmiş dokulardaki hipoksik hücrelere göre, normal oksijenize kanser hücrelerinin radyoterapiden daha iyi etkilenecek olması.

5- Cerrahi sırasında olası tümör ekiminin önlenmesi.

6- Postoperatif radyoterapi uygulamasına bağlı gelişebilecek komplikasyonlarının önlenmesi (76).

Preoperatif Radyoterapinin Dezavantajları:

1- Cerrahi girişim sonrası yüksek riskli olduğu düşünülen alanlara ek doz radyasyon uygulanmasına olanak vermez.

2- Primer tedavisi cerrahi olan olgularda tedavi gecikir.

3- Özellikle yara iyileşmesine bağlı postoperatif komplikasyonların görülme sıklığı artar.

4- Planlanan cerrahi girişim nedeni ile uygulanacak toplam radyasyon dozu sınırlıdır.

5- Patolojik incelemede "downstaging" nedeni ile diğer adjuvan tedavilerin seçimi etkilenir (7,75,76,83-89).

Preoperatif RT'de en uygun radyasyon dozu, günlük 2 Gy'lik fraksiyonlarla toplam 45-50 Gy veya eşdeğeri (76). Cerrahi komplikasyonların en aza indirilebilmesi için operasyon RT'den en az bir ay sonra uygulanmalıdır. Kısa süreli ve fraksiyon başına yüksek radyasyon dozu uygulanan vakalarda cerrahi girişim RT bitiminden bir yada iki hafta sonra yapılabilir.

Yapılan çalışmalarda ameliyat öncesi RT ve cerrahi tedavi uygulanan hastalarda lokal nüks %17, sadece cerrahi uygulanan hastalarda lokal nükslerin %24 civarında gözlendiği bildirilmiştir. Buna karşılık her iki grupta sağkalım süreleri aynı bulunmuştur (%50). Yine sadece cerrahi uygulanan hastalarda peroperatuar mortalite, kardiyak ve trombotik komplikasyonlar daha az görülmüştür (%3). Önerilen preoperatif RT dozu 4-6 hafta süre ile toplam 4500-4600 Gy dir (6).

Gastrointestinal ve jinekolojik maligniteler için giderek artan oranda perioperatif radyasyon tedavisinin kullanılması dokunun canlılığı ve iyileşme kapasitesini yitirmesine neden olur. Radyasyon tedavisi tümör hücrelerini yok etmekle beraber sağlıklı dokuda bazı istenmeyen akut ve kronik etkilere yol açar.

Preoperatif radyasyon tedavisinin ardından oluşan uzun dönem komplikasyonları arasında en önemlisi fibrotik değişiklikler ve gecikmiş yara iyileşmesidir. Persistan diyare, sık idrara çıkma, rektal kanama, üreteral striktürler, perineal yara iyileşmesinde gecikme, üriner fistül bildirilmiş diğer komplikasyonlardır (90).

Pelvik RT sırasında veya bundan kısa bir zaman sonra diyare ve genel düşkünlük genellikle görülen rahatsızlıklardır. Bu akut semptomlar genellikle geçicidir, fakat bazen yerlerini kronik intestinal hasar semptomlarına bırakabilirler (91).

Radyasyonun kalın barsak komplikasyonları; proktokolit, kolon veya rektumda darlık, anal darlık, rektal ülser, spontan nekroz ve fistüller olarak özetlenebilir (92).

Radyasyonun ince barsak komplikasyonları; darlıklar, malabsorbsiyon sendromu, spontan nekroz, fistüller.ve gecikmiş yara iyileşmesi olarak sayılabilir (91).

Calame ve Wallach (1967) ve De Cosse ve arkadaşları (1969), kronik intestinal komplikasyonlar gelişmesinin sebebini vasküler tıkanmaya bağlamışlardır. Bu serilerde; spesmenlerin histolojik incelemelerinde, vasküler sklerozis görüldü ve ayrıca iskemik kolitte olduğu gibi submukozada yoğun bir fibröz doku birikimi saptandı (91).

Birçok hayvan çalışmasında preoperatif RT'nin anastomoz üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Klinikte uygulanan senaryoya yakın bir modelde, kolorektal anastomozda anastomoz komplikasyonuna yol açacak seromüsküler kan akımında erken dönemde azalma bildirilmiştir. Bu, radyasyon tedavisinden sonraki 4 haftada görülmüş ve tedaviden sonra 4 ay devam etmiştir. Ayrıca, Milson ve arkadaşları kolorektal anastomozlarında preoperatif radyasyonun deneysel modeldeki anastomoz tekniği ile bağlantılı olmayacak şekilde seromüsküler kan akımında erken ve sürekli olarak belirgin bir azalma saptamışlardır. Azalmış kan akımı ayrıca anastomoz tamirine ters etki yapar ve anastomoz komplikasyonlarını arttırır (92).

Radyasyonla hasarlanmış bir barsakta çalışan cerrahın normal dokuya göre daha yüksek oranda anastomoz komplikasyonu oluşum riskini gözönüne alması gereklidir.

Amniyotik Membran

Amniyon zarı, plasentayı oluşturan üç yavru zarından en içte bulunanıdır. Tek katlı epitelden oluşan parlak ve yapışmayan dış yüzey, kalın kollajen iplikler içeren bazal membran ile mat, pürüklü ve yapışkan avasküler stromal matriksten oluşan iç yüzey olmak üzere üç katmandan oluşur (32,93-95).

Bünyesinde bir çok büyüme faktörünü Epidermal growth faktör (EGF), keratocyte growth faktör (KGF), hepatocyte growth faktör (HGF), transforming growth faktör (TGF), steroid hormonları (östrojen, progesteron), hidrolitik enzimleri, oksidasyon-redüksiyon enzimleri, sekonder enzimleri ve daha bir çok faktörü bulundurur (Tablo 6) (32, 93-97).

Amniyotik membranın biyolojik etki mekanizmaları

Amniyotik membran'ın etki mekanizmaları; epitelizasyon için uygun yeni bir substrat olarak görev yapması, epitelyal hücre göçünü hızlandırması, bazal epitelyal hücrelerin yapışmasını pekiştirmesi, epitelyal farklılaşmayı teşvik etmesi, epitelyal apoptozisi önlemesi, doku metalloproteinaz inhibitörleri salgılayıp doku tahribatını engellemesi, fibroblastik aktiviteyi artırıp kollajen sentezine katkıda bulunması ve yapısında bulunan bir çok büyüme faktörü ve bazı enzimler sayesinde yara iyileşmesini hızlandırmak olarak sıralanabilir (32,94,96,98,99).

Uygulandığı bölgede yara zeminini kitle olarak doldurarak yara yüzeyinden protein ve sıvı kaybını önler. Yine açık olan sinir uçlarını kapatarak ağrıyı azaltır. Non-allerjik ve non-immünolojik özelliği sayesinde greft atılımı söz konusu olmamaktadır. Ayrıca orta şiddetteki defektlerde yara kontraktürünü azaltıcı etkiye sahiptir (94,96,99).

Birçok araştırmacı amniyotik membranın zamanla uygulandığı bölgedeki dokunun özelliğini aldığını, bu nedenle yeni bir cerrahi işleme gerek olmayacağını bildirmektedir (32,94,97,100,101).

Amniyotik membran, mat ve pürüklü iç yüzeyi yapışkan özellikte olması nedeniyle uygulandığı bölgeye iyi uyum sağlar. Ayrıca parlak ve yapışmayan dış yüzeyinin ise dokular arasında biyolojik bir bariyer görevi yaparak adezyon oluşumunu engellediği bildirilmektedir (102-104).

Tablo 6. Amniyotik Membranın İÇerdiği Biyolojik Maddeler

Human korionik gonadotropin(HCG),

Equine gonadotrophic hormon (eCG)

Tireotropik hormon

Transforming growth factor (TGF β 1-2-3)

Basic fibroblast growth factor (bFGF)

Epidermal growth factor (EGF)

Transforming growth factor- α (TGF- α)

Keratocyte growth factor (KGF)

Hepatocyte growth factor (HGF)

Brain natriuretic peptide (BNP)

Nerve growth factor (NGF)

Growth factor mRNA (GFmRNA)

Steroid hormonlar (Östrojen, Progesteron)

Hidrolitik enzimler

Oksidasyon ve redüksiyon enzimleri

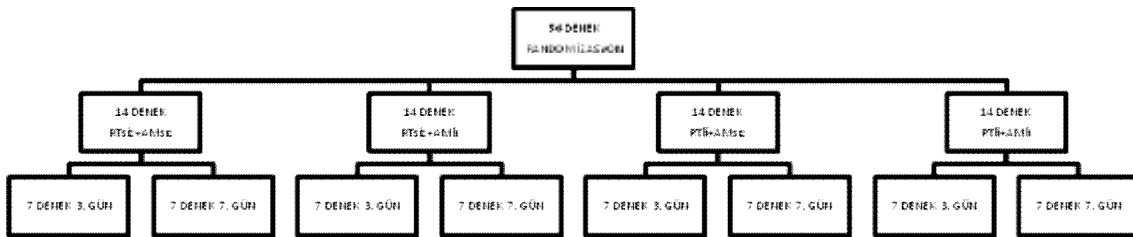
Sekonder enzimler

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışmada ortalama ağırlığı 236 gr olan (207-278 gr) 56 adet wistar albino cinsi sıçan kullanıldı. Çalışma başında denekler çalışmacıların bilgisi olmadan 8 adet gruba rastgele dağıtıldı. Bu randomize kontrollü deneysel çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni alındıktan sonra (Tarih 08.07.2011 Sayı: 38/2011), Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı ve ONKOMER Özel Onkoloji Dal Merkezi'nde gerçekleştirildi. Bütün sıçanlar deney süresince standart laboratuvar yemi ve damıtık su ile beslendi. deney süresince metabolik kafeslerde her kafeste 5 sıçan olacak şekilde standart laboratuvar koşullarında (gece/gündüz= 12/12 saat, sıcaklık 21 ± 2 °C, nem oranı %50) yaşatıldı.

Sıçanlar Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında temiz ancak non-steril koşullarda ameliyat edildi. Sıçanlarda anestezi intramusküler (İM) 50 mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer) karışımı ile sağlandı. Laparotomiler orta hat kesisi ile gerçekleştirildi. Dokulardan ısı kaybını azaltmak için barsaklar sıcak, steril serum fizyolojik ile ıslatılmış petler ile örtüldü. Deneklerin vücut sıcaklıklarını 37°C da tutmak için masa lambası kullanıldı. Ayrıca ameliyat sonrası dehidratasyonu önlemek için ameliyat bitiminde tüm deneklere 5 mL Ringer Laktat subkutan yolla verildi.

Şekil 1. Randomizasyon Sonrası Gruplara Ayrılma Şeması



I.grup: Radyoterapi almamış rezeksiyon-anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanmayan (RT'siz+AM'sız, kontrol grubu).

II.grup: Radyoterapi almamış rezeksiyon- anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanan (RT'siz+AM'lı).

III.grup: Radyoterapi almış rezeksiyon- anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanmayan (RT'li+ AM'sız).

IV. grup: Radyoterapi almış rezeksiyon- anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanan (RT'li+AM'lı).

Işınlama Tekniği:

III. ve IV. gruplarda yer alan sıçanlara operasyondan 8 ve 4 gün önce iki kez RT uygulandı. Işınlama sırasında sıçanlarda genel anestezi intramusküler (İM) 50 mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun®, Bayer) karışımı ile sağlandı. Genel anestezi altında sıçanlar beşerli gruplar halinde “styrofoam” zemin üzerine yerleştirildi. Pilot çalışma olarak, ilk 6 sıçana sulandırılmış baryum lavmanı yapılarak simülatörde (Somatom Emotion Bilgisayarlı Tomografi Simulatör, Siemens-Almanya) hedef bölgeler, 5x5 cm'lik pelvik alanlar olarak tespit edildi. Sıçanlar styrofoam zemin üzerinde beşerli gruplar halinde 5x35 cm alan içine yerleştirilerek ışınlama gerçekleştirildi. Işınlama Co-60 telaterapi aygıtında (Theratron 780 E-Canada), Source-Axis Distance (SAD) 80 cm olacak şekilde, izosentrik olarak yapıldı. Doz oranı 112,35 cGy/dk idi. Her bir sıçana ışınlamanın her gününde 10 Gy olmak üzere toplam 20 Gy doz uygulandı.

Resim 1. Işınlama alanlarının simülatörde tespit edilmesi.



Resim 2. Işınlama esnasında sıçanların yerleşimi



Resim 3. Işınlama alanlarının görünümü

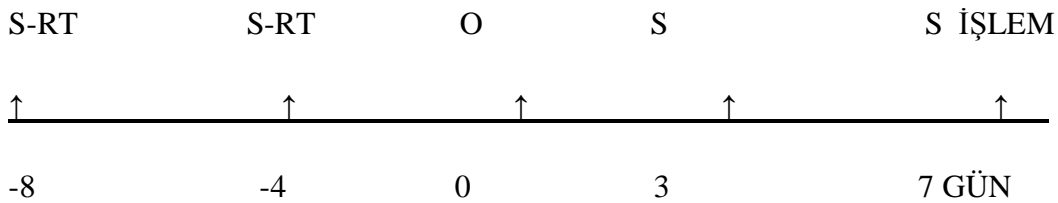


Amniyotik Membran

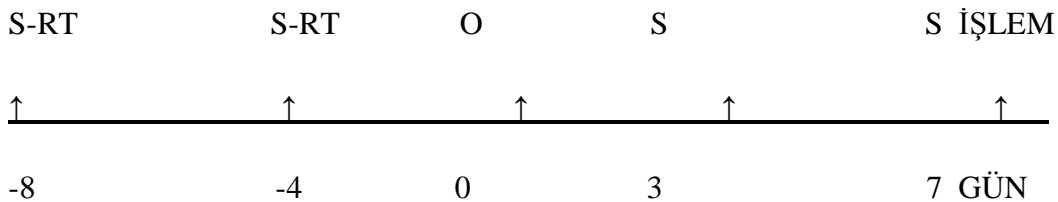
Amniyotik membran enfeksiyon kontrolü yapılmış (HIV, HBSAg, HCV, Sifiliz için) ve erken membran rüptürü, endometrit ve mekonyum bulaşı olmamış gönüllü gebelerden sezeryan ile canlı doğum sonrası elde edildi. Plasenta steril şartlar altında +4°C de laboratuara taşındı. Laboratuarda amniyon ve koryon künt diseksiyonla ayrıldıktan sonra salin ve %0.025'lik sodyum hipoklorit solüsyonu ile yaklaşık 10 dakika durulandı. Daha sonra litresinde 2 milyon İÜ penisilin ve 2 gr streptomisin salin solüsyonda 12-24 saat bekletilerek kullanıma hazır hale getirildi. Amniyotik membran +4°C da bekletildi. Bu koşullarda 1 hafta boyunca saklanabilecek amniyotik membran eğer daha uzun süreli saklaması gerekirse % 20 gliserin solüsyonda dondurularak saklanması planlandı. (104). Doğal rengini kaybeden amniyotik membranlar kullanım dışı kabul edildi.

GRUPLARDA ÇALIŞMA PLANI

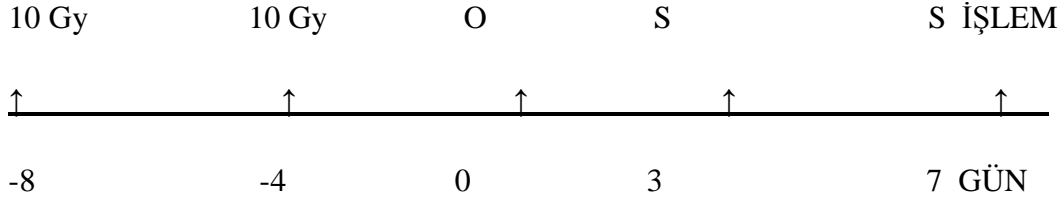
I. GRUP: Radyoterapi almamış rezeksiyon-anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanmayan (RT'siz+AM'sız, Kontrol grubu)



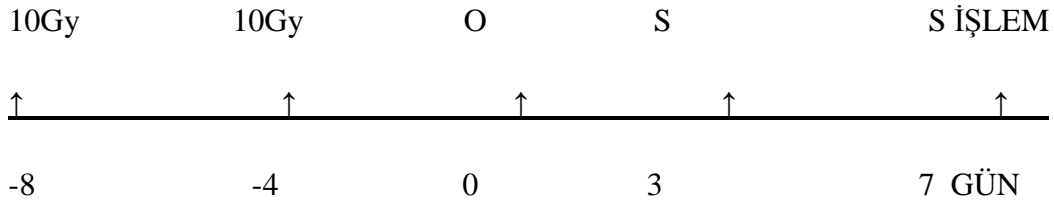
II. GRUP Radyoterapi almamış rezeksiyon- anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanan (RT'siz+AM'lı)



III. GRUP Radyoterapi almış rezeksiyon-anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanmayan (RT'li+ AM'sız)



IV. GRUP Radyoterapi almış rezeksiyon- anastomoz sonrası amniyotik membran uygulanan (RT'li+AM'lı)

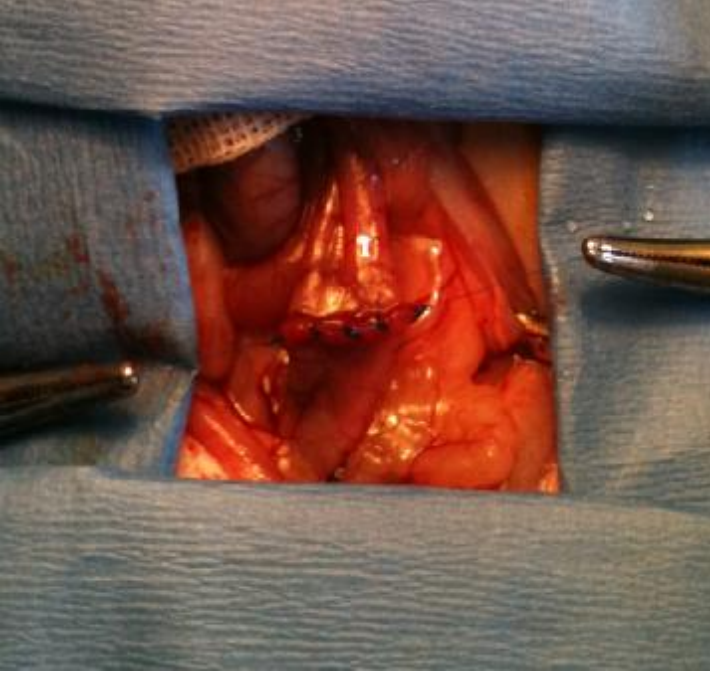


Kısaltmalar: S-RT; Sham Radyoterapi, O; Operasyon, S; Sakrifikasyon

Operatif Teknik:

Işınlamanın (veya sham ışınlamanın) bitmesinden 4 gün sonra bütün sıçanlara genel anestezi altında laparotomi uygulandı. Cilt traş edildikten sonra ameliyat sahası %10 povidone iodine solüsyonu ile hazırlandı. Orta hattan 3 cm'lik cilt insizyonu yapıldı. Linea alba ve periton açılıp karın boşluğuna girildi. Peritoneal refleksiyonun 2-3 cm üzerinden 1 cm'lik kolon rezeksiyonu yapıldı. Barsak devamlılığı invert edici 10-11 suturele (6/0 monofilaman poliprolen, Ethicon, İngiltere) ucuca anastomoz şeklinde sağlandı (Resim 4). Anastomoz hattına amniyotik membran uygulanan deneklerde amniyotik membran anastomoz hattını 10 mm eninde örtecek şekilde 6/0 monofilaman suturele 6 adet suturele tespit edildi.(Resim 5,6). Abdominal kas tabakası ve cilt devamlı suturele ile ayrı ayrı kapatıldı. Gruplardaki tüm ratların yarısı 3. günde, diğer yarısı da 7. günde analitik işlemler için genel anestezi altında reopere edildi ve invivo değerlendirme sonrası hemoraji ile sakrifiye edildi.

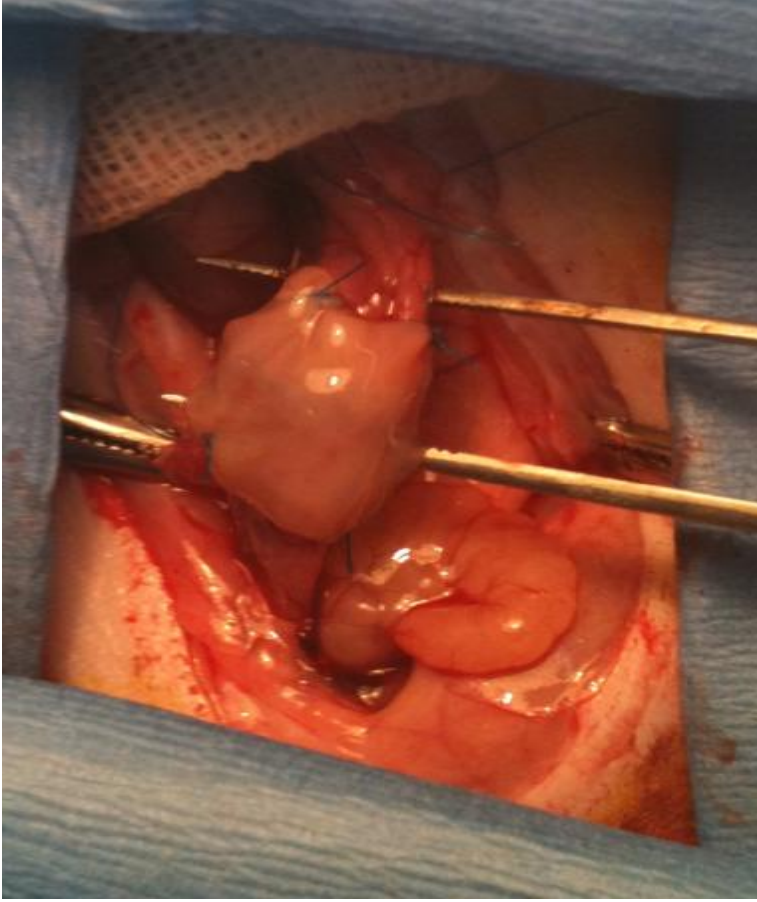
Resim 4. Barsak anastomozunu tamamlanmış hali.



Resim 5. Anastomoz hattı üzerine örtülen amniyotik membran.



Resim 6. Amniyotik membran ile sarılmış anastomoz hattı görünümü.



Analitik İşlemler:

Tüm denekler, ilk ışınlamanın (veya sham ışınlamanın) yapıldığı; operasyondan 8 gün önce, ikinci ışınlamanın yapıldığı; operasyondan 4 gün önce, operasyon gününde ve analitik işlemlerin yapıldığı sakrifikasyon gününde tartılarak ağırlıkları kaydedildi.

Yara komplikasyonları (enfeksiyon ve yara ayrılması), intestinal obstrüksiyon ve anastomoz komplikasyonları (makroskopik abse varlığı, anastomoz ayrılması ve anastomoz darlığı) kaydedildi. Ayrıca intraperitoneal adezyonlar Knightly ve arkadaşlarının derecelendirme sistemine göre sınıflandırıldı (3). Buna göre yapışıklıklar:

Grade 0 : Hiç yapışıklık yok.

Grade I : Tek, ince kolayca ayrılabilen yapışıklık.

Grade II : Daha yaygın fakat traksiyonla kolayca ayrılabilen yapışıklık.

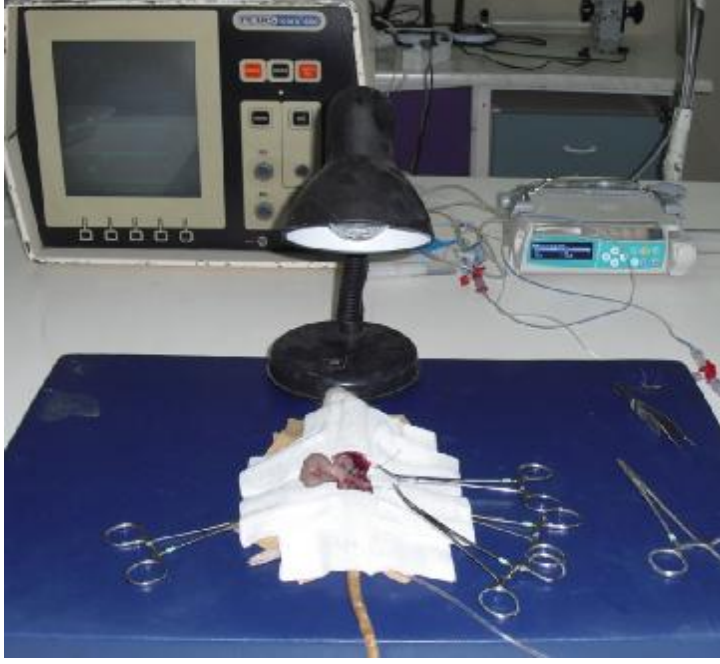
Grade III : Yaygın, parietal uzanımları olan visseral yapışıklıklar.

Grade IV: Komşu mezenter, barsak, omentum ve abdominal duvara uzanan yoğun ve yaygın yapışıklıklar olarak sınıflandırıldı.

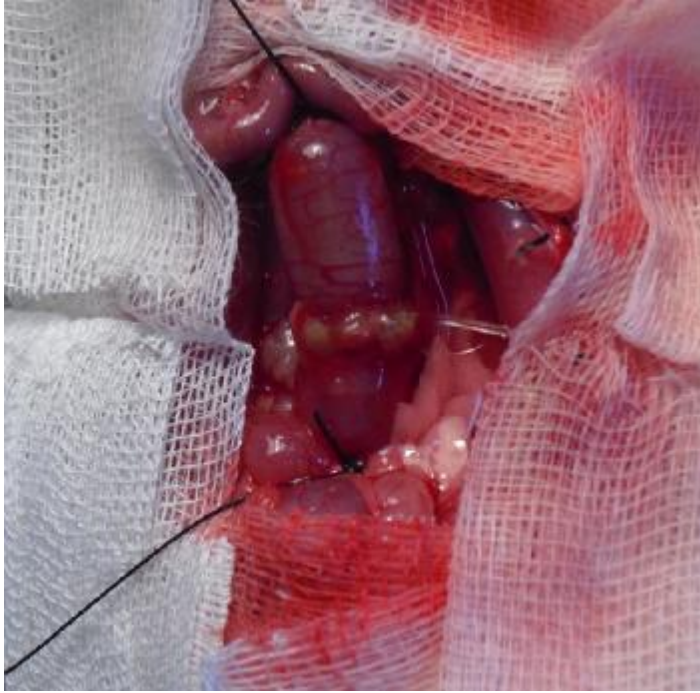
Anastomoz darlığı, anastomozun proksimal ve distalindeki barsak genişliği oranının 2'den büyük olduğu durum olarak tanımlandı.

Anastomoz sağlamlığı her bir anastomozun patlama basınçlarının ölçülmesiyle araştırıldı. Anastomoz patlama basınçlarını ölçmek için 5 ml/dk'lık infüzyon hızı ile çalışan bir sıvı pompası (Braun, fm-Almanya) ve bir basınç transdüseri (Abbot, Monitoring Kit, Transpac II, Abbot Ireland Ltd, Sligo, İrlanda Cumhuriyeti) kullanıldı. Basınçlar mmHg cinsinden bir monitör (PETAŞ KMA 450, Ankara, Türkiye) aracılığı ile kaydedildi (Resim 7). Her bir sıçanın anüsünden yerleştirilen bir katater anastomoz hattının 2 cm altından bağlanarak tespit edildi. Aynı şekilde anastomoz hattının 2 cm üzeri de bağlandı (Resim 8). Bu işlemler esnasında anastomoza ve varsa anastomoz etrafındaki yapışıklıklara herhangi bir zarar verilmemesine özen gösterildi. Patlama basınçları ve patlamanın yeri insitu olarak ölçüldü. İşlem sırasında basınç değişimleri ve ani basınç kaybı monitörden izlendi ve aynı zamanda bir mercek aracılığı ile patlama yeri saptandı. Patlamaya yol açan değer ve barsağın patlama yeri kaydedildi (Resim 9). Her bir sıçanın anüsünden yerleştirilen bir katater anastomoz hattının 2 cm altından bağlanarak tespit edildi. Aynı şekilde anastomoz hattının 2 cm üzeri de bağlandı Daha sonra anastomoz segmenti etrafındaki dokulardan izole edildi ve invitro analitik işlemler için rezeke edildi. Denekler bu işlemi takiben hemoraji ile sakrifiye edildi.

Resim 7. Anastomoz patlama basıncı ölçümü için kullanılan düzenek.



Resim 8. Patlama basıncı ölçümü sonu, anastomoz hattından patlama.



Resim 9. Anastomoz patlama basıncının monitörden izlenmesi.



İnvitro analitik işlemler için rezeke edilen anastomoz segmenti %10'luk formaldehid ile tespit edildi. Yapılan standard işlemlerden sonra anastomoz hattı parafin blok haline getirildi. 3-5 μ m parafin seri kesitleri rutin hemotoksilen-eosin ile boyandı. Roy van Zuidewegen ve arkadaşlarının tanımladığı histolojik skorlama, deneyimli bir patolog tarafından iki kez yapıldı. Buna göre: cerrahi tekniği kontrol etmek üzere yara kenarlarının a) mukoza b) muskularis mukoza tabakalarının karşı karşıya gelip gelmediği; iyi, orta, kötü olarak değerlendirildi. Yaranın iyileşmesinin değerlendirilmesi için c) mukozanın repitelizasyonu d) muskularis propriyanın rejenerasyonuna bakıldı. Epitelizasyon yedi dereceli bir skorla değerlendirilirken, muskularis propriyanın rejenerasyonu pozitif veya negatif olarak değerlendirildi. Ayrıca e) nekroz f) inflamatuvar eksuda g) granülasyon dokusu h) granülosit miktarı ı) makrofaj miktarı j) fibroblast miktarı diğer histopatolojik iyileşme özellikleri olarak değerlendirildi. Bu histopatolojik parametreler 4 puanlık skorlama üzerinden 0: negatif 1: düşük 2: ılımlı 3: yüksek olarak sınıflandırıldı. Sütür materyalinin varlığı (k) skorlama şemasında pozitif veya negatif olarak göz önüne alındı (105).

İstatiksel Metodlar:

İstatistik analizleri bilgisayarda SPSS Data Editor For Windows Version 15.0 ile yapıldı.

Radyoterapi alan ve almayan gruplarda ağırlık değişimleri ve patlama basınçlarının anlamlı olarak farklı olup olmadığı Mann Whitney U Analizi ile değerlendirildi. Amniyotik membran uygulanan ve uygulanmayan grupların patlama basınçları arasında anlamlı fark olup olmadığı da aynı analizle değerlendirildi.

Radyoterapi alan grubun ağırlık değişimleri arasında anlamlı fark olup olmadığı Friedman Varyans Analizi ile çözümlendi. Aynı çözümleme RT almayan grup için de yapıldı. Bu analiz sonucunda anlamlı fark elde edildi ise farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni Düzeltmeli Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi yapıldı.

Dört grup (RT'siz+AM'sız, RT'siz+AM'lı, RT'li+AM'sız, RT'li+AM'lı) arasında patlama basınçları açısından anlamlı fark olup olmadığını belirlemek için Kruskal Wallis Varyans Analizi yapıldı. Gruplar arasında anlamlı fark bulunduysa farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Analizi uygulandı. Aynı gruplar arasında yara enfeksiyonu, intraabdominal yapışıklık, barsak obstrüksiyonu, anastamoz darlığı, anastamoz ayrılması açısından anlamlı fark olup olmadığına Çok Gözlü Düzenlerde Ki Kare analizi ile bakıldı.

Radyoterapi alan-almayan ya da AM uygulanan-uygulanmayan gruplar arasında patlama yeri açısından anlamlı fark olup olmadığı Ki Kare Analizi ile değerlendirildi.

Dört grup (RT'siz+AM'sız, RT'siz+AM'lı, RT'li+AM'sız, RT'li+AM'lı) arasında histopatolojik değerlendirme açısından anlamlı fark olup olmadığını belirlemek için Kruskal Wallis Varyans Analizi yapıldı. Gruplar arasında anlamlı fark bulunduysa farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U Analizi uygulandı

Yukarıda belirtilen tüm analizler 3. gün ve 7. gün için ayrı ayrı yapıldı.

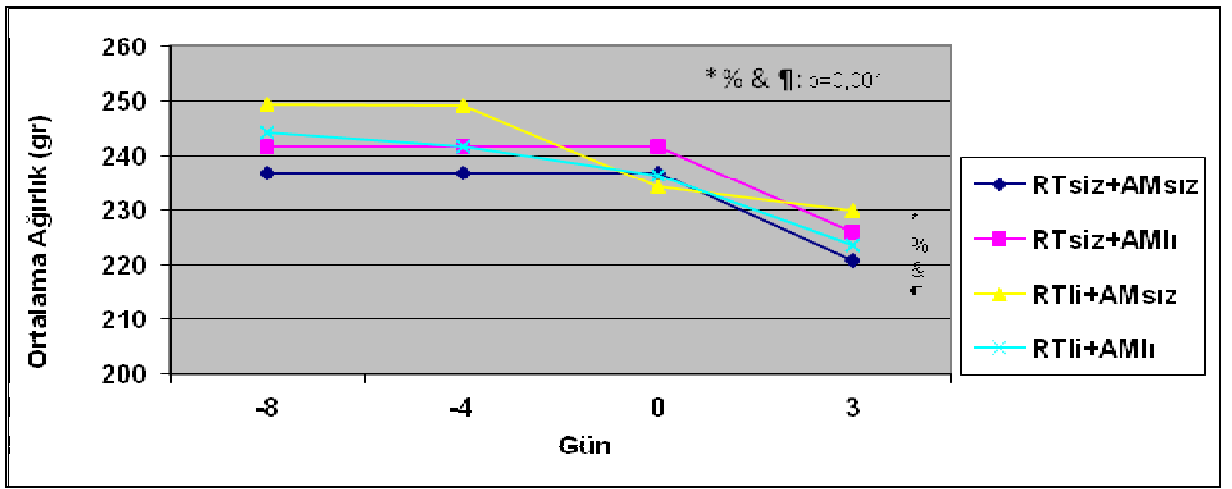
Analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

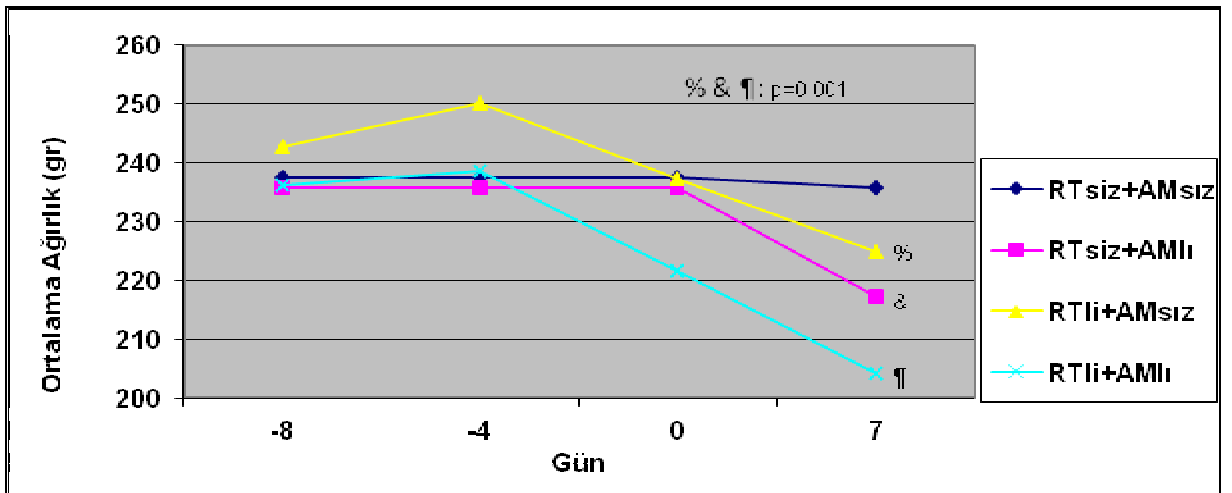
Mortalite: Bu çalışmadaki hiçbir grupta mortalite ile karşılaşılmadı

Vücut ağırlığı: Üçüncü ve yedinci gün opere olan gruplara bakıldığında RT uygulanmayan grupta ilk operasyon sonrası anlamlı oranda ağırlık kaybı izlendi ($p=0,001$). Radyoterapi alan gruplarda ise ikinci RT sonrası başlayan ve sakrifikasyona kadar devam eden istatistiksel olarak anlamlı kilo kaybı görüldü ($p=0,001$). (Şekil 2 ve şekil 3)

Şekil 2. Üçüncü gün gruplarının ağırlık değişimi.



Şekil 3. Yedinci gün gruplarının ağırlık değişimi.



Yara enfeksiyonu ve ayrılması: Üçüncü gün gruplarından sadece RT'siz+AMlI grupta 1 (%14,3) denekte yara enfeksiyonuna rastlandı, gruplar arası istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p=0.375$). Sadece RT'siz+AMsız grupta 1 denekte yara ayrılması izlendi, gruplar arası istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p=0,375$).

Yedinci gün gruplarında ise RT'siz+AMlI grupta 1 (%14.3), RT'li+AMsız grupta 2 (%28,6), ve RT'li+AMlI grupta 2 (%28.6)yara enfeksiyonu ile karşılaşıldı ($p=0.444$). Hiçbir grupta yara ayrılması izlenmedi.

Barsak obstrüksiyonu: Üçüncü gün RT'siz+AMlI grupta 1 (%14,3), RT'li+AMsız grupta 1 (%14,3), RT'li+AMlI grupta 1 (%14,3) denekte barsak obstrüksiyonu vardı ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p= 0.772$).

Yedinci gün gruplarında ise RT'siz+AMlI grupta 1 (%14,3),RT'li+AMlI grupta 1 (%14,3) denekte barsak obstrüksiyonu vardı ancak istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi($p=0.541$)

Üçüncü ve yedinci günlerde işlemi sonlandırılan hiçbir denekte anastomoz darlığı, anastomoz ayrılması ve abdominal sepsis izlenmedi.

Tablo 7 ve 8 de takip edilen komplikasyonlar belirtilmiştir.

Tablo 7. Üçüncü gün deneklerinde komplikasyonlar (AD: Anlamli değil).

	RT'siz+AM'siz	RT'siz+AM'li	RT'li+AM'siz	RT'li+AM'li	p
Denek sayısı	7	7	7	7	
Yara enfeksiyonu	-	1	-	-	AD
Yara ayrılması	1	-	-	-	AD
Adezyon skoru (ortalama)	1,71±0,28(2)	1±0(0)	1,42±0,29(1)	1±0(1)	0,012
Barsak obstrüksiyonu	-	1	1	1	AD
Anastomoz darlığı	-	-	-	-	AD
Anastomoz ayrılması	-	-	-	-	AD
Abdominal sepsis	-	-	-	-	AD
Mortalite	-	-	-	-	AD

Tablo 8. Yedinci gün deneklerinde komplikasyonlar (AD: Anlamli değil).

	RT'siz+AM'siz	RT'siz+AM'li	RT'li+AM'siz	RT'li+AM'li	p
Denek sayısı	7	7	7	7	
Yara enfeksiyonu	-	1	2	2	AD
Yara ayrılması	-	-	-	-	AD
Adezyon skoru (ortalama)	1,57±0,53(2)	1±0(1)	2,28±0,75(2)	2,28±0,48(2)	AD
Barsak obstrüksiyonu	-	1	-	1	AD
Anastomoz darlığı	-	-	-	-	AD
Anastomoz ayrılması	-	-	-	-	AD
Abdominal sepsis	-	-	-	-	AD
Mortalite	-	-	-	-	AD

Adezyon skoru: Üçüncü ve yedinci gün işlemi sonlandırılan gruplarda AM uygulanıp uygulanmamasına göre değerlendirildiğinde üçüncü gün gruplarında AM uygulanan gruplarda adezyon daha az ve istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,012$). Yedinci gün gruplarında ise AM uygulamasına göre farklılık izlenmedi ($p=0,306$).

Anastomoz patlama basıncı: Üçüncü gün gruplarda sırası ile ortalama anastomoz patlama basınçları RT'siz+AM'siz 68 ± 31 , RT'siz+AM'lı 124 ± 26 , RT'li+AM'siz 75 ± 29 , RT'li+AM'lı 147 ± 16 mmHg olarak bulundu ve sonuç istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi ($p=0,001$).

Radyoterapi almamış 3. gün grupları incelendiğinde radyoterapisiz amniyotik membran uygulanmamış ve uygulanmış gruplarda (RT'siz+AM'siz ve RT'siz+AM'lı) ortalama anastomoz patlama basıncı arasındaki fark amniyotik membran kullanılmış olan grupta daha yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,013$)

Amniyotik membran uygulanmamış fakat radyoterapi almış ve almamış gruplar (RT'li+AM'siz ve RT'siz+AM'siz) karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark göstermedi ($p=0.655$).

Radyoterapi almış fakat amniyotik membran uygulanmış ve uygulanmamış (RT'li+AM'lı ve RT'li+AM'siz) grupların karşılaştırılmasında ise anastomoz patlama basınçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ($p=0,002$).

Radyoterapi almamış amniyotik membran uygulanmamış (RT'siz+AM'siz) grup ile radyoterapi almış amniyotik membran uygulanmış (RT'li+AM'lı) grup karşılaştırıldığında anastomoz patlama basınçları arasında amniyotik membran uygulanan grubun lehine istatistiksel anlamlı fark mevcuttu ($p=0,002$).

Amniyotik membran uygulanan fakat radyoterapi verilen ve verilmeyen gruplar (RT'siz+AM'lı ve RT'li+AM'lı) karşılaştırıldığında bu iki grup arasında anastomoz patlama basınçları arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0,141$).

Yedinci gün gruplarında sırası ile ortalama anastomoz patlama basınçları RT'siz+AM'siz 159 ± 53 , RT'siz+AM'lı 202 ± 30 , RT'li+AM'siz 164 ± 32 , RT'li+AM'lı 209 ± 16 mmHg olarak bulundu ve sonuç istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi ($p=0.023$).

Radyoterapi almamış 7. gün gruplar incelendiğinde radyoterapisiz amniyotik membran uygulanmamış ve uygulanmış gruplarda (RT'siz+AM'sız ve RT'siz+AM'lı) ortalama anastomoz patlama basınçlarındaki fark amniyotik membran kullanılmış olan grupta daha yüksek (sırası ile 159±53'e karşı 202±30 mmHg) ve istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi (p= 0.047).

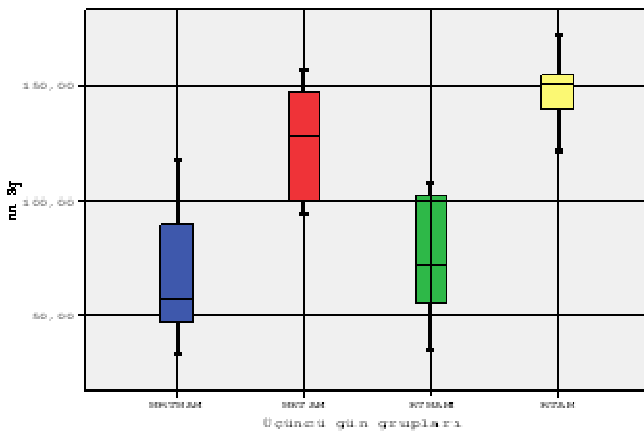
Amniyotik membran uygulanmamış fakat radyoterapi almış ve almamış gruplar (RT'li+AM'sız ve RT'siz+AM'sız) karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark göstermedi (p=0.848).

Radyoterapili amniyotik membran uygulanan (RT'li+AM'lı) grup ile radyoterapili amniyotik membran uygulanmayan (RT'li+ AM'sız) grup karşılaştırıldığında ise ortalama patlama basınçları ilk grupta daha yüksek (sırası ile 209±16'a karşı 164±32 mmHg) ve sonuç istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu (p=0.018).

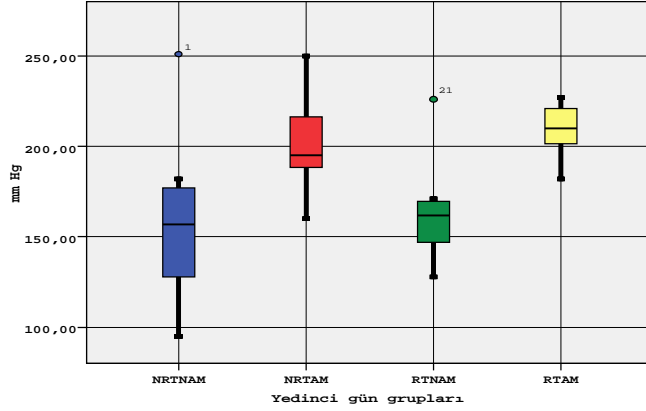
Radyoterapi almamış amniyotik membran uygulanmamış (RT'siz+AM'sız) grup ile radyoterapi almış amniyotik membran uygulanmış (RT'li+AM'lı) grup karşılaştırıldığında ortalama anastomoz patlama basıncı amniyotik membran uygulanan grupta daha yüksek (sırası ile 159±53'a karşı 209±16 mmHg) ve istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdi (p= 0.029).

Amniyotik membranın uygulandığı radyoterapi almış ve almamış gruplar (RT'siz+AM'lı ve RT'li+AM'lı) irdelendiğinde ise ortalama anastomoz patlama basınçları birbirine yakın olarak (sırası ile 202±30'a karşı 209±16 mmHg) bulundu istatistiksel anlamlı fark yoktu (p=0,522).

Şekil 4. Üçüncü gün gruplarının anastomoz patlama basınçları dağılım grafiği



Şekil 5. Yedinci gün gruplarının anastomoz patlama basınçları dağılım grafiği



Anastomoz patlama yeri: Üçüncü gün grubunda RT uygulanmış deneklerle RT uygulanmamış denekler arasında anastomoz patlama yeri açısından irdelendiğinde RT almış grupta 7 (%50) denekte anastomoz hattında geri kalan 7 (%50) denekte ise anastomoz hattı dışında patlama yeri tespit edildi. Radyoterapi almamış grupta ise 8 (%57.1) denekte anastomoz hattında, 6 (%42,9) denekte anastomoz hattı dışında patlama yeri izlendi, istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p=1$).

Amniyotik membranın uygulandığı deneklerde ise patlama yeri irdelendiğinde amniyotik membran uygulanan deneklerin 1 (%7.1)'inde anastomoz hattından patlama yeri görülürken anastomoz dışı patlama yeri 13 (%92.9) denekte izlendi. Amniyotik membran uygulanmayan deneklerde ise tüm patlama yeri anastomoz hattıydı ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$)

Yedinci gün grubunda RT uygulanmış ve uygulanmamış denekler arasında anastomoz patlama yeri incelendiğinde RT almış grupta 2 (%14,3) denekte anastomoz hattında 12 (%85.7) denekte anastomoz hattı dışında patlama yeri tespit edilirken, RT almamış grupta bu sayı sırasıyla 3 (%21.4) denek ve 11 (%78.6) denek olarak tespit edildi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,622$).

Amniyotik membranın uygulanıp uygulanmamasına göre patlama yeri değerlendirildiğinde amniyotik membranın uygulanmadığı grupta 4 (%28.6) denekte anastomoz hattında 10 (%71.4) denekte anastomoz hattı dışında patlama yeri tespit edilirken bu oran amniyotik membran uygulanan grupta sırası ile 1 (%7.1) ve 13 (%92.3) olarak tespit edildi. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.146$).

Histopatoloji sonuçları: Yara kenarlarının anastomoz ile doğru biçimde karşı karşıya geldiğini gösteren mukoza ve muskularis mukozanın değerlendirilmesinde 3. ve 7. Gün grupları arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0,878$ ve $p=0,099$). (Tablo9)

Tablo 9: Üçüncü ve yedinci gün histopatolojik değerlendirme sonuçları (cerrahi teknik kontrolü)

	Üçüncü gün grupları		Yedinci gün grupları	
	Mean±SEM (median)	p	Mean±SEM (median)	p
Mukoza		0,878		0,099
RT'siz+AM'siz	1,71±0,18(2)		1,57±0,20(2)	
RT'siz+AM'lı	1,85±0,14(2)		1±0,30(1)	
RT'li+AM'siz	1,57±0,29(2)		1,71±0,18(2)	
RT'li+AM'lı	1,57±0,29(2)		1,85±0,14(2)	
Muskularis mukoza		0,878		0,099
RT'siz+AM'siz	1,71±0,18(2)		1,57±0,20(2)	
RT'siz+AM'lı	1,85±0,14(2)		1±0,30(1)	
RT'li+AM'siz	1,57±0,29(2)		1,71±0,18(2)	
RT'li+AM'lı	1,57±0,29(2)		1,85±0,14(2)	

Üçüncü gün grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde mukoza reepitelizasyonu ve muskularis propria rejenerasyonu arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi (sırası ile $p=0,209$ ve $p=0,168$). Radyoterapi uygulanıp uygulanmamasına göre ya da AM uygulanıp uygulanmamasına göre ise istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (sırası ile mukoza reepitelizasyonu için $p=0,194$ ve $p=0,125$, muskularis propria rejenerasyonu için $p=0,769$ ve $p=0,114$).

Nekrozun; 3. gün gruplarda istatistiksel anlamlı farklılık göstermemekle birlikte ($p=0,371$), RT almış grupta daha çok izlenmesine karşın almamış grup ile karşılaştırılmasında da istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi ($p=0,133$). Benzer şekilde AM uygulanması gruplar arasında nekroz açısından istatistiksel anlamlı farklılık yoktu ($p=0,716$).

İnflamatuvar eksudanın oluşumu tüm gruplarda anlamlı farklılık göstermezken ($p=0,798$), RT ve AM uygulanmasına bağlı ise istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi (sırası ile $p=0,960$ ve $p=0,376$).

Granülasyon dokusu oluşumu tüm gruplar için istatistiksel anlamlı farklılık göstermezken ($p=0,071$), RT uygulanıp uygulanmamasından ise RT'siz grupta daha iyi olmasına karşın istatistiksel anlamlılık göstermedi. Amniyotik membran uygulamasından ise olumlu etkilenmedi (sırasıyla $p=0,257$ ve $p=0,210$).

Granülosit miktarı tüm gruplarda istatistiksel anlamlı farklılık göstermemekle birlikte ($p=0,192$), RT uygulanıp uygulanmamasından etkilenmedi ($p=0,548$). Amniyotik membran uygulanan gruplarda ise granülosit miktarı AM uygulanmayan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı fazla idi ($p=0,069$).

Makrofaj miktarı ise tüm grup içinde istatistiksel anlamlı fark göstermedi ($p=0,286$). Radyoterapi uygulanıp uygulanmamasına göre ya da AM uygulanıp uygulanmamasına göre ise istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (sırası ile $p=0,892$ ve $p=0,137$).

Fibroblastlarda tüm grup içinde istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p=0,207$). Radyoterapi uygulanıp uygulanmamasına göre ya da AM uygulanıp uygulanmamasına göre ise istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (sırası ile $p=0,304$ ve $p=0,194$).

Yedinci gün grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde ise mukoza reepitelizasyonu ve muskularis propria rejenerasyonu için gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (sırası ile $p=0,424$ ve $p=0,925$).

Nekroz 7. gün gruplarında değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık vardı ($p=0,001$) ve bu fark RT'li+AM'li gruptan kaynaklanmaktaydı ($p=0,002$). Radyoterapili ve radyoterapisiz gruplar ayrıldığında nekroz radyoterapili gruplarda istatistiksel olarak fark yaratmayan bir artışa sahipti ($p=0,077$). Nekroz AM uygulanıp uygulanmamasına göre AM'li grupta daha fazla izlendi ($p=0,002$).

İnflamatur eksuda oluşumu açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptandı ($p=0,004$). Bu fark RT'li+AM'li grupta inflamatuvar eksudanın yüksek olmasından kaynaklandı ($p=0,008$). Radyoterapi uygulanan grupta anlamlı yüksek ($p=0,007$) ancak

amniyotik membran uygulanan gruplarda ise daha fazla ama istatistiksel olarak anlamsızdı ($p=0,082$).

Granülasyon dokusu oluşumu tüm gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösterdi($p=0,028$). Granülasyon dokusu oluşumu RT'siz+AM'lı grupta anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi. RT'siz+AM'lı grup, RT'siz+AM'sız grupla ve RT'li+AM'lı grupla karşılaştırıldığında ise granülasyon dokusu oluşumu AM uygulanan gruplarda istatistiksel anlamlı yüksek ve RT uygulanan gruplarda ise anlamlı düşük bulundu (sırası ile $p=0,010$ ve $p=0,031$).

Granülosit miktarı tüm gruplarda istatistiksel anlamlı farklılık göstermemekle birlikte ($p=0,355$), RT ya da AM uygulanıp uygulanmamasından da etkilenmedi (sırasıyla $p=0,207$ ve $p=0,207$).

Makrofaj miktarı ise tüm grup içinde istatistiksel anlamlı fark gösterdi ($p=0,010$). Radyoterapi uygulanan gruplarda yüksek ama istatistiksel olarak anlamsızdı ($p=0,063$) ancak AM uygulanan gruplarda istatistiksel anlamlı şekilde düşük saptandı ($p=0,005$).

Fibroblastlarda tüm grup içinde istatistiksel anlamlı fark vardı ve bu fark RT'siz+AM'lı gruptan kaynaklanmaktaydı ($p=0,028$). Radyoterapi uygulanan gruplarda istatistiksel anlamlı düşüklük varken ($p=0,048$), AM uygulanan gruplarda ise istatistiksel anlamlı olmasada fibroblast miktarında artış vardı ($p=0,090$) (Tablo 10)

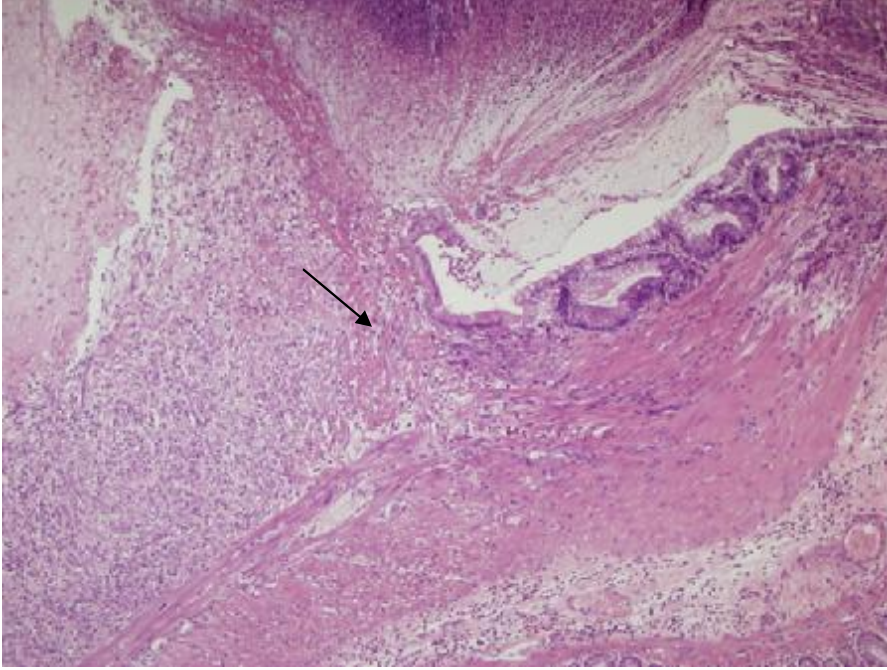
Tablo 10: Üçüncü ve yedinci gün histopatolojik değerlendirme sonuçlar tablosu

	Üçüncü gün grupları		Yedinci gün grupları	
	Mean±SEM (median)	p	Mean±SEM (median)	p
Mukoza reepitelizasyonu				
RT'siz+AM'siz	5,42±0,42(6)	0,209	3,71±0,52(3)	0,424
RT'siz+AM'lı	4,42±0,81(3)		3,71±0,77(3)	
RT'li+AM'siz	4,42±0,48(4)		4,57±0,57(4)	
RT'li+AM'lı	3,71±0,35(4)		4,85±0,63(5)	
Muskularis propria rejenerasyonu				
RT'siz+AM'siz	0,85±0,14(1)	0,168	0,71±0,18(1)	0,925
RT'siz+AM'lı	0,28±0,18(0)		0,71±0,18(1)	
RT'li+AM'siz	0,71±0,18(1)		0,71±0,18(1)	
RT'li+AM'lı	0,57±0,20(1)		0,57±0,20(1)	
Nekroz				
RT'siz+AM'siz	0,14±0,14(0)	0,371	0,14±0,14(0)	0,001
RT'siz+AM'lı	0,28±0,18(0)		0,42±0,20(0)	
RT'li+AM'siz	0,71±0,28(1)		0,14±0,14(0)	
RT'li+AM'lı	0,42±0,29(0)		1,42±0,20(1)	0,007
İnflamatuvar eksuda				
RT'siz+AM'siz	1,71±0,18(2)	0,798	1,28±0,18(1)	0,008
RT'siz+AM'lı	2±0,30(2)		1,42±0,20(1)	
RT'li+AM'siz	1,71±0,28(2)		1,71±0,28(2)	
RT'li+AM'lı	2±0,30(2)		2,57±0,20(3)	0,004

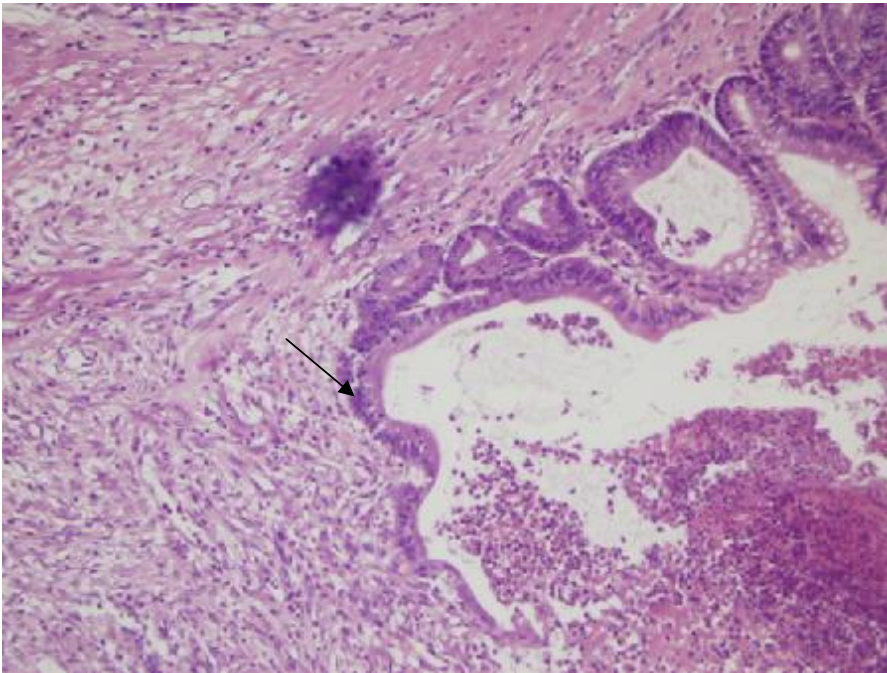
Tablo 10. (Devamı)

	Üçüncü gün grupları	Yedinci gün grupları	Üçüncü gün grupları	Yedinci gün grupları
	Mean±SEM (median)	p	Mean±SEM (median)	p
Granülasyon dokusu				0,028
RT'siz+AM'siz	1,42±0,35(1)	0,071	2,14±0,14(2)	
RT'siz+AM'lı	1±0(1)		2,85±0,14(3)	0,048
RT'li+AM'siz	1,14±0,14(1)		2±0,21(2)	
RT'li+AM'lı	1±0(1)		2±0,30(2)	
Granülosit				
RT'siz+AM'siz	1,42±0,20(1)	0,192	1,71±0,28(2)	0,355
RT'siz+AM'lı	2,14±0,26(2)		2±0,30(2)	
RT'li+AM'siz	1,42±0,20(1)		2±0,30(2)	
RT'li+AM'lı	1,85±0,34(2)		2,42±0,20(2)	
Makrofaj				0,010
RT'siz+AM'siz	1,57±0,29(1)	0,286	1,71±0,28(2)	
RT'siz+AM'lı	1,28±0,18(1)		1±0(1)	0,024
RT'li+AM'siz	1,85±0,34(2)		2,28±0,28(2)	
RT'li+AM'lı	1,14±0,14(1)		1,42±0,20(1)	0,040
Fibroblast				0,028
RT'siz+AM'siz	1,71±0,35(1)	0,207	2,14±0,14(2)	
RT'siz+AM'lı	1,14±0,14(1)		2,85±0,14(3)	0,048
RT'li+AM'siz	1,28±0,18(1)		2±0,21(2)	
RT'li+AM'lı	1±0(0)		2±0,30(2)	

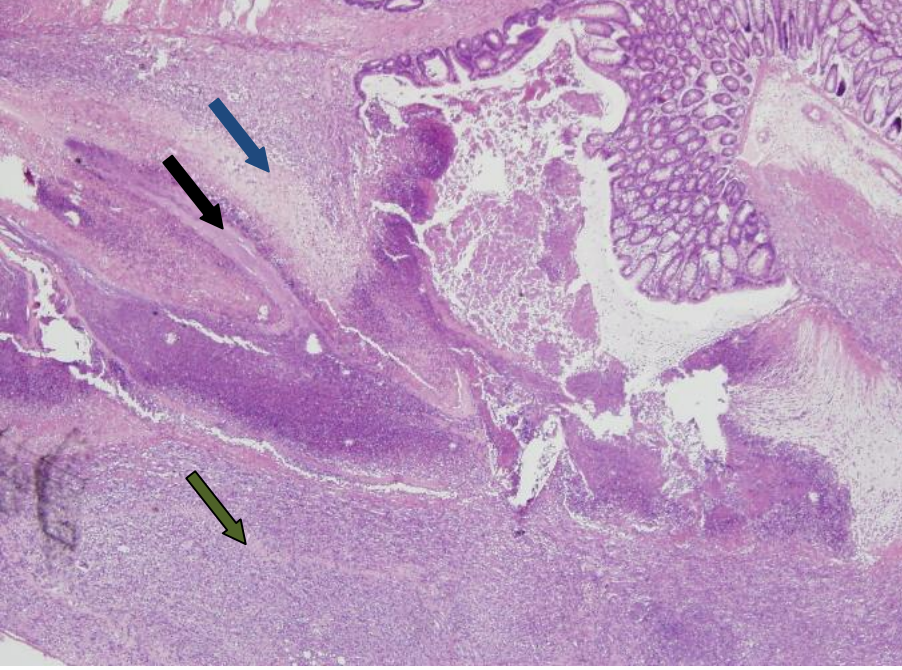
Resim 10. Muskularis propria rejenerasyonu.



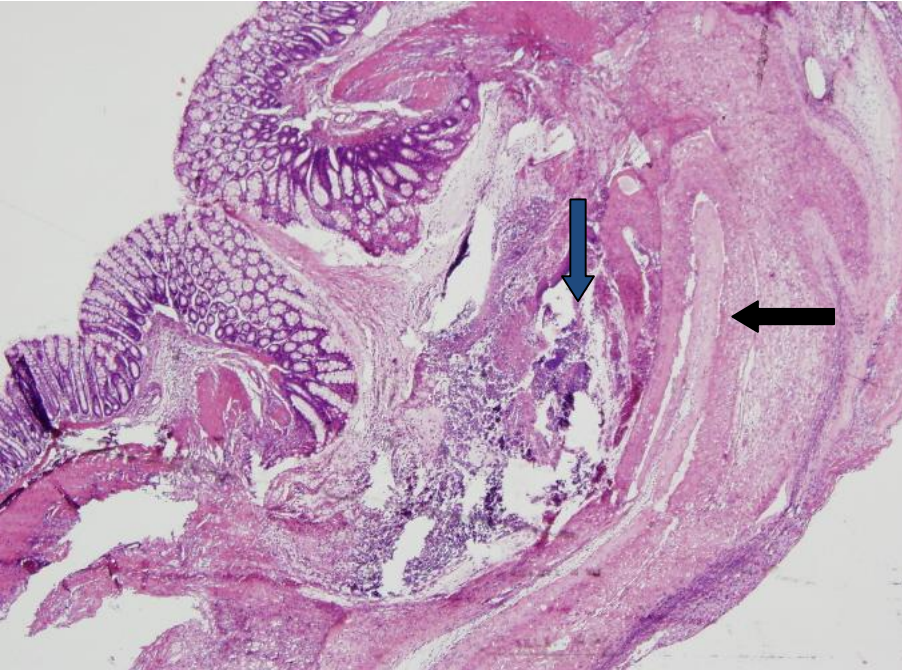
Resim 11. Mukoza reepitelizasyonu



**Resim12. Enflamatuar eksuda (mavi), AM (siyah), granülasyon dokusu (yeşil)
(RT'li+AM'lı, yedinci gün)**



Resim 13.Enflamatuar eksuda (mavi), AM (siyah) (üçüncü gün RT'li+AM'lı)



TARTIŞMA

Sadece cerrahi yapılan rektum kanserli T3, T4, N+ lezyonlar yüksek lokal nüks riski taşır. Opere edilebilir rektum kanserli hastalarda uygulanan preoperatif RT tek başına cerrahi tedavi ile karşılaştırıldığında lokal nüksü azaltarak sağ kalımda anlamlı iyileşmeye katkıda bulunur (2).

Rektum kanserli hastalarda neoadjuvan radyoterapi uygulamasının ana nedenleri; rezeksiyondan sonra geride kalan kanser hücrelerinden, ekstrapelvik metastaz ve pelvik rekürrens riskinin azaltılması, primer tümör boyutu ve lenf nodu metastazlarının rezeksiyondan önce azaltılması, yakın zamanda cerrahi geçirmiş dokulardaki hipoksik hücrelere göre normal oksijenize kanser hücrelerinin radyoterapiden daha çok etkilenmesinin sağlanması, cerrahi sırasında olası tümör ekiminin önlemesi olarak sıralanabilir (76).

Rektum kanseri tedavisinde preoperatif radyoterapinin yeri üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında preoperatif kısa dönem RT ile tek başına cerrahi tedaviyi karşılaştıran İsveç Rektum kanseri çalışmasında lokal nüksün %11'e çekildiği sağ kalımın ise %58'e çıkartılabildiği gösterilmiştir (77). Yine 2007 yılında yayınlanan Cochrane sistematik analizinde preoperatif RT alan ve almayan hastalar karşılaştırıldığında lokal nüksün azaltılmasında etkin olduğu; Hollanda çalışmasında preoperatif RT ve cerrahinin sadece cerrahi ile karşılaştırıldığında lokal nüksü %2,4'e karşı %8,2 olarak azalttığı; İngiltere çalışmasında ise preoperatif RT ve mükemmel uygulanan TME tekniği ile 3 yıllık izlemde lokal nüks %1 olarak bulunmuştur (78-80).

Yine başka bir çalışma olan Fransa çalışmasında preoperatif KRT ile preoperatif RT karşılaştırılmış, eklenen preoperatif KT'nin RT ile beraber lokal kontrolü sağlamada daha etkin olduğu gösterilmiştir (%8'e karşı %16,5) (82).

Preoperatif RT tedavisi sonrası persistan diyare, sık idrara çıkma, rektal kanama, üreteral darlık, perineal yara iyileşmesinde gecikme ve enterovezikal fistüller bildirilmiş olmakla birlikte uzun dönemde en önemli komplikasyonlar fibrotik değişiklikler ve yara iyileşme problemleridir (90). Pelvik RT sonrası akut dönemde geçici diyare ve genel düşkünlük sık görülür ancak bazen yerlerini kronik intestinal sorunlara bırakabilirler. Uygulanan bölge göz önüne alındığında proktokolit, kolon veya rektumda darlık, anal stenoz, rektal ülser, spontan nekroz, fistüller ve bu nedenle oluşan malabsorbsiyon bunlardan bazılarıdır (84-89).

Deneysel çalışmalarla RT'nin yara ve anastomoz iyileşmesini geciktirdiği detaylı bir şekilde gösterilmiştir (3.48.87). Bu nedenle cerrahi uygulamalarda radyoterapi alan hastalarda bu sorunun önüne geçebilmek için cerrahi tedavi 4-6 hafta geciktirilerek RT'nin olumsuz etkilerinden korunulmaya çalışılır. Ayrıca neoadjuvan tedavinin postoperatif erken dönem anastomoz iyileşmesine olumsuz etkisinin önüne geçmek için saptırıcı stomaya başvurulur. Literatürde tartışmalar saptırıcı stomanın anastomoz kaçacağını önlemede mi yoksa anastomoz kaçak şiddetini azaltmada mı etkili olduğu konusunda devam etmektedir (20,21).

Kolorektal cerrahi alanında yapılan anastomozlardan sonra anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda izotonik, povidon-iodine, %10 dekstroz kısa zincirli yağ asitlerini içeren solüsyonlar yanında A vitamini, çinko gibi birçok madde kullanılmış ancak rutin klinik uygulamada çok azı yer almıştır (106).

Barsak anastomozunun gerçekleştirilmesinde birçok dikişli ve dikişsiz teknik kullanılır. Özellikle rektum cerrahisinde kullanılan sirküler ve lineer staplerler cerrahi tekniği kolaylaştırmakta ve gelişen teknolojiyle birlikte Biofragmentabl Anastomotic Ring (BAR), AKA Gun, circular compression rings, Magnetic Rings ve fibrin yapıştırıcılar gibi birçok yöntem dikişsiz anastomoz teknikleri olarak başarılı çalışmalarla klinik kullanıma sunulmuştur (107-111).

Waninger ve arkadaşları anastomozda dikişler arasındaki küçük mesafenin ve gevşek dikiş geriliminin en iyi iyileşme modeli oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Ek olarak serozal yüzeyde oluşan su geçirmez kapanma iyileşmenin barsağın luminal tarafından hızlı bir şekilde başarılmasında temeldir (112). İntestinal duvarın çok katlı tabakası yara iyileşmesini önemli ölçüde etkiler. Mukoza ve muskularis mukozanın karşı karşıya gelmesi büyük oranda anastomoz tekniğine bağlıdır. Mukoza eversiyonu ve inversiyonunun her ikisi de yara iyileşmesini geciktirir. Barsak duvarının katları tam olarak karşı karşıya gelirse anastomotik defekt üç günde tam olarak iyileşir (39). Çalışmamızın bu parametrelerinin değerlendirilmesinde cerrahi teknik açısından uygun ve standart olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan bir deneysel çalışmada; 5 Gy fraksiyone dozlar ardı ardına 5 gün verilmesiyle kümülatif radyasyon etkisine (CRE: 14,59) erişilmiş ancak ışınlama için yapılan anestezi nedeni ile yüksek mortalite ile karşılaşılmıştır (3,85,92). Weiber ve arkadaşları beş gün içerisinde uygulanan 10+10 Gy'lik iki doz şeklindeki uygulamanın denekler tarafından iyi

tolere edildiğini ve kümülatif radyasyon etkisinin klinik uygulamadaki biyolojik etki ile aynı olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada mortalite oldukça düşüktür (113).

Bizim çalışmamızda daha önceki deneysel modellerde de kullanılan, beş günde verilen radyasyon dozunun iki günde verilmesi ile her ışınlamada verilen anesteziğe maddelere bağlı komplikasyonların önlenmesi için Weiber ve arkadaşlarının yöntemi benimsendi (113). Çalışmamızda mortaliteyle karşılaşılmadı.

Radyoterapi alan gruplarda ilk RT sonrası başlayan ve operasyon sonrası sakrifikasyona kadar artarak devam eden istatistiksel olarak anlamlı kilo kaybı görüldü ($p<0,05$). Bu durum radyasyonun genel etkilerine bağlandı.

Tüm gruplar içerisinde toplam 6 denekte yara yeri enfeksiyonu ve bir denekte yara ayrılması izlendi. 3. gün gruplarında 3 denekte barsak obstrüksiyonu gelişirken 7. gün gruplarında ise 2 denekte barsak obstrüksiyonu vardı. Fakat bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamsız bulundu (sırasıyla $p= 0.772$, $p=0,541$). Terzi ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada da benzer komplikasyonlar izlenmiş ve gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır. (106)

Radyoterapinin anastomoz patlama basıncına etkisi incelendiğinde 3. gün RTsiz+AMsız ve RTsiz+AMlı gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptandı ($p=0,013$). Fakat RTsiz+AMsız ve RTli+AMsız gruplar arasında anastomoz patlama basınçları arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0.655$). Yedinci gün gruplarında ise RTsiz+AMsız ve RTsiz+AMlı gruplarda patlama basıncı AMlı grup lehine benzer şekilde anlamlı farklılık gösterdi ($p= 0.047$). Fakat RTli+AMsız ve RTsiz+AMsız gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0.848$).

Üçüncü gün ve yedinci gün amniyotik membran uygulanan gruplar arasında RTsiz+AMlı ve RTli+AMlı gruplar karşılaştırıldığında bu iki grup arasında anastomoz patlama basınçları arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi (sırasıyla $p=0,141$ ve $p=0,522$).

Radyoterapi uygulanan RTli+AMlı ve RTli+AMsız grupların karşılaştırılmasında ise anastomoz patlama basınçları arasındaki fark 3. gün ve 7. gün gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi (sırasıyla $p=0,002$ ve $p=0,018$).

Operasyonun birinci günü, anastomik açılma riski en yüksektir. Ameliyattan sonra anastomozun erken bütünleşmesi serozal bölgede suyu tutan fibrin tabakanın sızdırmazlığına ve bağırsak duvarının operasyon sonrası dört gün boyunca dikiş tutma kapasitesine bağlıdır (39). Bizim çalışmamızda ise 3. ve 7. gün gruplarının her ikisinde de ister RT'li ister RT'siz gruplarda AM uygulananlarda anastomoz patlama basıncında görülen anlamlı fark AM'ın anastomoz hattına adhere olması ile ilişkilendirildi. Bu ilişki 7. gün gruplarında artarak devam etmekte idi ve hatta AM'sız gruplar 7 güne ulaştığında patlama basınçları ortalamaları 3 günlük AM uygulanan gruplara benzerdi.

Anastomoz patlama yeri değerlendirildiğinde üçüncü gün gruplarında AM uygulanan deneklerin hepsinde anastomoz dışı alandan patlama izlenirken ($p<0.001$), AM uygulanmayan gruplarda ise anastomoz hattından patlama izlendi. Yedinci gün gruplarında ise bu karşılaştırma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu sonuç AM'ın anastomoz üzerine mekanik destek sağlayarak erken dönemde anastomoz ayrılmasıyla oluşabilecek komplikasyonlara karşı koruyucu olduğunu düşündürdü. Ulaşılan bu sonuç amniyotik membran ile yapılan diğer sonuçlarla örtüşmektedir (37,38).

Anastomozun iyileşme evresinin değerlendirilmesinde mukoza reepitelizasyonu ve muskularis propria rejenerasyonu grupların hiçbirisinde anlamlı farklılık göstermedi. Terzi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada luminal kısa zincirli yağ asitlerinin kolonik anastomoz üzerine etkilerini araştırmışlar ve mukozal tabakanın gelişmesine olumlu katkıyı göstermişlerdir (106). Bizim deneysel çalışmamızda anastomoz ve AM uygulaması intraperitoneal olarak yapıldı. Amniyotik membranın etkinliği lokal olarak anastomoz hattı üzerinde beklenirken uygulama nedeni ile lokal ve intraperitoneal olarak etkinin yayıldığı düşünüldü. Yapılan çalışmalarda AM'ın intraabdominal yapışıklıkları azalttığıda gösterilmiştir (34,35). Bu tespit bizim çalışmamızda üçüncü gün görülen AM uygulanan gruplardaki adezyonun az olmasını desteklemiştir ($p=0,012$). Ancak bu farklılık yedinci gün gruplarında istatistiksel anlamlı değildir.

İntestinal segmentin rezeksiyonu ani bir vazokonstriksiyonu takiben bir vazodilatasyon ve artmış permeabilityyle ödeme ve doku uçlarında şişmeye yol açar (59). Radyasyonun etkisi ile oluşan endotelial hücrelerdeki mikrosirkülasyon hasarlanması bu durumu ağırlaştırır. Anastomotik sütürler de olumsuz katkıda bulunurlar ve şişmiş dokularda sütürlerin sıkmasıyla iskemik nekroz gelişebilir. Bu bulgulara ek olarak, Milson ve arkadaşları radyasyondan

sonraki kolorektal anastomozlarda, seromüsküler kan akımında, erken dönemde azalma olduğunu göstermişlerdir (92). Bizim çalışmamızda üçüncü gün gruplarında RT'li kısımda nekroz istatistiksel anlamlı olmasa da yüksek bulundu ($p=0,371$) ve AM uygulanmasından etkilenmedi. Yedinci gün gruplarında ise istatistiksel anlamlı fark vardı ($p=0,001$). Radyoterapi verilen gruplarda anlamlı olmayan yükseklik varken ($p=0,077$), RT'li+AM'lı grupta daha fazla izlendi ($p=0,002$). Nekrozun AM uygulanan gruplarda yüksek seyretmesi enflamatuar hücrelerde görülen azalma ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Bunun gerekçesi ise daha önce yapılan çalışmalarda da enflamatuar hücre artışının görülememesi oldu, araştırmacılar da bu azalmanın açıklanamadığını ifade etmişlerdir (29,34,35,37,38,114).

İnflamatuar eksudanın varlığı üçüncü gün gruplarında istatistiksel anlamlı fark göstermezken ($p=0,798$) yedinci gün gruplarında ise RT'li gruplarda bu fark anlamlı yüksek ($p=0,007$) ancak AM uygulamasından bağımsızdı. Amniyotik membran uygulanan gruplarda RT'li grupta bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,010$). Kısa RT protokolünün etkisinin yedinci gün gruplarında belirgin hale geldiği AM uygulamasından etkilenmediği görüldü.

Kuzu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada neovaskülarizasyonun RT'den etkilenerek granülasyon dokusunun gelişiminde gecikmeye neden olduğu gösterilmiştir (3). Bizim çalışmamızda üçüncü gün gruplarında granülasyon dokusu gelişimi istatistiksel anlamlı olmayan farklılık gösterdi ($p=0,071$). RT uygulanan grupta granülasyon dokusunda düşüklük uygulanmayanlara göre anlamlı fark göstermedi ($p=0,257$). Amniyotik membran uygulanmayan grupta hem RT'li hemde RT'siz grupta granülasyon miktarı anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,046$). Bu fark ise RT'siz+AM'sız gruptan kaynaklandığı görüldü. Yedinci gün gruplarında ise benzer sonuçlar vardı ve istatistik anlamlılık mevcuttu ($p=0,028$). Grup içi ikili karşılaştırmada RT'siz gruplarda AM uygulanması granülasyonu anlamlı derecede artırdı ($p=0,010$). Benzer bulgu RT'li ve RT'siz, AM uygulanan gruplarda da vardı ($P=0,031$) ve RT'nin granülasyon dokusunu anlamlı derecede geriletmediği AM uygulanmasında da bu durumda bir değişiklik göstermediği izlendi (RT'li+AM'lı ile RT'li+AM'sız karşılaştırılması $p=1$). Uludağ ve arkadaşları yüksek riskli kolon anastomozlarına uyguladıkları AM'in neovaskülarizasyonu istatistik olarak olmasa da oransal olarak arttırdığını bu sayede de anastomoz hattında fibroblastik aktivitenin uyumlu olarak arttığını bildirmişlerdir (37). Bu görüş çalışmamızdaki RT'siz gruplarda granülasyon dokusu artışını destekler niteliktedir. Ancak RT'li gruplarda olan granülasyon dokusu düşüklüğüne

AM'in bir etkisinin olamadığı görülmektedir. Bu ise RT'nin obliteratif endarterite ulaşma amacının doğruluğu ile ilişkilendirildi (91).

Granülosit miktarı ile yara iyileşmesi arasındaki ilişki çok açık değildir. Bazı çalışmalar, nötropenik hayvanların normal olarak iyileştiği ve farelerdeki postoperatif anastomotik ayrılma kuvvetinin nötropeniden bağımsız olduğunu gösterir (3). Bazı çalışmalarda ise, iyileşmekte olan bir yaradaki kollajen miktarının, granülositlerde bulunan ve fibroblastlar tarafından sentez edilen kollajenaza bağlı olduğunu gösterildi (55). Bizim çalışmamızda ise, hem RT'nin hem de AM uygulamasının granülosit sayısında fark gösterecek etkide bulunmadığı görüldü.

Yaraya ikincil olarak gelen hücre grubu makrofajlardır. Başarılı bir iyileşmenin temel taşıdır. Makrofajlar 48-96 saat arasında önemli miktara ulaşırlar, TGF- β , VEGF, İGF ve laktat gibi mediyatörler salarak hücre proliferasyonunu, matriks sentezini ve anjiyogenezi düzenler ve yara iyileşmesinin sonuna kadar bölgede kalırlar. Makrofajlar yara debridmanına katkıda bulunurlarken salgıladıkları oksijen radikalleri ve nitrik oksit sentezi ile mikrobiyal stazı sağlarlar (42,43). Bizim çalışmamızda üçüncü gün gruplarında makrofaj miktarı tüm grup içinde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi ($p=0,286$). Yedinci gün gruplarında ise makrofaj miktarı AM uygulanmayan gruplarda anlamlı olarak yüksekti ($p=0,005$). RT uygulanan gruplarda ise anlamlı düşük izlendi ($p=0,048$). Makrofajların amniyotik membrana bağlı nasıl düşüklük gösterdiği açıklık kazanmamıştır. Akut korneal alkali yanıklarında, farklı etiyolojilerden inatçı konrea ülserlerinde ve gingival yaralarda insana AM uygulanmasının enflamatuar hücre çoğalmasını azaltabildiği bu yolla enflamasyonu önleyebileceği gibi benzer sonuçlarda bildirilmiştir. Bu sonuç Uludağ ve arkadaşlarının çalışmasında da açıklanamamış bir soru olarak kalmıştır (29,34,35,37,38,114).

Fibroblastlar normal yara iyileşmesinin geç fazlarında ortaya çıkar. Bunlar kollajenin oluşumundan ve yapısal ekstraselüler matriksin yapımından sorumludur. Bununla beraber intestinal kollajen submukozal yerleşimlidir ve lamina propriadaki düz kas hücrelerinde üretilir. Dolayısıyla barsağın en güçlü olduğu tabaka submukozadır. Submukoza barsak uçlarını karşı karşıya getiren sütürleri bir arada tutmaktan sorumludur (39). Üçüncü gün gruplarında fibroblast miktarı açısından istatistiksel anlamlı farklılık görülmemekle birlikte yedinci gün gruplarında ise anlamlı farklılık vardı (sırası ile $p=0,207$ ve $p=0,028$). Yedinci gün RT uygulanan tüm gruplarda fibroblast miktarı anlamlı düşük seyrederken ($p=0,048$),

AM uygulananlarda istatistiksel anlamlı olmasa da fibroblast miktarında artış mevcuttu ($p=0,090$).

Gerçekleştirilen bu deneysel modelin pratik uygulamaya uymayan yönleri vardır. Bilindiği gibi neoadjuvan RT orta ve alt rektum kanserlerinde uygulanır ve bu hastalara rezeksiyon sonrası çok aşağı (very low) anastomoz yapılmaya çalışılır. Ratlarda rektumun kısa olması nedeniyle bu tekniği uygulamak zordur. Bu nedenle çalışma daha önce planlanan deneysel çalışmaların (3, 48, 59, 92, 106, 113) takip ettiği sol kolon rezeksiyonunu takiben yapılan intraperitoneal anastomoz ile gerçekleştirildi. Ayrıca pratik cerrahi uygulamada anastomoz için kullanılan dokulardan birisi ışınli diğer taraf sağlam doku olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın kaynaklandığı temel yıllardır çeşitli onarım tekniklerinde kullanılan AM'in preoperatif uygulanan RT'nin barsak anastomozu üzerine süregelen etkilerini azaltabileceği öngörüsüydü (22-36). Çalışmada yer alan gruplarda yara ve anastomoz komplikasyonlarının anlamlı farklılık göstermemesi ve klinik sonuçların benzer olmasına rağmen anastomotik patlama basınçlarının ister RT'li ister RT'siz gruplarda olsun AM ile artırıldığı izlendi. Ancak RT sonrası invivo bulgular ile invitro bulguların olumlu olarak örtüşmediği saptandı. Amniyotik membranın doku adezyonu iyi olduğu görülmekle beraber içeriğinin ne kadarının anastomoz üzerinde etkili olduğunun da ortaya konması gerekliliği görüşü ortaya çıktı.

Sağlık bakanlığı verileri incelendiğinde organ ve doku nakilleri için çıkartılan yasalarda doku bankaları dışında AM alımı için herhangi bir bilgilendirme izlenmedi. Ancak yapılan işlemin bir doku nakli olduğu göz önüne alınırsa AM'in kullanılabilmesi için gebelerden bilgilendirilmiş onam alınması gereklidir (115).

Uzun yıllar yara iyileşmesinde başarı ile kullanılan antibakteriyel ve düşük immünijenite özelliğine sahip inflamasyon ve skar oluşumunu azalttığı, anjiyogeneze izin vererek yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinen AM'in ister RT'li ister RT'siz ancak yüksek riskli hastalarda kolon anastomozlarında erken dönem anastomoz kaçağına önlem olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz. Bu sayede hastalara ilave sosyal ve cerrahi morbidite ilave eden saptırıcı stomanın da uygulanmaması sağlanabilir. Bu spekülasyonun ileride gerçekleşip

gerçekleşmeyeceğini ise kullanılan AM'nin miktarının belirlendiği ve kullanıldığında ise uzun dönem sonuçlarına etkisinin ne olduğunun gösterildiği deneysel çalışmalar belirleyecektir.

SONUÇ

- 1- Preoperatif RT, çalışmada yeralan gruplarda mortaliteye, yara ve anastomoz komplikasyonlarına yol açmadı.
- 2- Radyoterapili ve radyoterapisiz AM uygulanmayan deneklerde anastomoz patlama basınçları arasında istatistiksel fark izlenmedi.
- 3- Üçüncü ve yedinci gün gruplarında AM uygulaması RT'siz ve RT'li gruplarda barsak patlama basınçlarını artırdı.
- 4- Anastomoz patlama yeri üçüncü gün deneklerinde AM uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olarak anastomoz dışında görülürken AM uygulanmayanlarda anastomoz hattında görüldü. Yedinci gün gruplarında ise bu fark anlamlı değil ancak oransal olarak benzerdi.
- 5- Anastomoz iyileşme parametrelerinin çoğu RT'den etkilendi ancak AM'ın açıklanamayan nedenlerle iyileşme parametrelerini RT etkisi altında yavaşlattığı düşünüldü. RT'siz deneklerde bu kötü etkilenme olmadı.
- 6- İster RT'li ister RT'siz barsaklarda yapılan anastomoz üzerine AM uygulanması anastomoz sağlığını olumlu etkileyerek iyileşmeye katkıda bulunabilir hatta olguların çoğunda saptırıcı stoma ihtiyacını ortadan kaldırabilir.

KAYNAKLAR

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006;56(2):106-30.
2. Cammà C, Giunta M, Fiorica F, et al. Preoperative radiotherapy for resectable rectal cancer: A meta-analysis. *JAMA*. 2000 Aug 23-30;284(8):1008-15
3. Kuzu MA, Kuzu J, Köksoy C, et al. Histological evaluation of colonic anastomotic healing in the rat following preoperative 5-fluorouracil, fractionated irradiation and combined treatment. *Int J Colorectal Dis* 1998;13:235–240.
4. Dahlberg M, Glimelius B, Graf W, et al. Preoperative irradiation affects functional results after surgery for rectal cancer: results from a randomized study. *Dis Colon Rectum* 1998;41:543–51.
5. Meyerson RJ, Genovesi D, Lockett MA, et al. Five fractions of preoperative radiotherapy for selected cases of rectal carcinoma: long-term tumour control and tolerance to treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;43:537–43.
6. Ünal A, Çakmak A. Radyoterapi. *Klinik Cerrahi Onkoloji*, 1977:236-243).
7. Gerard A, Buyse M. Preoperative radiotherapy as adjuvant treatment in rectal cancer. *Annals of Surgery*, November 1988:606-614)
8. Vignali A, Fazio VW, Lavery IC, et al. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1014 patients. *J Am Coll Surg* 1997; 185: 105–113.
9. Rullier E, Laurent C, Garrelon JL, et al. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. *Br J Surg* 1998; 85: 355–358.
10. Schmidt O, Merkel S, Hohenberger W. Anastomotic leakage after low rectal stapler anastomosis: significance of intraoperative anastomotic testing. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29: 239–243
11. Eckmann C, Kujath P, Schiedeck TH, et al. Anastomotic leakage following low anterior resection: results of a standardized diagnostic and therapeutic approach. *Int J Colorectal Dis* 2004; 19: 128–133.

12. Marusch F, Koch A, Schmidt U, et al. Value of a protective stoma in low anterior resections for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2002; 45:1164–1171.
13. Eriksen MT, Wibe A, Norstein J, et al. Norwegian Rectal Cancer Group. Anastomotic leakage following routine mesorectal excision for rectal cancer in a national cohort of patients. *Colorectal Dis* 2005; 7: 51–57.
14. Matthiessen P, Hallbook O, Andersson M, et al. Risk factors for anastomotic leakage after anterior resection of the rectum. *Colorectal Dis* 2004; 6: 462–469.
15. Law WL, Chu KW. Anterior resection for rectal cancer with mesorectal excision: a prospective evaluation of 622 patients. *Ann Surg* 2004; 240: 260–268.
16. Chang SC, Lin JK, Yang SH, et al. Long-term outcome of anastomosis leakage after curative resection for mid and low rectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1898–1902.
17. Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, et al. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 211–216.
18. Kasperk R, Philipps B, Vahrmeyer M, et al. Risk factors for anastomosis dehiscence after very deep colorectal and coloanal anastomosis. *Chirurg* 2000; 71: 1365–1369.
19. Branagan G, Finnes D, Wessex Colorectal Cancer Audit Working Group. Prognosis after anastomotic leakage in colorectal surgery. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1021–1026.
20. Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, et al. Dutch Colorectal Cancer Group. Risk factors for anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg*. 2005 Feb;92(2):211-6.
21. Gastinger I, Marusch F, Steinert R, et al. Working Group 'Colon/Rectum Carcinoma'. Protective defunctioning stoma in low anterior resection for rectal carcinoma. *Br J Surg*. 2005 Sep;92(9):1137-42.
22. Bourne GL The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol* 1960; 79:1070–1073

23. Toda A, Okabe M, Yoshida T et al. The potential of amniotic membrane/amnion-derived cells for regeneration of various tissues. *J Pharmacol Sci* 2007; 105:215–228
Int J Colorectal Dis 2009; 24:809–81711.
24. Dua HS, Gomes JA, King AJ, et al The amniotic membrane in ophthalmology. *Surv Ophthalmol* 2004; 49:51-77
25. Subrahmanyam M Amniotic membrane as a cover for microskin grafts. *Br J Plast Surg* 1995; 48:477–478
26. Tseng SC, Li DQ, Ma X et al Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999; 179:325–335
27. Mermet I, Pottier N, Sainthillier JM et al Use of amniotic membrane transplantation in the treatment of venous leg ulcers. *Wound Repair Regen* 2007; 15:459–464
28. Talmi YP, Sigler L, Inge E et al Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta* 1991; 12:285–288
29. Rinastiti M, Harijadi SAL, Sosroseno W Histological evaluation of rabbit gingival wound healing transplanted with human amniotic membrane. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 35:247–251
30. Davis JW Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *Johns Hopkins Med J* 1910; 15:307
31. Bose B Burn wound dressing with human amniotic membrane. *Ann R Coll Surg Engl* 1979; 61:444–447
32. Samandari MH, Yaghmaei M, Ejlali M et al Use of amnion as a graft material in vestibuloplasty: a preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97:574–578
33. Nisolle M, Donnez J Vaginoplasty using amniotic membranes in cases of vaginal agenesis or after vaginectomy. *J Gynecol Surg* 1992; 8:25–30

34. Szabo A, Haj M, Waxsman I et al Evaluation of seprafilm and amniotic membrane as adhesion prophylaxis in mesh repair of abdominal wall hernia in rats. *Eur Surg Res* 2000; 32:125–128
35. Kelekci S, Uygur D, Yilmaz B et al Comparison of human amniotic membrane and hyaluronate/carboxymethylcellulose membrane for prevention of adhesion formation in rats. *Arch Gynecol Obstet* 2007; 276:355–359
36. Zohar Y, Talmi YP, Finkelstein Y, et al Use of human amniotic membrane in otolaryngologic practice. *Laryngoscope* 1987; 97:978–9
37. Uludag M, Citgez B, Ozkaya O, et al. Effects of amniotic membrane on the healing of normal and high-risk colonic anastomoses in rats. *Int J Colorectal Dis.* 2009 Jul;24(7):809-17
38. Uludag M, Citgez B, Ozkaya O et al. Effects of amniotic membrane on the healing of primary colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of secondary peritonitis in rats *Int J Colorectal Dis.* 2009 May;24(5):559-67
39. Barbul A. Wound healing. *The Surgical Clinics of North America*, June 1997:509-527
40. Ahrendt GM, Gardner K. Loss of colonic structural collagen impairs healing during intra-abdominal sepsis. *Arch.Surg*, 1994;129:1179-1183
41. Fukai F, Suzuki H. Rat plasma fibronectin contains two distinct chemotactic domains for fibroblastic cells. *J Biol Chem*, 1991;266:8807
42. Browder W, Williams D. Effect of enhanced macrofage function on early wound healing. *Surgery*, 1988;104:224
43. Olutoye OO, Yager DR. Lower cytokine release by fetal porcine platelets: A possible explanation for reduced inflammation after fetal wounding. *J Pediatric Surgery*, 1996;31:91
44. Schaffer MR, Tandry U. Nitric oxide regulates wound healing. *J Surg Res*, 1996;63:237
45. Lowry SF. Cytokine mediators of immunity and inflamation. *Arch.Surg*, 1993;128:1235
46. Dhawan J, Farmer SR, Regulation of alpha 1 (I) kollagen gene expression in response to cell adhesion in swiss 3T3 fibroblasts. *J Biol Chem*, 1990;265:9015
47. Regan MC, Kirk SC. The wound environment as a regulator of fibroblast phenotype. *J Surg Res*, 1991;50:442

48. Winsey K, Simon RJ. Effect of supplemental vitamin A on colon anastomotic healing in rats given preoperative irradiation. *The American Journal of Surgery*, 1997:150-154
49. Tümer AR, Kama NA. Effects of 5-Fluorouracil and zinc on healing of colonic anastomoses in rabbits. *European Journal of Surgery*, 1999:165:369-377
50. Vande Berg JS, Rudolph R. Comparative growth dynamics and morphology between cultured myofibroblasts from granulating wounds and dermal fibroblasts. *Am J Pathol*, 1984:114:187
51. Albina JE, Mills CD. Temporal expression of different pathways of L-Arginin metabolism in healing wounds. *J Immunology*, 1990:144:3877
52. Belligan GJ, Caldwell H. In vivo fate of the inflammatory macrophage during the resolution of inflammation. *J Immunology*, 1996:157:2577
53. Ahrendt GM, Tantry US. Intrabdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *American Journal of Surgery*, 1996:171:102-108
54. Brasken P, Renvall S. Fibronectin and collagen gene expression in healing experimental colonic anastomoses. *British Journal of Surgery*, 1981:78:1048-1052
55. Hawley PR, Faulk WP. Collagenase activity in the gastro-intestinal tract. *British Journal of Surgery*, 1970:57(12):896-900
56. Chowcat NL, Savage FJ. Role of collagenase in colonic anastomoses: a reappraisal. *British Journal of Surgery*, 1988:75:330-334
57. Clark RA. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair (review). *Pediatric Surgery*, 1993:306:42
58. Desmouliere A, Redard M. Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar. *Am J Pathol*, 1995:146:56
59. Hendriks T, Walter JB. Healing of experimental intestinal anastomoses. *Dis Colon Rectum*, 1990:891-901
60. Shandall A, Lowndes R. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. *British Journal of Surgery*, 1985:72:606-609
61. Van Der Ham AC, Kort WJ. Effect of antibiotics in fibrin sealant on healing colonic anastomoses in the rat. *British Journal of Surgery*, 1992:79:525-528
62. Mc Gregor JR., Reinbach DH. Effect of fibrin sealant on perianastomotic tumor growth in an experimental model of colorectal cancer surgery. *Dis Colon Rectum*, 1993:36:834-839

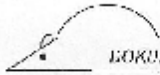
63. Jiborn H, Ahonen J. Healing of experimental colonic anastomoses I - Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomoses. *American Journal of Surgery*, 1978;136:587-594
64. Jiborn H, Ahonen J. Healing of experimental colonic anastomoses II-Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomoses. *American Journal of Surgery*, 1978;136:595-599
65. Graham MF, Willey A. Interlekin I down – regulates collagen and augments collagenase expression in human intestinal smooth muscle cells. *Gastroenterology*, 1996;110:344-350
66. Jiborn H, Ahonen J. Healing of experimental colonic anastomoses III-Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *American Journal of Surgery*, 1980;139:398-405
67. Stoop MJ, Hendrics T. Advanced age alone does not suppress anastomotic healing. *Surgery* 1996;119:15-19
68. Barbul A, Purtill WA. Nutrition in wound healing. *Clinics in Dermatology*, 1994;12:133-140
69. Irvin TT, Hunt TK. Reappraisal of the healing process of anastomosis of the colon. *Surgery Gynecology & Obstetrics*, May 1974;138:741-746
70. Kiyama T, Efron DT. Effect of nutritional route on colonic anastomotic healing in the rat. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 1999;(4):441-445
71. Mastboom WJB, Hendricks T. Collagen changes around intestinal anastomoses in germ-free rats. *British Journal of Surgery*, 1989;76:797-801
72. Martens MF, Hendricks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat:differences between small and large bowel. *Gut*, 1991;32:1482-1487
73. Thomas T, Irvin MB. Effect of malnutrition on colonic healing. *Annals of Surgery*, November 1974;180 (5):765-772
74. Kiyama T, Onda M. Effect of early postoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis in rats. *Dis Colon Rectum*, October 2000;854-858
75. Higgins GA, Conn JH. Preoperative radiotherapy for colorectal cancer. *Annals of Surgery*, May 1975;181:624-631

76. Cummings BJ. Adjuvant radiation therapy for colorectal cancer. *Cancer*, September 1992;70(5):1372-1383
77. Folkesson J, Birgisson H, Pahlman L, et al. Swedish Rectal Cancer Trial: long lasting benefits from radiotherapy on survival and local recurrence rate *J Clin Oncol* 2005;23:5644-5650
78. Wong PK, Tandan V, De Silva S, et al. Preoperative radiotherapy and curative surgery for management of localized rectal carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 Apr 18;(2): CD002102
79. Kapitejin E, Krenanbarg EK, Setup WH, et al. Total mesorectal excision with or without preoperative radiotherapy in the treatment of primary rectal cancer. Prospective randomised trial with standart operative and histopatological techniques. Dutch Colorectal Cancer Group. *Eur J Surg* 1999; 165:410-420
80. Sebag-Montefiore D, Stephens RJ, Steele R, et al. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradioteherapy in patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016: a multcentre, randomised trial. *Lancet* 2009;373:811-820)
81. Bosset JF, Collette L, Calais G, et al. EORTC radiotherapy Group Trial 22921. Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer *N Engl J Med*. 2006 ;355:1114-1123
82. Gerard JP, Conroy T, Bonnetain F, et al. Preoperative radiotherapy with or without concurrend fluorouracil and leucovorin in T3-4 rectal cancers : result of FFCD 9203. *J Clin Oncol* 2006;24:4620-4625
83. Goligher JC, Graham NG. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *British Journal of Surgery*, 1970;57:108-118
84. Friedmann P, Garb JL. Intestinal anastomosis after preoperative radiation therapy for carcinoma of the rectum. *Surgery, Gynecology & Obstetrics*, March 1987;164:257-260
85. Pahlman L, Glimelius B. Pre or postoperative radiotherapy in rectal and rectosigmoid carcinoma. *Annals of Surgery*, February 1990:187-195
86. Morgenstern L, Sanders G. Effect of preoperative irradiation on healing of low colorectal anastamozis. *The American Journal of Surgery*, February 1984:147:246-249
87. Stevens KR, Fletcher W. Anterior resection and primary anastamozis following high dose preoperative irradiation for adenocarsinoma of the recto-sigmoid. *Cancer*, May 1978;41.2065-2071

88. Seifert WF, Wobbes T. Intraoperative irradiation delays anastomotic repair in rat colon. *The American Journal of Surgery*, september 1995:170:256-261
89. Dominguez JM, Jakate SM. İntestinal anatomotic healing at varying times after irradiation. *Journal of Surgical Research*, 1996:61:293-299
90. Reed PW, Garb JL. Long term results and complications of preoperative radiation in the treatment of rectal cancer. *Surgery*, February 1988:103(2):161-167
91. Wellwood JM, Jackson BT. The intestinal complications of radiotherapy. *British Journal of Surgery*, 1973:60(10):814-818
92. Kuzu MA, Köksoy C. Effects of preoperative fractioned irradiation on left colonic anastomosis in the rat. *Dis Colon Rectum*, March 1998:41(3):370-376
93. Hasegawa M., Hironori F., Yutaka H., et al. Autologous amnion graft for repair of myelomeningocele: Technical note and clinical implication. *J. Clin. Neuroscience*. 2004:11(4): 408-11.
94. Tosi Gm., Giordano Mm., Caporossi A., et al. Amniotic membrane transplantation in ocular surface disorders. *J. Cellular Physiology*. 2005: 202: 849-51.
95. Yan G., Ai G., Su Y. The advances in the application of amniotic membrane stroma in promoting tissue repair. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. Dec 2002: 19(4): 676-679.
96. Alkan Z. Yara iyileşmesinin plasenta kullanımı ile hızlandırılması. *A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* 1987: 34(3): 519-533.
97. Goto Y. Noguchi Y., Nomura A., et al. In vitro reconstruction of the tracheal epithelium. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 1999: 20: 312-318.
98. Azuara Ba., Pillai Ct., Dua Hs. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *J. Reconstr. Microsurg*. Mar 2004: 10(2): 155- 9.
99. Rouher N., Pilon F., Dalens H et al. İmplantation of preserved human amniotic membrane for the treatment of shield ulcers and persistent corneal epithelial defects in chronic allergic keratoconjunctivitis. *J. Fr. Ophthalmol*. Dec 2004:27 (10): 1091-97
100. Tosi Gm., Traversi C., Schuerfeld K., et al. Amniotic membrane graft: Histopathological findings in five cases. *J. Cellular Physiology*. 2005: 202: 852- 57
101. Sankar V., Muthusamy R. Role of human amniotic epithelial cell transplantation in spinal cord injury repair research. *Neuroscience*. 2003: 118: 11-17.

102. Demirkan F., Çolakoglu N., Herek Ö., et al. The use of amniotic membrane in flexor tendon repair: An experimental model. *Arch. Ort. Trau. Surg.* Sep 2002; 122(7): 396-9.
103. Özgenel G, Filiz G. Combined application of human amniotic membrane wrapping and hyaluronic acid injection in epineurotomy rat sciatic nerve. *J. Reconstr. Microsurg.* Feb 2004; 20(2): 153-7.
104. Özçelik A, Yavuz E. Biyolojik Greft Materyalleri: Amnion Membran Grefti. *Veteriner Cerrahi Dergisi* 2006, 12 (1-2-3-4), 68-72
105. De Roy van Zuidewijn DB, Schillings PH, Wobbes T, et al. Histologic evaluation of wound healing in experimental intestinal anastomoses: effects of antineoplastic agents. *Int J Exp Pathol* 1992;73:465–84.)
106. Terzi C, Sevinc AI, Kocdor H, Oktay G, Alanyali H, Kupelioglu A, et al: Improvement of colonic healing by preoperative rectal irrigation with short-chain fatty acids in rats given radiotherapy. *Dis Colon Rectum* 2004;47:2184–2194.
107. Forde KA, McLarty AJ, Tsai J., et al. Murphy's Button revisited. Clinical experience with the biofragmentable anastomotic ring. *Ann Surg.* 1993 January; 217(1): 78–81.
108. Wullstein C, Gross E. Compression anastomosis (AKA-2) in colorectal surgery: results in 442 consecutive patients. *Br J Surg* 2000; 8: 1071-5.
109. Rosati R, Rebuffat C, Pezzuoli G. A new mechanical device circular compression anastomosis. Preliminary results of animal and clinical experimentation. *Ann Surg* 1988; 207: 245-52
110. Jansen A, Brummelkamp WH, Davies GA et al. Clinical applications of magnetic rings in colonic anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 1981;153:537-45.
111. Hjortrup A, Nordkild P, Kiaergaard J et al. Fibrin adhesive versus sutured anastomosis: a comparative intraindividual study in the small intestine of pigs. *Br J Surg* 1986; 73: 760-1.
112. Waninger J, Kauffmann GW, Shah IA et al Influence of the distance between interrupted sutures and the tension of sutures on the healing of experimental colonic anastomoses. *Am J Surg* 1992;163:319–323

113. Weiber S, Jiborn H. Preoperative irradiation and colonic healing. *European Journal of Surgery*, 1994;160:47-51
114. Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;123:303–312
115. <http://saglik.gov.tr/TR/belge/1-560/organ-ve-doku-nakli-hizmetleri-yonetmeligi.html>



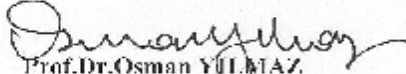
Toplantı No : 01/14/2011
Toplantı Tarihi : 08 Temmuz 2011

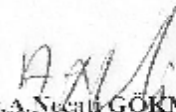
Sn.Dr.Baha ASLAN
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

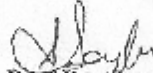
38/2011 Protokol No'luç Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı doktorlarından Dr.Baha ASLAN'ın yürüttüğü olduğu "Kolorektal radyoterapi uygulanmış olan ratlarda rezeksiyon anastomoz sonrası kolorektal anastomoz üzerine kaplanan biyolojik materyal olarak amniyotik membranın iyileşme formasyonu üzerine olan etkisinin incelenmesi" isimli projide; proje başlığının yeniden düzenlenerek gönderilmesi gerekmektedir.

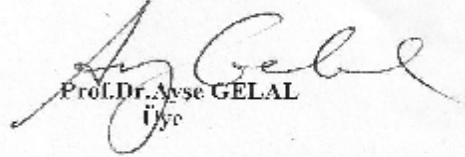
Projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.


Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

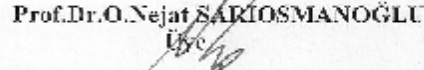

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı

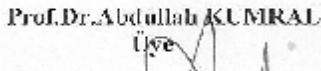

Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı

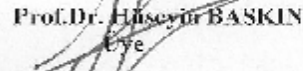

Prof.Dr. Alper SOYLU
Üye

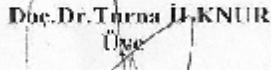

Prof.Dr. Ayşe GELAL
Üye

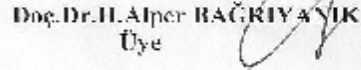

Prof.Dr.Selman SOKMEN
Üye

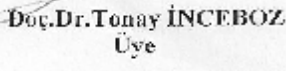

Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye

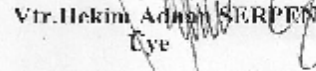

Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye

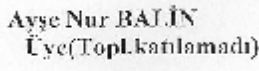

Prof.Dr. Hüseyin BASKIN
Üye

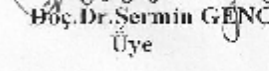

Doç.Dr.Thurna İLKNUR
Üye


Doç.Dr.H. Alper RAĞRIYAYIK
Üye


Doç.Dr. Tonay İNCEBOZ
Üye


Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye


Ayşe Nur BAJIN
Üye(Topl.katılmadı)


Doç.Dr.Sermin GENC
Üye