

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

**DENEYSEL İSKEMİK SOL KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE
RESVERATROLÜN
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr.Hüseyin BAYRAK

**UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK
2012**

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

**DENEYSEL İSKEMİK SOL KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE
RESVERATROLÜN
ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr.Hüseyin Bayrak

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Güldeniz Karadeniz Çakmak

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ZONGULDAK
2012

TEZ ONAY TUTANAĞI

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

Tez Başlığı : Ratlarda İskemik ve Normal Sol Kolon Anastomoz Modelinde Resveratrolün Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Hüseyin BAYRAK

Tez Savunma Tarihi: 16/07/2012

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Güldeniz KARADENİZ ÇAKMAK

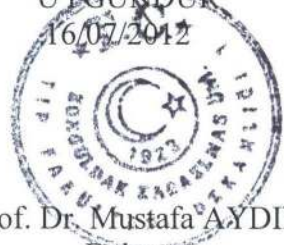

Prof. Dr. Mustafa CÖMERT
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Ali Uğur EMRE
Üye


Doç. Dr. Hamdi Bülent UÇAN
Üye


Doç. Dr. Kemal KARAKAYA
Üye


Doç. Dr. Aykut BARUT
Üye


UYGUNDUR
16/07/2012

Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan

TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca yanımda olup, her zaman benden desteklerini esirgemeyen; her türlü zorluklara göğüs gererek eğitimimi sağlayan annem Hacer Bayrak, babam Osman Bayrak'a, kardeşlerim Ayhan Bayrak, Erhan Bayrak ve eşi Zehra Bayrak'a, hayat arkadaşım eşim Sibel Bayrak, kızım Melike Bayrak ve oğlum Egemen Bayrak'a sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Tezimin tüm sürecinde desteğini, emeğini, güler yüzünü esirgemeyen hocam Doç. Dr. Güldeniz Karadeniz'e özellikle teşekkür ederim.

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

Tezimin hazırlanmasındaki desteklerinden ötürü Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Sükrü Özdamar'a ve Doç. Dr. Sibel Bektaş'a, Biyokimya Anabilim Dalından Doç. Dr. Murat Can'a, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu ve Yrd. Doç. Dr. Özge Paşaoğlu'na, ZKÜ Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Yrd. Doç. Ebru Ofluoğlu Demir'e, Biyoistatistik Anabilim Dalından Öğretim görevlisi Çağatay Büyükküstün'e şükranlarımı sunarım.

Ayrıca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum ve tezime yardımda bulunan arkadaşım Dr. Muzaffer Önder'e, beraber çalıştığım asistan arkadaşlarım Dr. Serap Çağlayan Çabalak, Dr. İlhan Taşdöven, Dr. Ufuk Tali, Dr. Onur Merdivan, Dr. Demet Sümer, Dr. Murat Yülüklü, Dr. Erkan Aksoy, Dr. Metin Varlı, Dr. Sait Tayfun, Dr. Selçuk Özkan'a, ameliyathane, servis hemşire ve personeline asistanlığım süresince göstermiş oldukları anlayış ve hoşgörülerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Bayrak H., Deneysel iskemik sol kolon anastomozunda resveratrolün anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi . Zonguldak 2012.

Anastomoz kaçakları gastrointestinal sistem cerrahisinin en korkulan komplikasyonlarıdır. Günümüzde her türlü cerrahi, teknik ve medikal gelişmeye karşın anastomoz kaçağının yüksek mortalite ve morbidite oranları araştırmacıları iyileşmeyi pozitif yönde etkileyebilecek ajanlar üzerinde çalışmaya yönlendirmiştir. Resveratrol (RSV;3,5,40-trihidroksi-trans-stilben) üzüm kabuğu ve kırmızı şarapta bulunan doğal polifenolik bir bileşik olup antioksidatif, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, antikanserojenik, antimutajenik, kardiyoprotektif ve nöroprotektif etkileri olan bir ajandır. Çalışmamızın amacı oral RSV uygulamasının iskemik ve normal sol kolon anastomozlarında iyileşmeye olan muhtemel etkisinin incelenmesidir.

Seksen beş adet erkek Wistar albino cinsi rat randomize olarak, her biri 10'ar denekten oluşan sekiz grup ile 5 denek içeren sham grubuna ayrıldı. Deneklere normal şartlar altında ve iske mi modelinde sol kolon anastomozu uygulanarak orogastrik yolla RSV verildi. Gruplar ameliyat sonrası 4. ve 7. günlerde sakrifiye edilerek anastomoz iyileşmesi, patlama basıncı, doku hidroksiprolin düzeyi, biyokimyasal inceleme ve histopatolojik parametreler kullanılarak değerlendirildi.

RSV uygulamasının hem 4 hem de 7. günde iskemik ve normal ortamda patlama basınçları ve doku hidroksiprolin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artışa yol açtığı görüldü ($p<0.05$). Biyokimyasal analizde RSV uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte SOD düzeylerinde artış ve MDA değerlerinde düşüş eğilimi yarattığı görüldü. Histopatolojik incelemede RSV uygulamasının normal anastomoz sonrası 4. günde inflamasyonu anlamlı düzeyde azalttığı, iskemik anastomoz uygulanan grupta ise inflamasyon ve mukozal iske mi skorunu anlamlı düzeyde düşürdüğü görüldü($p<0.05$). Gruplar ameliyat sonrası 7. gün özellikleri açısından incelendiğinde, normal anastomozlu grupta RSV'nin inflamasyon ve notrofil oranında anlamlı düşüş oluşturduğu, iskemik anastomoz modelinde ise inflamasyon, notrofil oranı ve mukozal iske mi skorunu anlamlı düzeyde azalttığı bulundu ($p<0.05$).

Çalışmamız sonucunda oral RSV uygulamasının normal ve iskemik koşullar altında patlama basınçları, anastomotik hidroksiprolin düzeyleri ve histopatolojik parameterelere olumlu etki yaparak anastomoz iyileşmesini arttırdığı görülmüştür. Doku koruyucu etki mekanizmasının ortaya konabilmesi, doza bağlı değişikliklerin incelenebilmesi ve neovaskülarizasyon, inflamasyon, kollajen metabolizması iskemi ve iyileşmenin potent hücreleri üzerinde oluşturduğu olumlu etkiye neden olan hücresel olayların aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: anastomoz, resveratrol, iskemi, kaçak

SUMMARY

Bayrak, H., Healing effect of the resveratrol on experimental ischemic left colon anastomosis. Zonguldak 2012

Anastomotic leakage is one of the most feared complications in gastrointestinal system surgery. Today, despite all kinds of surgical, technical and medical improvement, the high mortality and morbidity rates have directed researchers to work on agents that could affect the recovery in positive way.

Resveratrol (RSV; 3,5, 40-trihidroksi-trans-stilben) which is present in red grape peel and red wine, is a natural polyphenolic compound that has antioxidation, antiinflammatory, antifungal, anticancer, antimutagenic, cardioprotective and neuroprotective effects.

The aim of the study is to examine the possible effects of the oral RSV application on healing of normal and ischemic left colon anastomosis.

Eighty-five male Wistar albino rats are divided in 8 groups consisting of 10 rats and a sham group with 5 rats.

A left colonic anastomosis is performed in all subjects either in normal or ischemic conditions and RSV is given through orogastric way.

On the 4th and 7th groups are sacrificed for the evaluation of bursting pressure, anastomotic healing, tissue hydroxyproline levels, biochemical and histopathological parameters.

It is observed that RSV application in ischemic and normal anastomosis caused a statistically significant increase in bursting pressure and hydroxyproline levels on both 4th and 7th days ($p < 0.05$).

Although the RSV application is not statistically significant in biochemical analysis, a trend causing an increase in SOD level and decrease in MDA values were observed.

RSV application has significantly reduced the inflammation in the normal anastomosis group on the 4th day and a meaningful decrease in inflammation and mucosal ischemia has been observed in ischemic anastomosis group. ($p < 0.05$).

On the 7th day after surgery, a significant decrease has been observed in inflammation and neutrophil ratios in regular anastomosis group with RSV and it resulted in a significant decrease in inflammation, neutrophil ratio, and mucosal ischemia score in ischemic anastomosis model ($p < 0.05$).

As a result of our study, it has been observed that the oral RSV application under normal and ischemic conditions has a positive effect on anastomotic healing by a positive impact on the levels of hydroxyproline and histopathological parameters.

Further studies are needed to understand the tissue protective-effect mechanism, the effect of dose, the cellular activities causing the positive recovery effects on potent cells, collagen metabolism, ischemia, inflammation and neovascularization.

Key words: anastomosis, resveratrol, ischemia, leakage

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
RESİMLER	xii
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar.....	xiv
GRAFİKLER.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kolon Anatomisi	3
2.2. Rat Kolon Anatomisi.....	6
2.3. Yara İyileşmesi	7
2.3.1. Yara İyileşmesinin Prensipleri	8
2.3.1. a-Hemostaz ve İnflamatuar Faz.....	9
2.3.1. b-Proliferatif Faz.....	13
2.3.1. c- Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma Fazı.....	14
2.4. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi	14
2.4.1. Gastrointestinal Sistem Anastomozlarında Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler ..	16
2.4.1.a-Lokal faktörler	16
2.4.1.b-Sistemik Faktörler	19
2.5. İskemik Hasar	22
2.5.1 Dokuda Meydana Gelen İskemik Hasar	23
2.5.2. Kolon Anastomozu ve İskemi.....	25
2.6. Bağırsakta Anastomoz İyileşmesini İnceleme Yöntemleri	26
2.6.1. Anastomoz İyileşmesinin Değerlendirilmesi.....	26
2.7. Resveratrol.....	27
2.7.1. Resveratrolün Organlar ve Sistem Üzerine Etkileri	30
2.7.1.a- Kardiyovasküler Sisteme Etkileri	30

2.7.1.b- Antioksidan Etkileri.....	32
2.7.1.c- Antitrombosit Etki	34
2.7.1.d- Anjiyogenezise Etkileri.....	38
2.7.1.e- Antikanserojen Etkileri	39
2.7.1.f- Antiinflamatuvar Etkileri.....	40
3. MATERYAL VE METOD	43
3.1.Çalışma Grupları.....	43
3.2. Cerrahi İşlem.....	44
3.3. Sakrifikasyon	45
3.4. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü.....	46
3.5. Biyokimyasal İnceleme	46
3.6. Histopatolojik İnceleme.....	47
3.7. İstatiksel Değerlendirme.....	50
4. SONUÇLAR.....	51
4.1. Anastomoz Patlama Basıncı Değerleri.....	51
4.2. Biyokimyasal Değerlendirmeler	52
4.3. Histopatolojik Değerlendirme.....	56
5.TARTIŞMA.....	63
6. SONUÇ.....	69
7. KAYNAKLAR	70
EKLER	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Arişidonik asit
ADP	Adenozin-5/ difosfat
AGEP	Advanced glycation end-products
AKT	Protin kinaz B
ATP	Adenozin trifosfat
Ca +2	Kalsiyum
COX	Siklooksijenaz
cm	Santimetre
CRP	C reaktif protein
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
eNOS	Endotelial nitrik oksit sentaz
ET-1	Endotelin-1
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
5-FU	5-Flurasil
Gib	Glikoprotein 1 b
GIS	Gastrointestinal sistem
H&E	Hematoksilen & Eozin
HIF-1 alfa	Hypoxia-inducible factor 1 alfa
H2O2	Hidrojen peroksit
ICAM	İnterselüler adezyon molekülü
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
IL	İnterlökin
IMA	İnferior mezenterik arter
kg	Kilogram
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
L-NNA	L-NG-Nitroarginine
LPS	Lipopolisakarit

LTB-4	Lökotrien B-4
JNK	Jun N-terminal kinases
MDA	Malonaldehit
mmHg	Milimetre civa
MMP	Matriks metalloproteinaz
mRNA	Mesanger ribonükleik asit
NADPH	Nikotin amid adenine dinukleotit fosfat
NAP	Nötrofil aktive edici peptit
NF- κ B	Nükleer faktör kappa Beta
NO	Nitrik oksit
OH	Hidroksi
PAF	Platelet aktive edici faktör
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PF4	Platelet faktörü 4
PKC	Proteinkinaz c
PI3-K	Fosfoinositid 3 kinaz
PMNL	Polimorfnükleer lökosit
POG 4	Postoperatif gün 4
POG 7	Postoperatif gün 7
PPAR-gama	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
RSV	Resveratrol
SMA	Superior mezenterik arter
SOD	Süper oksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen Radikalleri
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
TEA	Tetraetilamonyum
TGF- β	Transforming growth factor β
TF	Doku Faktörü
TNF	Tümör nekrotizan faktör
TxA2	Tromboksan A2
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VCAM-1	Vasküler adezyon molekülü
vWF	Vonwillabrand faktör
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein

RESİMLER

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Rat sol kolon anatomisi	45
4.1 Epitel tabakasının ılımlı biçimde eleve olması.....	57
4.2 Pog 7 iskemik anastomozlu denek histopatolojik görüntüsü.....	57
4.3 Pog 4 iskemik anastomozda saptanmış olan lamina propria ile birlikte villusun kaybı.....	58

ŞEKİLLER

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kolonun kısımları.....	3
2.2 Kolonun arterleri	5
2.3 Rat sindirim sistemi.....	7
2.4 Yara İyileşmesinin dönemleri ve fizyopatolojisi	9
2.5 Yara iyileşmesi.....	11
2.6 Trans-resveratrolun kimyasal yapısı	28
2.7 Ateroskleroz oluşumunun başlangıcında Resveratrolun etkileri	35
2.8 İlerlemiş aterosklerotik lezyon oluşumunda resveratrolun etkileri.....	36
2.9 Resveratrolün hücre içi sinyal yollarına etkisi.....	37

TABLÖLAR

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.....	22
3.1 Chiu ve arkadaşları tarafından önerilen mukozal iskemi skalası	47
3.2 Anastomotik yara iyileşmesi, granülasyon dokusu gelişimi ve lokal inflamatuvar cevabın histolojik değişikliklerin incelendiği parametrelerin skorlaması.....	48
4.1 Grupların anastomoz patlama basınçları(mmHg)ve P değerleri	51
4.2 Hidroksiprolin ortalamaları ve standart sapmaları	53
4.3 Gruplara göre ALT AST değerleri ve standart sapmaları	54
4.4 Grupların histopatolojik sonuçları ve istatiki karşılaştırmaları.....	60

GRAFİKLER

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Grupların anastomoz patlama basınç(mmHg) grafiği	52
4.2 Gruplara göre ortalama hidroksiprolin değerleri	54
4.3 Gruplara göre alt ast oranları	55
4.4 Gruplara göre standart sapmaları ile birlikte sod mda oranları.....	55
4.5 Gruplara göre chiu skorlaması ortalama değerleri	58
4.6 Gruplara göre fibrozis oranları.....	59
4.7 Gruplara göre iskemi oranları	61
4.8 Gruplara göre neovaskülerizasyon ortalama değerleri	61
4.9 Gruplara göre inflamasyon ortalama oranları	62
4.10 Gruplara göre nötrofil ortalama oranları	62

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolorektal cerrahide, anastomoz kaçakları morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni olarak görülmektedir (1,2). Günümüzde anastomoz tekniği, gelişmiş donanım ve hasta faktörlerindeki iyileşmelere rağmen özellikle kolorektal anastomoz kaçakları rölatif olarak yüksek oranlarda görülmekte ve yoğun fekal içerik ile mikrobiyal yük korkutucu sonuçlar doğurabilmektedir (6,7). Gastrointestinal sistem cerrahisinde anastomoz kaçağı oluşmasına en uygun bölüm kolon olarak tanımlanmaktadır (19). Kolonik arterler arasındaki bağlantıların azlığı ve içerdiği zengin bakteriyel flora, yapılan cerrahi müdahaleler sonrasında kaçak oluşmasını kolaylaştırıcı faktörler olarak tanımlanmaktadır (3,4,5).

Anastomoz komplikasyonları doğrultusunda gelişen morbidite hasta konforunu azaltması, hastanede yatış süresini uzatması ve ek tedavi ihtiyaçları nedeniyle hasta kaybına neden olmaması halinde çok yüksek maliyet oluşturmaktadır. Kolon anastomozlarının neden olduğu komplikasyonları önleyebilmek amacıyla gününüze dek pek çok yöntem ve tedavi denenmiş olmasına rağmen, anastomoz kaçak oranları değişik serilerde %5-50 arasında bildirilmektedir (10,11,12,13,14). Anastomoz kaçağının önlenmesi adına üzerinde durulması gereken en önemli nokta iyileşme sürecini olumlu ya da olumsuz yönde etkileyen faktörlerin doğru olarak anlaşılması ve gereken müdahalenin uygun zaman ve ortamda tatbik edilmesidir. Anastomoz iyileşmesinin düzgün ve komplikasyonsuz gerçekleşmesi yara iyileşme süreçlerinin düzgün sıra ve zaman aralıklarında oluşmasıyla mümkündür. İyileşme, hasta bağımlı lokal ve genel faktörlerin yanı sıra cerrahi teknik, ameliyat esnasında antisepsi kurallarına tam olarak uyulması, doğru cerrahi mateyallerin kullanılması ve dokuya titizlikle yaklaşılmasını gerektirir. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler içinde enfeksiyon, anastomozun kanlanması, anastomozun gerginliği, kullanılan dikiş materyelleri ve cerrahi teknik gibi lokal faktörlerin yanı sıra yaşlılık, sepsis, malnutrisyon ve steroid kullanımı gibi sistemik faktörler de sayılabilir. Anastomoz iyileşmesinde etkili olduğu düşünülen diğer faktörler anastomozun lokalizasyonu (sol-sağ kolon), operasyon tipi, obstrüksiyon varlığı ve operasyonun acil veya elektif olması olarak sıralanabilir (21,26). Lokal enfeksiyon ve sepsis anastomoz kaçaklarının en önemli sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (15). Bununla birlikte kolon anastomoz iyileşmesinde doku kanlanması ve oksijenizasyonunun çok önemli

olduğu gösterilmiştir (16,17,18). Kolonda dikiş hattının iyileşmesinde doku vaskülarizasyonu ve oksijenizasyonu primer faktörlerdir (20,21).

İskemi anastomoz kaçaklarında en önemli etkenlerden biri olarak gösterilmektedir (22,23). İskemik yaranın zor iyileştiği ve kolayca enfekte olduğu bilinmektedir (23,24). Normal şartlar altında ameliyat esnasında iskemik hasarı önlemek veya azaltmak amacıyla uygulanan anastomozun kan akımının tam olarak sağlanması hedeflenir. Yeterli oksijenizasyon uygun yara iyileşmesi, nötrofillerin normal oksidatif fonksiyonu, lökosit aktivasyonu, fibroblast üretimi, anjiyogenezis ve reepitelizasyon için vazgeçilmezdir (27,28). Anastomoz iyileşmesinde yeni doku teşekkülünün sağlanması amacıyla gerçekleşen kollajen sentezi oksijene bağımlı bir basamak olup anastomoza kan akımının azalması oksijenizasyonu azaltıp kaçaklara yol açabilmektedir (8). Diğer taraftan iskemik bağırsağın reperfüzyonu oluşan serbest oksijen radikalleri ve oksidatif strese bağlı olarak iskemi nedeniyle oluşan hasardan daha fazla zarar verebilmektedir (25,26).

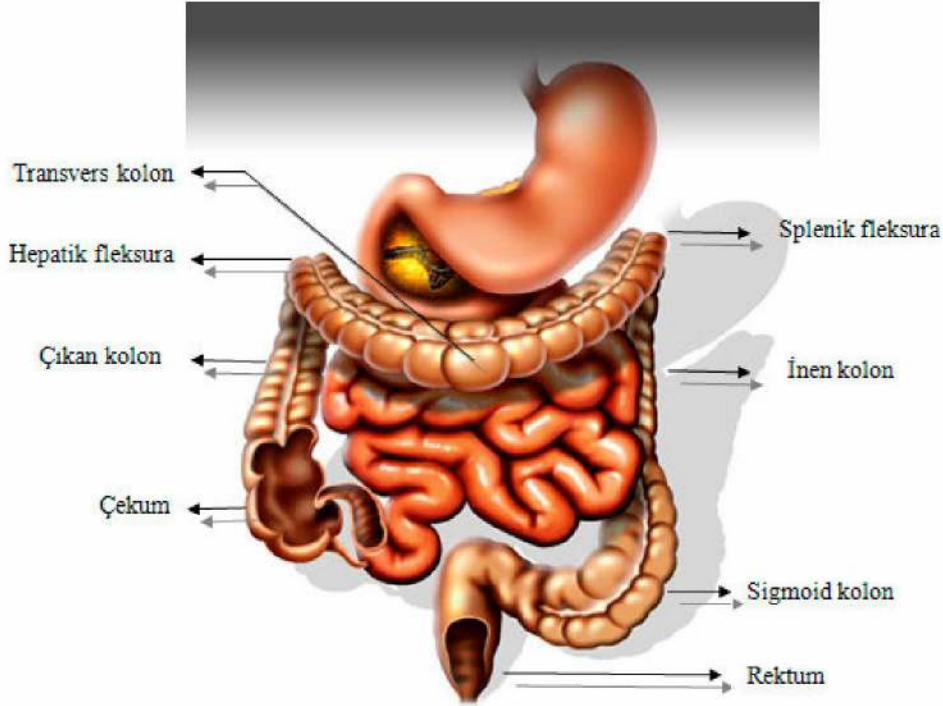
Özellikle iskemik ve riskli anastomozlarda kaçak ihtimali daha yüksek olduğundan iskemik etkileri giderme potansiyeline sahip ajanlar deneysel çalışmalarda sık olarak denenmektedir. Resveratrol (3, 4, 5-trihidroksi-stilben), kırmızı üzüm yaprak, tane kabuğu ve çekirdeğinde yüksek miktarda sentezlenen, fitoaleksinin özelliği gösteren, doğal polifenolik stilben grubu bir bileşiktir. Antioksidasyon, antiinflamasyon, antifungal aktivite, antimutagenetik özellikler, kardiyoprotektif ve nöroprotektif etkiler gibi farklı biyolojik aktivitelere sahiptir (188,189). Deneysel kolit modelinde hasarı azalttığı ve oksidatif olayları hafiflettiği gösterilmiştir (190). Ayrıca dermal yara iyileşmesinde rejenere olan dokunun histolojik reorganizasyonunu belirgin düzeyde iyileştirdiği gösterilmiştir (30,191). Ayrıca kardiyak dokuda iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı ortaya konmuştur (29).

Deneysel kolon anastomoz modelinde RSV'nin anastomoz iyileşmesine olumlu etkisinin gösterilmiştir (30). Ancak iskemik sol kolon anastomozuna etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Biz çalışmamızda iskemik sol kolon anastomoz modelinde, eksojen RSV uygulamasının farklı zaman aralıklarında anastomoz iyileşmesine etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Anatomisi

Kalın barsaklar ileumdan anüse kadar uzanır. Ortalama uzunluğu 120-200 cm arasında değişmektedir. Başlangıçtan itibaren sırasıyla çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon ve rektumdan oluşur. İnce barsaklardan, haustra koli denilen boğumlarıyla ve dış tabakasında yer alan apendiks epiploika denilen yağ kesecikleri ile ayrılır. Kolonun longitudinal kas lifleri bir araya toplanarak tenya denilen 3 bant meydana getirir ve apendiks lokalizasyonunda birleşir (32).



Şekil 2.1. Kolonun kısımları

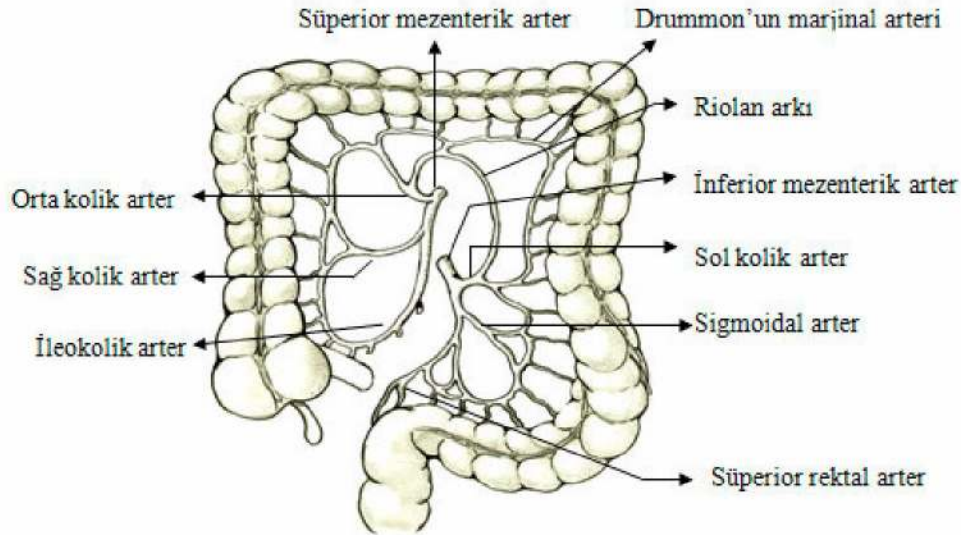
Çekum; kalın barsağın ilk parçasıdır. Boyu ortalama 4-8 cm, genişliği 6-8 cm arasında değişmektedir. İleoçekal valvin hemen üstünden geçen yatay çizginin altında kalan

kalın barsak kısmı çekum olarak adlandırılır. Çıkan kolon; çekumdan başlayıp karaciğer sağ lob alt yüzüne, fleksura kolika dextraya kadar uzanır ve 15-20 cm uzunluğundadır. Transvers kolon; kolonun en uzun ve en mobil olan kısmıdır. Fleksura kolika dextradan, flexura kolika sinistraya kadar uzanır. İnen kolon; fleksura kolika sinistradan pelvis girimine kadar uzanan kolon segmentidir. Ortalama uzunluğu 25-30 cm kadardır. Sigmoid kolon; pelvis üst açıklık hizasından başlar ve 3. sakral vertebranın ön yüzünde, rektum ile sonlanır. Ortalama uzunluğu 40 cm. kadardır ve S ekinde kıvrım yapar. Rektum; rektum 3.sakral vertebra seviyesinden başlar. Ortalama uzunluğu 12-15 cm kadardır ve anal kanala kadar uzanır. Sakrumun konkavitesine uyacak şekilde yerleşmiştir. Anal kanalın ortalama uzunluğu 2,5-4 cm kadardır (31,32,33,34).

Arteriyel Dolaşım: Sağ kolon arteriyel beslenmesini, ince barsaklar gibi, süperior mezenterik arter (SMA) sağlar. SMA, L1 seviyesinde Trunkus Çölyakus'un distalinden aortun ön yüzünden çıkar. Üç ana dal;A.kolika media, A.kolika dekstra ve A.ileokolika'dır. A.kolika media, transvers kolonu besler, yan dallar ile sağ ve sol kolik arterler arasında anastomozlar vardır. A.kolika dekstra, A.kolika media'nın SMA dan ayrıldığı yerin 1-3 cm distalinden başlar veya ileokolik arterle beraber SMA dan ayrılır. Hepatik fleksura ile beraber çıkan kolonu besler. A.ileokolika; çekumu ve apendiküler arter dal ile apendiksi besler. Kolonu besleyen arterler, arkadlar oluşturur ve bunlardan vasa rektiler, medial kolon duvarına geçerler. Vasa rektiler iki dala ayrılarak, kısa dal mezenterik yüzü, uzun dal lateral ve antimezenterik kısmı besler. İnförior mezenterik arter (İMA); Sol kolon arteriyel beslenmesini İMA den sağlar. İMA aort bifurkasyosunun 2-4 cm proksimalinden, renal arterlerin distalinden, L3 hizasında, aortun ön yüzünden çıkar. A.kolika sinistra, İMA nın ilk 3 cm. lik kısmından çıkar, yukarı ve aşağı doğru uzanan iki dala ayrılır. Üstteki dal transvers mezokolonda seyrederek ve splenik fleksurada veya distal transvers kolon hizasında A. kolika media ile anastomoz yapar. Aşağı doğru uzanan dal ise sigmoid mezokolon içinde seyrederek, inen kolonu besler ve sigmoid arterle anastomoz yapar. A.sigmoidea ise tek başına çıkabileceği gibi dallara ayrılarak da İMA den ayrılabilir. A.rektalis superior; İMA'in terminal dalıdır, S3 seviyesine kadar uzanır ve rektosigmoid bölgeyi besler. Drummond'un marjinal arteri; Kolonun mezenterik sınırını paralel olarak takip eden, barsak duvarından 1-8 cm mesafede kollaterallerden oluşur. İleokolik, sağ, orta ve sol kolik arterlerin yaptığı kemerler periferde birleşip, kolonun mezenterik sınırı boyunca uzanıp, kolona vasa rektalar verirler. Riolan kavsi; Arteriyel kemerlerden oluşan, mezenterik köke yakın yerleşimli ve İMA in A.kolika sinistrası ile SMA in A.kolika mediası arasında bulunur.

Rektum ve Anal kanalın arterleri: Bunlar; süperior, inferior ve median sakral arterlerdir. İMA in terminal dalı, A.İliaca komunis sinistra'yı çaprazladıktan sonra oluşan süperior rektal arterdir, üst ve orta rektumu besler. Orta rektal arter a.iliaca internadan çıkar. Inferior rektal arter, internal pudental arterden çıkar, öne ve mediale doğru ilerleyerek anal kanalın pektinat çizgi distalinde kalan kısmı besler. Median sakral arter, aort bifurkasyonunun hemen altında çıkar ve periton arkasından alt lomber vertebraların, sakrumun ve koksiksin ön yüzünden aşağı doğru iner. Rektum arka duvarına birkaç küçük dal verir (31,32,33,34). Şekil 2.1

Venöz Dolaşım: Kolonun venleri arterlere yandaş olarak onlara paralel dağılırlar ve aynı isimleri alırlar. Sonunda hepsi V.porta'ya dökülür. Anorektal bölgede V.pudenda interna, V.iliaca interna ve V.iliaca komunis yoluyla V.cava inferiora dökülen, V. rektalis inferior ve V. rektalis medius ile; portal venöz sisteme dökülen V. rektalis süperior arasında zengin anastomozlar vardır. Tüm anal kanal ve rektumun alt bölgesindeki bu anastomoz önemli bir portokaval anastomozdur.



Şekil 2.2. Kolonun arterleri

Lenfatik Drenaj: Kolon submukoza ve muskularis mukozada lokalize lenfatik kanallarla çevrilidir. Sirküler dizilimi lenfatikler annüler lezyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle tümörler barsağı genellikle çepeçevre sarma eğilimindedirler. Bu segmental

mimari yapı tümörlerin longitudinal intramural yayılımını sınırlar. Submukozal ve serozal zonlara dairesel ilerlemeler, annüler lezyonlarla sonuçlanır. Lenfatiklerde arterleri takip eder.

1. Epikolik lenf bezleri; Küçüktür ve hemen kolon duvar üzerinde seröz membranın altında yerleşmişlerdir.

2. Parakolik lenf bezleri; Barsak duvarı ile marjinal arter arter arasında bulunurlar.

3. Mezokolik(İntermezenterik) lenf bezleri; Kolonun esas damarlar SMA, İMA boyunca uzanırlar.

4. Mezenter kökü (Principal) lenf bezleri: Süperior ve inferior mezenterik arter kökü etrafındaki ve aortik düğümler ile sol lomber düğümleri içerir.

Rektum ve anal kanal lenf yolları, biri pektinat çizginin üstünde, biride altında olmak üzere iki duvarında plexus oluşturur. Üst plexus, arka rektum düğümlerinden süperior rektal arter boyunca bir düğüm zincirine ve İMA boyunca aortik ganglionlara drene olur. Orta ve inferior rektal arteri takip eden lenf ganglionlar ise hipogastrik ganglionlara ve pelvis yan duvarlarında iliaca interna lenf ganglionlarına drene olur. Rektum alt, anal kanal ve perineal derinin lenfatik drenaj her iki taraf inguinal lenf bezleri ve A.iliaca interna etrafındaki lenf bezlerine doğru olmaktadır (31,32,33,34).

2.2. Rat Kolon Anatomisi

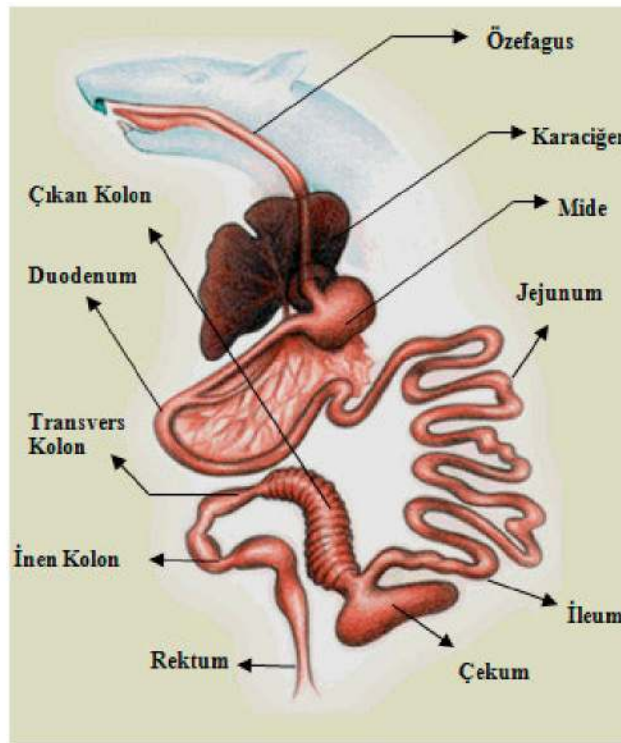
Araştırmalarda kullanılan ratlar, *rattus norvegicus*'tan köken almıştır. Deneysel amaçlı ilk rat soyu Philadelphia'da Wistar Enstitüsü'nde geliştirilmiştir. Şu an araştırmalarda kullanılan inbreed soyların pek çoğu da bu Wistar albino soyundan köken almıştır. Rat, farelerden sonra araştırmalarda en çok kullanılan omurgalı hayvandır. Boyları kuyruk dahil 20-25 cm kadardır. Anatomileri genel olarak farelere benzer. Mide gövdenin orta hattının solunda karaciğerin üstünde ve geride bulunur, karaciğere ligamentum gastrohepatica ile bağlıdır. Mide geride ve aşağıda pankreas ile kolona dayanır. Dalak midenin yanındadır. Ratlarda safra kesesi bulunmamaktadır.

Rat midesinde sınırlayıcı kıvrımla ayrılan nonglandüler ve glandüler bölümler vardır. Nonglandüler ön-midede özefagusa benzeyen bir astar bulunur. İnce bağırsak uzunluğu ve iletim süresi ratın yaşına göre değişiklik gösterir. Büyük bir çekumları vardır ve selülozun sindirimi burada gerçekleşir. Çekum ince duvarlıdır, yatay düzleminin tepe noktasında lenf

çıkıntıları bulunduran, virgül şekilli kese bölgesi bulunmaktadır. Rat çekumunda lümeni apikal ve baziler bölümlere ayıran bir daralma vardır. Lenf dokusu insanlarda bulunan vermiformapendiks gibi düşünülebilir.

Kolonun; çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon olmak üzere üç bölümü vardır. Çıkan kolon bölümünde mukozal kıvrımlar oblik iken, transvers ve inen kolonda longitudinal uzanımlıdır (35).

Rektum, gastrointestinal alanın pelvik kanal içinde bulunan kısmıdır. Ratların yem ve su ihtiyaçları farelerde olduğu gibidir. Beslenmeleri genellikle gece şekillenir. Bulabildikleri gıda veya gıda olmayan her şeyi yeme eğilimleri vardır (35).



Şekil 2.3. Rat sindirim sistemi

2.3. Yara İyileşmesi

Cilt ve mukozayı oluşturan yapıların farklı nedenlerle bütünlüğünün bozulması ya da kaybı ile var olan fizyolojik özelliklerin geçici veya tamamen kaybolmasına yara adı verilir. Yaranın iyileşmesi, yaralı dokunun yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesidir.

İyileşme süreci yaralanma anından itibaren başlar günler, aylar ve hatta yıllarca sürebilir (36,37).

Anastomoz iki ayrı oluşum arasında geçit oluşturmak, iki ayrı oluşumu ağız ağıza birleştirmek, ağızlaştırmak anlamına gelen latince bir kelimedir. Anastomoz iyileşmesinin temeline inildiğinde netice itibari ile asıl olay yara iyileşmesidir.

Ancak gastrointesinal sistemdeki yara iyileşmesi cilt ve mukozalardaki yara iyileşmesine benzer bazı sikluslardan geçsede bir takım farklılıklar içermektedir (38).

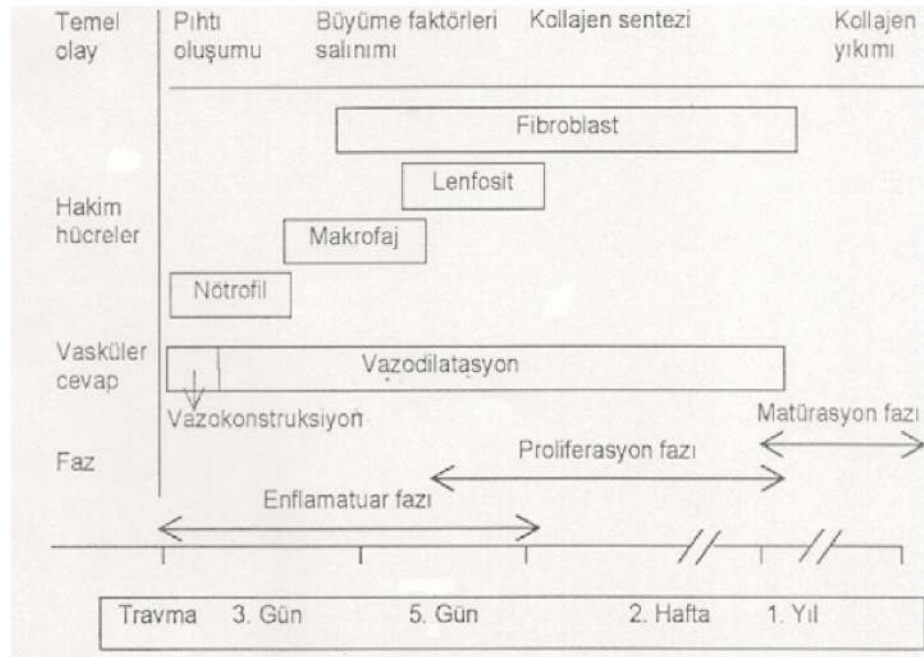
Bu farklar içinde yara çevresi ile ilgili pH, mikroorganizmalar, doku oksijenlenmesi ve stress faktörleri ile kollajen sentezleyen iyileşmede etkili hücreler yer alır. Kutanöz yara iyileşmesinde meydana gelebilecek bir aksama çoğu kez yaranın açılması sonrası enfeksiyonun tekrarlayan pansumanlarla giderilmesi ve tekrar sütürize edilmesi ile sonuçlanır. anastomoz iyileşmesinde problem gelişmesi lokalizasyona bağlı olarak hastayı hızlı bir şekilde intrabdominal sepsise sürükleyip etkin tedavinin gecikmesi halinde hasta kaybıyla sonuçlanabilmektedir.

2.3.1. Yara İyileşmesinin Prensipleri

Yaralanma, hücresel iyileşme ile sonuçlanan bir dizi organize ve kompleks biyokimyasal ve sellüler olayı tetikler. Yara iyileşmesi birbiriyle bağlantılı ve birbirini izleyen üç farklı faza ayrılır.

- a- Hemostaz ve İnflamasyon
- b- Proliferasyon
- c- Olgunlaşma ve yeniden yapılanma

Bu safhalardan herhangi birindeki gecikme veya olumsuzluk, yaranın kapanmaması veya iyileşmenin uzaması ile sonuçlanır (41).Yara iyileşme fazları ve bu fazlarda etkili hücreler ve olaylar şekil 2.4 'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Yara İyileşmesinin dönemleri ve fizyopatolojisi

2.3.1. a-Hemostaz ve İnflamatuvar Faz

Bu faz kendi içinde trombosit, granülosit ve makrofajların hakim olduğu dönemlere ayrılabilir. Yaralanmadan hemen sonra başlar, bu süreçte hemostaz oluşur ve enflamatuvar materyaller birikir (42).

Yaralanma ile doku yıkımı olur ve damar endotel bütünlüğü bozulur. Subendotelyal bağ dokusu elemanları kan ile karışır. Trombositler, glikoprotein Ib (Glb) reseptörüyle von Willebrand Faktörü'ne (vWF) ve bunun aracılığı ile subendotelyal kollajene tutunup trombosit degranülasyonunu sağlarlar. Açığa çıkan Tromboksan A2 (TxA2) güçlü vazokonstriksiyona ve trombosit agregasyonuna neden olur. Aynı zamanda travma ile aktive olan faktör XII'de (Hageman faktör) sırasıyla pıhtılaşma sistemi, kompleman kaskadı, kinin kaskadı ve plazmin oluşumunu harekete geçirir (43,44). Stres anında doku imidazol dipeptitlerinden oluşan histaminin ve trombositlerden salınan serotonin etkisi ile oluşan kapiller vazokonstriksiyon ve trombus, hemostazı sağlar.

Aktive trombositlerden PDGF (Platelet derived growth factor), TGF- β (Transforming growth factor), EGF (epitelyal growth factor) ek olarak salınan kemotaktik faktörler ile bunlara eklenen kompleman aktivasyonu ile lökosit diapedezi başlar (43,44) .

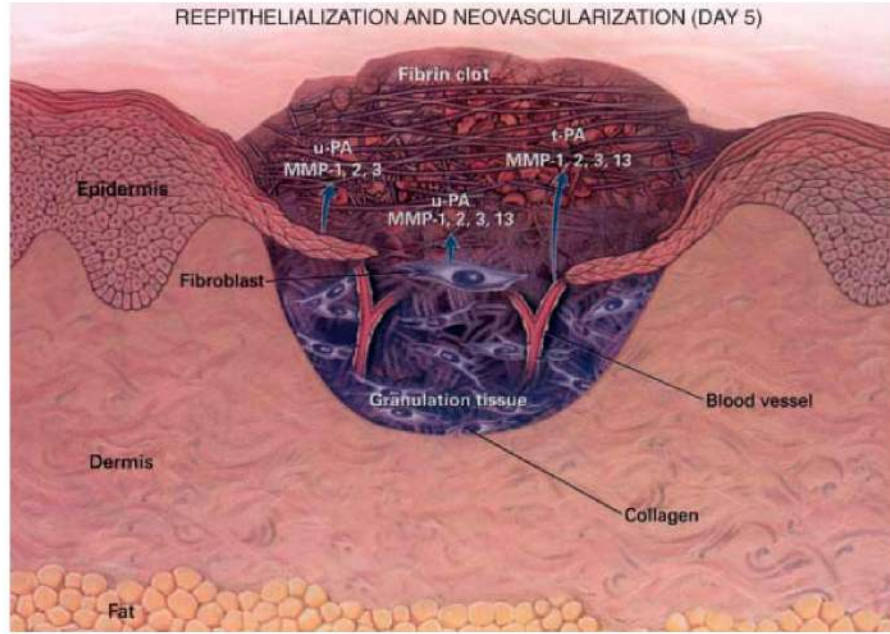
Travmada yaralanan damarlardan çıkan trombositlerin endotel altı kollejen ile teması sonucu trombositlerin kümeleşmesi başlar ve pıhtılaşma mekanizması harekete geçer. Trombositlerin kollejenle teması ve önceden ortamda bulunan trombin ve fibrinonektin, trombosit alfa granüllerinden sitokin ve büyüme faktörleri salgılanmasına neden olur (42-45).

Trombositlerden salgılanan faktörler; platelet derive growth faktör (PDGF), transformik groft faktör- β (TGF- β), platelet activating faktör (PAF), fibrinonektin ve serotoninidir. Sitokinler ise interlökin-1 (IL-1), tümör nekrozis faktör alfa(TNF α)'dır. Yaralanmadan sonra başlayan geçici vazokontrüksiyon 5-10 dakika sürer. Pıhtı oluşumu ile kanama durdurulduktan sonra, endotel hücrelerinden salgılanan histamin, Prostaglandin E2 (PGE2), prostasiklin, endotelyal büyüme faktörü ile damar geçirgenliği artar ve vazodilatasyon gelişir (45).

Yara İyileşmesinde Hemostatik ve Trombosit Kaynaklı Faktörlerin Fonksiyonları;

<u>Hemostatik faktör</u>	<u>Fonksiyon</u>
Fibrin, fibrinonektin	Koagülasyon, kemotaksis, hücre göçü
FXIII	Kemotaksis, yapışma
Kompleman	Antimikrobiyal etki, kemotaksis
<u>Trombosit kaynaklı faktörler</u>	
Sitokinler growth faktörler	Kemotaksis, mitogenez, fibroplazi
Fibrinonektin	Matris oluşumu, vazokontrüksiyon, kemotaksis
PAF, Tromboksan A2	Trombosit agregasyonu,vazokontrüksiyon,kemotaksis
Trombosit faktör 4 (PF4)	Fibroblast kemotaksisi
Serotonin	Damar geçirgenliği artışı, nötrofil kemotaksisi

İnflamasyon fazında yaralanma bölgesine ilk gelen hücreler nötrofillerdir. inflamasyonun neden olduğu artmış damar geçirgenliği, kompleman faktörler, IL-1, TNF- α TNF- β , PF-4 gibi kemotaktik maddeler nötrofil kemotaksisini uyarır. Travmayı takiben 6 saat sonra yarada görülürler, ilk üç gün boyunca hakim olan hücrelerdir. Nötrofiller nonspesifik savunma sisteminin elemanı olarak, yara yüzeyindeki ana görevi yabancı cisim ve bakterilerin fagositozu ve proteaz salınımıyla da travmadan zarar gören hücre kalıntılarının yara bölgesinden temizlenmesidir. Nötrofiller görevlerini yaptıktan sonra makrofajlar tarafından fagosit edilirler. Maksimum sayıya 1-2. günlerde ulaşırlar ve yara temizlendikten sonra 2-3. günlerde sayıları azalır (42,45). Makrofajlar sistemik dolaşımdaki monositlerden veya mevcut dokudaki mononükleer hücrelerden kaynaklanan fagositoz yapan hücrelerdir. Yaralanmanın 2-3. gününde yara yüzeyinde makrofaj hakimiyeti başlar. Makrofajlar, sadece fagositoz yapmakla kalmaz aynı zamanda çeşitli sitokin, büyüme faktörleri ve nitrik oksit sentezlerini gerçekleştirirler.



Şekil 2.5. Yara İyileşmesi

Şekil 2.5. Yaralanmadan 5 gün sonra cilt yarası. Kan damarları fibrin pıhtı içerisine uzanmakta olup aynı zamanda epidermal hücreler tekrar yüzey oluşturmaktadır.

Hücre ilerlemesinde görevli olan proteinazların hareket ettikleri yön oklarla gösterilmiştir. Matriks metaloproteinazlar (MMP) -1,2,3 ve 13 (kollajenaz 1, jelatinaz A, stromelisin 1, ve kollajenaz 3, sırayla); doku plasminojen aktivatörü (t-PA) ; ürokinaz-tipi plasminojen aktivatörü (u-PA) (Sabiston Textbook of Surgery. The Biological Basis of Modern Surgical Practice. 18 thedition. Elsevier Saunders; 2008).

Nitrik oksit sentezi hipoksik koşullarda artar. Endotelyal hücreler; fibroblast, monosit ve lenfositlerde nitrik oksit sentezini hızlandırır. Nitrik oksit sentezinin engellenmesi yara iyileşmesini geciktirir. Aktive olan makrofajlar lenfositleri aktive eder, lenfositler de interferon (IFN), TNF- α , interlökin-1 (IL-1) gibi lenfokinleri salgılar, inflamatuvar faz boyunca yara, gerilme gücüne dayanıklı değildir (42,45).

Makrofajların yara iyileşmesindeki rolü ve etki mekanizması:

Etki	Mekanizma
1-Fagositoz ve antimikrobiyal etki	Oksijen radikalleri -H ₂ O ₂ , -O ₂ , -OH Nitrik oksit
2-Yara debritleme	Fagositoz, Enzimler, kollejenaz, elastaz
3-Matris sentezi	Growth faktör -TGF- β , EGF, PDGF Sitokinler -TNFa, IL-1, INF Enzimler -kollejenaz, arjinaz Prostaglandinle-PGE2
4-Hücre aktivasyonu	Growth faktör, PDGF,TGF β ,EGF, IGF Sitokinler-TNF- α , İL-1, IL-6 ,Fibrinonektin
5-Angiogenez	Growth faktör, FGF β ,VEGF, Sitokinler -TNF- α

2.3.1. b-Proliferatif Faz

Bu fazda; fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleri etkindir. Yara gerilme gücünde belirgin bir artış meydana gelir. Fibroblastlar yara bölgesine çevre dokulardan gelir, endotelyal hücreler ise yara kenarındaki sağlam venüllerden veya anjiogenez sonucu oluşan yeni kapillerlerden ortaya çıkar. Fibroblast ve endotelyel hücrelerin proliferasyonundan, trombosit ve aktive makrofajlardan kaynaklanan sitokinler ve büyüme faktörleri sorumludur (42,45). PDGF ve EGF fibroblastların proliferasyonundan sorumlu başlıca büyüme faktörleridir. Doku kaybı olan yaralarda sıvı kaybını engellemede ve enfeksiyon oluşumuna karşı koymada epitelial hücre artışı önemlidir. Yaralanmadan birkaç gün sonra yara kenarındaki veya sağlam bölgedeki epitel, yara içine doğru proliferasyon gösterir. Yeni kapillerlerin oluşumu ile yara bölgesi pembe veya kırmızı-mor renkte görülür. Kapiller vaskülarizasyon, fibroblastların yara matrisinde kalıcı destek doku oluşturmaya yardımcı olur. Kalıcı yara matrisindeki temel yapı molekülü kollajendir. Kollajen cilt, kemik ve tüm canlı dokuların başlıca yapı proteinidir. Kollajen molekülü hidroksiprolin ve hidroksilizin hidrosilasyonundan meydana gelir. Bu amino asitlerin hidrosilasyonu ve kollajen arası bağların sağlamlaştırılması için C vitamini gereklidir. Kollajen fibrilleri arasındaki moleküller içi ve arası bağlar, yaranın gerilim kuvvetine ve sağlamlığına etki eder. Vücutta sentez edildiği bilinen 19 tip kollajen olmasına karşın yarada en yüksek oranda tip I kollajen bulunur. Skar dokusunda da en çok tip I daha az oranda tip IV kollajen bulunur (42,45).

2.3.1. c- Olgunlaşma ve Yeniden Yapılanma Fazı

Proliferasyon ve neovaskülarizasyonun sona ermesiyle yeniden yapılanma fazı başlar. Yara iyileşmesinde inflamatuvar ve proliferatif fazların iç içe oluşup geliştiği gibi yeniden yapılanma ve proliferasyon fazında da birçok olay iç içe oluşur. Proliferatif fazdan yeniden yapılanma fazına geçiş kollajenin dengeye ulaştığı süreç olarak tanımlanır. Bu faz sırasında yoğun hücrel ve yüksek vaskülaritesi olan daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusu ile replase olur. Fibroblast ve makrofajlar kaybolur. Kollajen birikimi yaralanmadan 2-3 hafta sonra en yüksek değere ulaşır. Yeniden yapılanma döneminde kollajen sentezi ve yıkımı devam eder, ama kollajen miktarı değişmez. Kollajen sentezi ile birlikte kollajen yıkımı yara matrisinin maturasyonu süresince devam eder. Kapillerlerin yoğunluğu ve fibroblastların sayısı azalır. Pembe mor görünümlü yaranın rengi soluklaşır. Gerilme kuvveti kollajen fibrillerinin yerini daha fazla moleküller arası bantlar içeren organize fibrillerin alması ile yavaş yavaş artar. Gerilme kuvveti ile kollajen fibrillerinin kalınlığı arasında doğru orantı vardır fakat epiderm hiçbir zaman eski şeklini alamaz. Skar dokusu gerilme kuvveti yaralanmadan bir haftadan sonra yaralanmamış cildin %3 'üne, 3 hafta sonra %20'sine, 3 ay sonra ise %80'ine ulaşır ve daha fazla artmaz (42,45).

Yara iyileşmesinde bütün bu safhaların sonunda yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik olan yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur. Yaralanmayla dokuda meydana gelen doku hasarının durumuna bağlı olarak iyileşme mekanizmasında değişiklik olmaksızın bu üç olayın karakterlerinde bir tanesi ön plana geçebilir; Parmak amputasyonunda kontraksiyonun, yüzeysel doku kaybında epitelizasyonun, primer sütürle kapatılan cerrahi yaralarda bağ dokusu birikiminin daha fazla olması buna örnek olarak gösterilebilir (42).

2.4. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi temel olarak tüm dokularda birbirine benzemekle birlikte GİS'de farklı bazı özellikler taşır. Normal şartlarda gerilme kuvveti barsakta cilt yaralarına göre çok daha hızlı oluşmaktadır (46). Cilt yaralarının aksine barsak yaralarında fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollajen sentezler (47). Cilt ve barsak yarasındaki fibroblastlardan kollajen sentezi farklı mekanizmalarla düzenlenir (48). Gastrointestinal kanalda; lümenin içerdiği geniş mikroorganizma havuzu, sütür hattının kapatılmasında serozanın etkisi,

hipovolemi durumunda perfüzyonu tercihli olarak azalan, mide barsak kanalına özel damarsal beslenme gibi birçok farklı özellikler mevcuttur.

GİS anatomik olarak çok tabakalı duvar yapısına sahip lümenli organlardan oluşur. En iç tabaka olan mukoza epitel, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmaktadır. Özafagus dışında epitel tüm GİS'de bazal membran üzerine oturmuş kolumnar hücrelerden oluşmaktadır. Submukoza, damarlardan ve konnektif dokudan oluşan bir tabakadır. Barsak duvarının bütünlüğünü ve mekanik gücünü bu tabaka sağlar. GİS'deki kollajenin büyük kısmı buradadır ve bunun %68'i tip I, %20'si tip III, %12'si tip V kollajendir. Ayrıca elastinde içeren submukoza yara iyileşmesindeki en önemli tabakadır. Submukozanın üzerinde muskularis propria vardır. Muskularis propria sirküler ve longitudinal kas tabakasını içerir. En dış tabakayı bağ dokusu ve mezotel hücrelerinden meydana gelen seroza oluşturur (49-50). Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi temel olarak inflamasyon, proliferasyon-fibroplazi ve olgunlaşma evrelerini içerir, ilk olarak yara dudaklarında vazokonstriksiyon gelişir, ardından vazodilatasyon, vazoaaktif maddelerin salınımı ve permeabilite artışı ile inflamasyon başlar ve yaralanmadan 3 saat sonra bölgeye nötrofiller gelir ve 12-24 saatte maksimum düzeye ulaşır, daha sonra makrofajlar ve takiben fibroblastlar yara bölgesine gelir. Makrofajlar salgıladıkları sitokinlerle inflamasyonu kontrol ederler. Düz kas hücreleri ile fibroblastların proliferasyonunu, kollojen sentezini ve ayrıca neovaskülarizasyonu uyarırlar. GİS'de yara iyileşmesinde kollojen sentezinden fibroblastların yanı sıra düz kas hücreleri de sorumludur. Yarada kollojen sentezi ile beraber proliferasyon evresine geçiş başlar (49,50,51,52). Submukoza sağlam barsaktaki gerilim kuvvetinin en önemli kaynağı ve anastomotik uçları bir araya getiren sütürlerin tutunduğu başlıca katmandır (49). Bu tabakadaki kollojen birikimi yaranın mekanik direncini ve sütürleri taşıma kapasitesini belirler (49). İyileşen sütür hattının gerilim kuvveti, nitelik ve niceliksel olarak tamir olayının düzeyini yansıtır. Yapılan bir çok çalışmada, ilk 3-4 gün içinde barsak anastomoz kuvvetinde belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir. Bunun öncelikli olarak yara bölgesindeki artmış kollejenaz aktivitesine bağlı olduğu düşünülmüş, ancak gerçekte kollojen miktarında bir azalma tesbit edilememiş, bu nedenle anastomoz kuvvetindeki düşüşün kollojen liflerinin enzimatik yapısındaki yetersizliğe bağlı olduğu kabul edilmiştir (21,53). Bir başka çalışmaya göre; yara bölgesine geçici olarak gelen nötrofillerden salınan proteazlar ve serbest oksijen radikallerinin, hücre dışı matrisde değişiklik meydana getirerek gerilim kuvvetinde azalmaya neden olduğu ileri sürülmüştür. Dördüncü günden itibaren yara bölgesinde kollojen yapımı ve birikimi belirginleşmeye başlar ve kollojen miktarındaki artışla birlikte anastomoz kuvvetinde de artış meydana gelir (53).

Proliferasyon evresinde kollojen sentezi ile birlikte yeni kapiller damarlar oluşur ve yarada biriken laktik asidin anjiogenezi uyardığı düşünülmektedir. Anjiogenez ilerledikçe yaradaki oksijen kullanımı artmaya başlar ve enerji metabolizması değişir (52-54).

Submukozada sentezlenen kollojen fibrilleri yaranın iki dudağı arasında köprüler oluşturur. Erken dönemde yara dudaklarını bir arada tutan kuvvet sütürler ise de kollojen köprülerinin artmasıyla 7-14. günlerde sütürlerin önemi kalmaz. Olgunlaşma ve yeniden yapılanma evresiyle birlikte kollojen fibrillerindeki çapraz bağlar artar. Bu evrede yara daha az hücrel bir hale gelir ve fazla sayıdaki kapillerlerin bir kısmı oküle olur, granülasyon dokusu yerini skar dokusuna bırakır. Kolon anastomozlarının mekanik dayanıklılığı 14. günde normal dokunun %45'i kadardır, 4. ayda ise %75'i düzeyine ulaşır (50-52). Mide ve ince barsakların kanlanması çok iyi olup ayrıca bakteri kolonizasyonu da azdır. Bu organların rezeksiyon ve anastomozları sonucu anastomoz sızdırması çok az görülmekte ve bir hafta sonra anastomoz yeterli sağlamlığa ulaşmaktadır. Özofagus ve kolonun kanlanması ise mide ve ince barsaklara göre daha azdır. Distal kolondaki yüksek bakteri kontaminasyonu bir yandan kollojen sentezini geciktirirken diğer yandan da kollojenaz etkisini artırarak kollojenin aşırı lizisine neden olmaktadır (55-56).

2.4.1. Gastrointestinal Sistem Anastomozlarında Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

2.4.1.a-Lokal faktörler

Anastomozun iyileşmesini etkileyen en önemli lokal faktör anastomoz bölgesinin perfüzyonu ve oksijenizasyonudur. Fibroblastların metabolizması ve proliferasyonu için oksijenizasyon gereklidir. Ayrıca kollojen molekülündeki çapraz bağların oluşumu için de oksijen gereklidir. Perianastomotik dokuda oksijen basıncı 20-25 mmHg altına düşerse yaradaki enerji metabolizması bozulur ve fibroblast proliferasyonu durur, oksijen basıncı 40 mmHg'nin altına düşmesi durumunda anastomozda kaçak olasılığı artar. Anastomoz sırasındaki doku oksijen basıncının rezeksiyondan önceki basıncın %50'sinden az olması durumunda kaçak oranını %100'e yaklaştır. Güvenli bir anastomoz için intestinal kan akımı %30'unun üzerinde olması gerekir (51, 50-52, 59).

Cerrahi teknik kolon anastomozları üzerinde etkisi araştırılan faktörlerden biridir. Kullanılan dikiş materyalleri incelendiğinde, tüm dikişlerin inflamatuvar bir cevap

oluşturduğu görülmüştür. En az inflamatuvar cevap ve bakteri kolonizasyonuna neden olan dikiş materyalinin, yara iyileşmesi açısından en avantajlı olduğu sonucuna varılmıştır.

En uygun dikişlerin monoflaman sentetik absorbe olmayan dikişler olduğu savunulmaktadır. Bu açıdan metal zımbalar kullanılan staplerlerin de oldukça avantajlı olduğu ve inflamatuvar reaksiyonun az olması nedeniyle yara iyileşmesinin hızlandığı saptanmıştır (49, 51, 52). Stapler kullanılarak yapılan anastomozların anastomoz kaçaklarını önlemede etkilidir. Klinik bir çalışmada stapler ile yapılan anastomozlarda anastomoz kaçakları %9 olarak bulunmuştur (60).

Sütür teknikleri değerlendirildiğinde, kontinü dikişlerin tek tek dikişlere göre yara kenarında daha fazla iskemi ve inflamasyona neden olduğu ve yara iyileşmesini geriletmediği saptanmıştır. Aynı zamanda kontinü dikişlerle yapılan anastomozlarda erken dönemde anastomoz darlığı daha sık görülmektedir (50-51). İnverte edilerek yapılan anastomozların eventre edilerek yapılan anastomozlara göre sağlam olduğu gösterilmiştir. Evertre edilerek yapılan anastomozların daha çok adezyona ve lokal koplikasyona sebep olduğu, sekonder olarak ve normal histolojik yapının çok daha geç olduğu bilinmektedir. Evertre edilen anastomozların tek avantajı lümenin daha geniş olmasıdır. Çift tabaka anastomozlarda, tek tabakaya göre yarada iskemi ve inflamasyon daha fazla olduğu ve iyileşmenin geciktiği gösterilmiştir. Ayrıca çift tabaka anastomozlarda lümen daha dar olmaktadır (49,51, 50-52). Ekstra peritoneal anastomozlarda tek kat yapılan anastomozun daha az kaçak riski taşıdığı (60); peritoneal refleksiyonun üzerindeki anastomozlarda tek kat veya çift kat anastomozlar arasında fark olmadığı görülmüştür (61). Bakteriyel kontaminasyon; lokal enfeksiyon ve anastomoz kaçaklarının en önemli nedenlerinden biridir(62). Kolon florasının zengin oluşu ve operasyon sırasında çevresel bulaşmaların olması lokal enfeksiyonun nedeni olarak gösterilmektedir (66). Kolondaki bakteri sayısında yükseklığe rağmen yabancı cisim bulunmadığı durumlarda anastomoz etrafında enfeksiyon oluşması nadiren görülür. Bunun nedeni peritonun koruyucu fonksiyonudur. Periton bakterileri dilüe ederek fagosite edilmelerini hızlandırır (66-67). Enfeksiyon yara dokusunda kollejenaz aktivitesini artırarak kollojen miktarında azalmaya neden olur (65-68). Enfeksiyon varlığında anastomoz çevresinde ve komşuluğundaki kolon duvarında kollojen aktivitesinde azalma görülmüştür (69).

Hematom ve yabancı cisimler özellikle ekstrapéritoneal anastomozlarda enfeksiyon riskini artırarak iyileşmeyi olumsuz etkiler (66). İlk defa Halsted peritonit oluşmasında bakterilerle beraber bulunan yabancı cisimlerin önemini göstermiştir (67). Anastomozların çevresine yerleştirilen drenlerin anastomotik yara iyileşmesine etkisi net olarak açıklanamamaktadır. Fakat anastomoz çevresine dren konulmasının morbiditeyi arttırdığı gösterilmiştir. Drenlerin, anastomoza komşu dokuların ve omentumun dikiş hattına yapışmasını engelleyerek veya enfeksiyona neden olarak anastomoz kaçak riskini arttırdığı düşünülmektedir. Drenlerin anastomozu korumadığı, çok gerekmedikçe konulmaması ve fazla yerinde bırakılmaması gerekir (49,50,70).

Ekstrapéritoneal anastomozlarda özellikle drenaj uygulaması, anastomoz çevresinde hematom oluşmasının önlenmesi açısından önerilmektedir. Bu gibi anostomozlarda anastomoz çevresinde periton bulunmadığı için ölü mesafeye yayılan bakteriler fagosite edilemezler. Anastomoz çevresinde oluşan hematom kolaylıkla enfekte olabilir. Bunun için Low anterior rezeksiyon yapılan vakalarda, 5 güne kadar antibiyoterapiye devam edilmesi, pelvis tabanının tamamen kapatılmayarak drenaj uygulanması önerilmektedir. Ekstra peritoneal anastomozların ileostomi veya kolostomi ile korunması da öneriler arasındadır (66-67).

Barsak hazırlığı kolon anastomozları öncesinde rutin olarak yapılmaktadır. Mekanik barsak hazırlığı çeşitli yöntemlerle yapılır. Bunların başlıcaları; konvansiyonel yöntem, nazogastrik tüpten izotonik veya hipertonic solüsyon verilerek yapılan barsak lavajı, oral mannitolle yapılan hazırlık, elemental diyet kullanımı, polietilen glikol ile yapılan hazırlıktır. Mekanik barsak temizliği ve antibiyotik profilaksisi ile kolorektel ameliyatların yol açtığı septik komplikasyonlar büyük ölçüde azaltılır. Acil durumlarda bazen barsak hazırlığı olmadanda anastomoz yapmak gerekmektedir. Bu durumda intraoperatif barsak temizliği anastomoz kaçacağı açısından riski azalttığı bildirilmektedir (71-72). Lokal ya da tüm vücudun radyasyona maruz kalması, yara iyileşmesinde gecikmeye yol açar. Erken lokal inflamatuvar cevap ve tüm vücutta ana hücrelerin baskılanması, diğer hızlı çoğalan hücrelerden; kemik iliği, retikulo endotelial sistem hücreleri, barsak mukoza epitelinin baskılanması durumunda cerrahi girişim yapılamayabilir. Radyasyondan 6-8 hafta sonra cerrahi yapılmalıdır. Operasyon radyasyonun lokal inflamatuvar dönemi geçtikten sonra fakat arteriyel ve kapiller damarlar üzerinde oblitere edici geç etkisi başlamadan önce yapılmalıdır (73-74).

2.4.1.b-Sistemik Faktörler

Yaş ilerledikçe anastomoza bağlı komplikasyonların da arttığı görülmektedir. Ancak deneysel olarak yaştan yara iyileşmesine direkt etkisi saptanmamıştır, ileri yaşlarda daha fazla görülen malignansilerin, malnütrüsyonun, kardiyovasküler ve pulmoner problemlerin anastomozları olumsuz yönde etkileyen asıl nedenler olduğu düşünülmektedir (49-50). Beslenme yara iyileşmesini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Özellikle uzun süreli protein malnütrüsyonunda GİS'e yara iyileşmesi gerileyebilmektedir. Vücut ağırlığının %30'unun kaybı anastomozlarda ciddi komplikasyonlara neden olabilmektedir. Deneysel çalışmalarda erken postoperatif enteral beslenmenin kolonik anastomoz yara iyileşmesini artırdığı gösterilmiştir. C vitamini kollojen sentezinde önemli olan prolinin hidroksiprolin'e çevrilmesinde rol oynar, eksikliği yara iyileşmesini etkileyebilir. A vitamininde yara iyileşmesine olumlu etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (51, 49, 50,75). Çinko eksikliğinde yara iyileşmesi gecikir ve çinko verilmesi ile yara iyileşmesinde hızlanma görülür. Bu etki proliferatif fazda görülür ve epitel hücrelerini kapsar (62).

Kan transfüzyonu yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemekte ve anastomoz kaçak oranını artırmaktadır. Bunun immün süpresyon eksikliğine bağlı olabileceği öne sürülmektedir. Kan transfüzyonu sonrası lokal enfeksiyon riski artmaktadır. Ayrıca lenfosit ve makrofajların süpresyonu yara iyileşmesinin inflamasyon evresindeki olayları olumsuz etkilemektedir (49, 76).

Hipovolemi ve anemi de yara iyileşmesini olumsuz yönde etkiler ameliyat sırasında kan volmünün %10'luk kaybı, postoperatif 3. günde kolonik ve ileokolik anastomozda anlamlı derecede kollojen azalmasına neden olur (77-78). Hipovolemiyle birlikte olmadığı sürece anemi yara iyileşmesini etkilemez. Dokuların oksijenizasyonu için kanın oksijen içeriği değil, parsiyel oksijen basıncı önemlidir. Bu nedenle anemi çok şiddetli değilse doku oksijenizasyonu ve yara iyileşmesi bozulmamaktadır (49,79-80). Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçların prostaglandin sentezini azaltarak anastomotik yara iyileşmesine olumlu etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Ancak kortikosteroid alanlarda, makrofaj fonksiyonlarının ve yara iyileşmesinin inflamasyon evresinin baskılanması sonucu postoperatif dönemde anastomotik yara iyileşmesi gerilemektedir (49, 50,51).

Kortikosteroidler nitrojen düzeyini azaltıp büyüme ve bağ dokusu metabolizmasını baskırlar. Bu etkileri kollojen sentezini ve fibroblast proliferasyonunu baskılamalarına bağıdır. Kortikosteroidler antienflamatuvar etkileri ile hücrese fonksiyonları baskılaması sonucu yara iyileşmesini geciktirirler (81- 82).

Anabolik steroidler yapılan çalışmalarda protein sentezini attırarak ve nitrojen kaybını azaltarak anabolik etki yapmakta ve yara iyileştirmesini hızlandırmaktadır (81).

Sistemik antineoplastik kemoterapi, verildiğı zamana ve doza göre yara iyileşmesini etkileyebilir. Özellikle kemoterapi kürü alınmaktayken yapılan anastomozlarda yara iyileşmesi belirgin olarak gecikmektedir, intraperitoneal kemoterapi ise yara iyileşmesini dahada olumsuz etkilemektedir. Yarada önemli rol oynayan nötrofiller, makrofajlar ve fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkinin bu durumdan sorumlu olduğı düşünölmektedir. Yapılan deneysel bir çalışmada intraperitoneal yolla verilen 5-FU'nun kolonik yara iyileşmesini bariz bir şekilde bozduğı fakat bu etkinin 5-FU ile birlikte çinko verilmesiyle geri döndürölebildiğı gösterölmöştür (49,51, 83-84). Diabet enflamasyonda rol oynayan nötrofil, makrofaj ve lenfosit fonksiyonlarının bozulmasma, fibroblast proliferasyonunu bozarak; kollojen depolanmasının azalmasına yol açmakta ve yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir (85-86). Ayrıca diabet mikrovasköler dolaşımı bozukluklarına da neden olarak kan akımının azalmasına yol açar.

Malign hastalıklar, katabolik etkileri nedeniyle yara iyileşmesini geciktirirler (87). Üremi ile birlikte renal asidozlu hastalarda, yara komplikasyonlarında ve yara iyileşmesinin gecikmesinde artış olur (62). Karaciğer fonksiyonlarında bozulma protein sentezi üzerinde olumsuz etkiler yapar ve yara iyileşmesinin bozulması ve yara enfeksiyonu gibi komplikasyonlarda artma olur (62). Son yıllarda büyüme faktörlerinin yara iyileşmesi üzerine ve diğere etkileri araştırölmöştür. Epiteiyal büyüme faktörü'nün (EGF) anastomozda makrofaj migrasyonunu ve fibroblast proliferasyonunu arttırdığı, kollojen sentezini uyardığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı saptanmış olup ayrıca EGF'nin kollejenaz aktivitesinde azaltabileceğı saptanmıştır. Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) ve interlökin -1 β 'nın da yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğı gösterölmöştür. Glukagon fosfat ile makrofaj fonksiyonlarının artması da anastomozdaki iyileşmeyi hızlandırır (49,52,63). Growth hormon verilmesinin anabolik etkisi makrofajları uyarmak ve anastomoz iyileşmesi hızlanmaktadır (81, 82, 88). Ayrıca growth hormonun anastomozdaki kollajen birikimini

attırarak anastomoz kuvvetini ve kollajen içeriğini artırdığı kanıtlanmıştır (88). GİS cerrahisinde peritonitler, kolonik anastomoz kaçaqları, peritoneal adezyonların oluşması gibi problemlerle sıkça karşılaşılır. Aşırı gram (-) bakteri kontaminasyonu peritonitli hastalarda ölümler daha sık olmaktadır. Anastomoz kaçaqları kolon cerrahisinde en yaygın ölüm nedenidir. Enfeksiyonların nedeni operasyon alanının barsak içeriği ile kirlenmesidir. Anastomoz kaçaqları kolorektal cerrahide başlıca ölüm nedenlerindendir. Cerrahin yeteneği, cerrahi teknik, anastomozun düzeyi, sigara, obezite, kötü beslenme dahil olmak üzere çeşitli faktörler anastomotik kaçaqlara neden olan risk faktörleridir. Johnson, yeni bir anastomoz gücünün, ameliyat olmamış barsak duvarının yaklaşık 2/3'ü kadar olduğunu, ilk 3 gün içinde bu gücün ameliyattan hemen sonraki değerinin yaklaşık %15'ine düştüğünü görmüş ve bunun erken postoperatif dönemde dikiş tutma kapasitesinde hızlı bir azalmayı ifade ettiğini göstermiştir. 4. günden sonra güçte hızlı bir artış kaydedilmesi, 7. günde anastomozun ameliyattan hemen sonrakinden daha güçlü olması, anastomozu köprüleyen dokuda kollejen sentez ve depolanmasına bağlanmaktadır. Bu dönemde barsak duvarı yırtılma kuvvetine direncini tekrar kazanmış durumdadır. Cronin yaptığı bir çalışmada anastomoz patlama basıncı ölçümlerinde, anastomoz yapıldıktan sonraki 3. günden itibaren uygulanacak kuvvetin giderek arttığını ve 7-10. günlerde maksimuma ulaştığını, aynı zamanda ilk 3 günde hidrokspirolin konsantrasyonunun anastomoz bölgesinde normalden %40 azaldığı ve yaklaşık 5. günde normale yaklaştığı, 10-14. günlerde ise normarin üstüne çıktığını bildirmiştir (89).

Anastomoz kaçaqlarını önlemek için yöntem ve metodlar denenmiştir. Profilaktik antibiyotik kullanımı önerilmiş fakat anastomoz kaçak derecesi üzerinde etkili olmamıştır. Optimal preoperatif kolonik hazırlığın anastomoz kaçaqları üzerinde etkili olduğu, zor anastomozlarda stapler'in normal sütürlerden daha iyi sonuç verdiği, kolostominin kaçağı önlemediği fakat sonuçlarını en aza indirdiği, omentoplasti, peritoneal drenaj, gastrik tüp, biyofragmentable anastomik ring ve coloshild'in anastomotik kaçağı önlemede etkili olduğu görülmüştür (89).

Gastrointestinal sistemde, sistemik veya lokal uygulama ile anastomozda yara iyileşmesini hızlandırmak ve güçlü bir anastomoz hattı elde etmek için çeşitli farmakolojik ajanlar denenmiş fakat rutin klinik uygulamada kullanılan bir madde bulunamamıştır.

Tablo 1: Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.

<u>Lokal Faktörler</u>	<u>Sistemik Faktörler</u>
Kan akımı	Yaş
Denervasyon	Anemi
Hematom	İlaçlar (Antienflamatuar, Sitostatik)
Enfeksiyon	Diabetes mellitüs, hormonal faktörler
İyonizan radyasyon	Enfeksiyon, sarılık, malign hastalıklar
Mekanik stresler	Travma, hipovolemi, hipoksi
Koruma-sargılar	Malnütrisyon, şişmanlık
Cerrahi teknik	Temperatür
Sütür materyal ve tekniği	Üremi
Doku tipi	Avitaminoz, çinko eksikliği

2.5. İskemik Hasar

Organlara veya dokulara kanı sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iske­mi denir. İske­mi, organ veya dokuyu perfüze eden kan akımındaki yetersizliğine bağlı olarak gelişen geriye dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre ve doku zedelenmesine neden olmaktadır (90). İske­mi sonrasında hücrelerde pek çok metabolik ve yapısal değişiklikler oluşmaktadır. Bunlardan biri; iske­minin hücrede oksidatif fosforilasyonu bozarak hücre içinde adeno­zin trifosfat(ATP) ve fosfokreatin sentezinde azalmaya yol açmasıdır. Bu durum hücre membranının ATP ye bağımlı iyonik pompa fonksiyonunu bozarak hücreye daha fazla kalsiyum, sodyum ve su girmesi ile sonuçlanmaktadır. İyonik pompa fonksiyon bozukluğunu takiben mitokondrial ve lizozomal harabiyet meydana gelir. Lizozomal proteolitik enzimlerin sitoplazmayı sindirmeleriyle hücre ölümü ortaya çıkar (91) .İske­mi sırasında, adenin nükleotidinin yıkımında artmaktadır.

İskemi sırasında oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondrial elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalmaktadır. ATP sentezi durmasına karşın, ATP kullanımı ve ATP hidrolizi sonucu oluşan ADP düzeyi artmaktadır (97,98). Hücre içi ATP düzeyindeki azalma, pentoz fosfat yolunu etkileyerek NADPH+H⁺ üretimini düşürmektedir. Pentoz fosfat metabolik yolunda üretilen NADPH+H⁺'lar hücrede ya asidi, redükte glutatyon, kolesterol ve steroid hormon sentezi gibi birçok biyosentetik yolda indirgeyici görevi yapmaktadır. Pentoz fosfat yolu, dolayısıyla da NADPH+H⁺ üretimindeki azalma oksidatif stresi arttırarak iskemik kaskatı genişletmektedir. İskemi sırasında oksidatif mekanizmaların devreye girmesi, bu klinik problemin çözümünde antioksidanların kilit rol oynayabileceğini düşündürmüştür (99). Organizmada oksidatif mekanizmalar sonucu oluşan SOR (Serbest oksijen radikalleri)lar üretim veya vücuttaki oksidan/antioksidan dengenin bozulması durumunda, protein, lipid, karbonhidrat ve nükleotid gibi biyomolekülleri etkileyerek zararlı etki göstermeye başlar. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri, SOR nin zararlı etkisinden daha kolay etkilenir. Lipid yapısında bozukluk ve parçalanma lipid peroksidasyonuna neden olur. Membranlar çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin oldukları için SOR etkisine açıktırlar ve membranda yapı ve fonksiyon bozuklukları oluşmaktadır (101,102).

2.5.1 Dokuda Meydana Gelen İskemik Hasar

Lipid peroksidasyonu: Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin beyin hücresi, plazma ve organel membranlar, vasküler endotel hücre membran ve myelinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Radikal aracılı bir zincir reaksiyon mekanizması şeklinde gelişen lipid peroksidasyonu sırasında, doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinde yeniden düzenlenme söz konusudur.

Lipid karboksilasyonu: Reperfüzyonda ortaya çıkan serbest radikallerin etkisi ile oluşan lipid radikali, dokuda artmış bulunan karbondioksit ile reaksiyona girerek lipid karboksil radikalini oluşturmaktadır. Karboksil radikali, lipid peroksidasyonu kadar yaygın olmasa da membran hasarına katkıda bulunmaktadır.

Protein Oksidasyonu: Hücrenin protein yapıları, serbest radikallerin özellikle duyarlı aminoasitler ile direkt etkileşimi sonucunda hasara uğramaktadır. Protein fonksiyonu için kritik pozisyonda olan aminoasitler (Örn: enzimin aktif bölgesindeki

aminoasidler), özellikle radikal hasarına duyarlıdırlar. Metionin, sistein gibi terminal sülfidril (-SH) grubu bulunduran amino asidler ile triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi aromatik aminoasidler, oksidasyona en fazla maruz kalmaktadırlar. Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Enzim veya reseptör fonksiyonuna sahip membran proteinleri, özellikle serbest radikallerin modifikasyonlarına duyarlı oldukları için protein oksidasyonu ile önemli hücresel ve membran fonksiyonlar bozulmaktadır.

DNA Hasarı: Reaktif oksijen radikallerinin, hücrede hasarladıkları bir diğer önemli makromolekül nükleik asidlerdir. Kalıtsal bilgiyi taşıyan deoksiribonükleik asidin(DNA) temel ta olan nükleotidin yapısı içinde yer alan purin ve pirimidin bazlar oksijen radikallerinin etkilerini gösterdiği bölgelerdir.

Nötrofil Kaynaklı Hücre Hasarı: Nötrofiller salgıladıkları proteazları (elastaz, jeletinaz vb.) ile endotel hücre parçalanmasına neden olurlar. Reperfüzyon döneminin en önemli mikrovasküler patolojisi olan kan akının geri dönmemesi fenomenine (no reflow phenomen), aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı ve nötrofillerin kapillerlerdeki agregasyonlar ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçlar oluşturduğu bildirilmiştir. Salgıladıkları vazokonstrüktör ajanlar ve trombosit aktive edici faktör ile daha büyük damarlarda da (arteriyoller ve prekapiller damarlar) daralmaya neden olmaktadır. Bir araisidonik asid metaboliti olan Lökotrien B-4(LTB-4) salgılayarak, süperoksit anyon radikali üretimine ve nötrofillerin kemotaksisine neden olmaktadır. Böylece bir geri beslenme mekanizması ile toplanmış olan nötrofillerden salgılanan kemotaktik faktörler yeniden serbest radikal üretimine ve nötrofil infiltrasyonuna neden olmaktadır.

Oksidatif stresin prooksidan tarafında yer alan SOR, fizyolojik olan ve olmayan birçok süreçte oluşmakta ve oksijenin hem süperoksit, hidroksi, hidroperoksi, peroksi, alkoksi gibi radikal türevlerini hem de serbest oksijen, ozon, hidrojen peroksit, hipoklorik asit, nitrik oksit ve peroksinitrit gibi radikal olmayan türevlerini kapsamaktadır. Başta mitokondriyal solunum zinciri olmak üzere, fagositik hücrelerdeki solunum patlaması, mikrozomal sitokrom P450 sistemi, sitoplazmik, peroksizomal, lizozomal ya da membrana bağlı oksidaz aktiviteleri gibi fizyolojik şartlarda gerçekleşen pek çok hücresel süreç, SOR oluşumuna yol açmaktadır. Diğer taraftan, hiperoksi durumu, iskemi, inflamasyon, ağır egzersiz, aromatik hidrokarbonlar, antineoplastik ajanlar, antibiyotikler,

anestezikler, radyasyon, sigara dumanı ve hava kirliliği gibi çevresel faktörler ya direk olarak ya da intraselüler metabolizma ve detoksifikasyon sırasında radikallere dönüşerek, SOR düzeylerini etkilemektedirler.

Antioksidan savunma sistemleri aerobik canlılarda, SOR oluşumuyla birlikte, SOR'un zararlı etkilerini önlemek amacıyla antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz gibi enzimler ve vitaminler, tiyoller gibi enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre sınıflandırılabilen antioksidanlar, serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküllere vereceği hasar önleyen maddelerdir (103).

2.5.2. Kolon Anastomozu ve İskemi

Kolon GIS'in iskekiye en duyarlı bölümlerinden biridir. Günümüzde özellikle yaşlı hastalara uygulanan acil cerrahi girişimlerde, malnütrisyon ve dehidratasyona ikincil sık olarak karşılaşılan hipovolemi nedeniyle kolon iskekiye maruz kalmaktadır. Damar içi hacimde %10'luk bir azalma olması halinde kolon perfüzyonunun 1/3 oranında azaldığı bildirilmektedir (89). İskemik bir segmente uygulanan anastomoz ise her zaman komplikasyona yatkın olarak değerlendirilmelidir. İskeminin yara gerilim kuvvetini ve kollajen sentezini azalttığı bilinmektedir. Hipovolemik durumlarda oluşan doku hipoksi ve iskemisinin anastomoz iyileşmesi için vazgeçilmez olan pozitif kollajen dengesini bozduğu bir gerçektir. Kolonda kan akımının azalması nötrofillerden reaktif oksijen türevlerinin salınmasına neden olmaktadır. Bu maddelerin hasarda büyük önemi bulunmaktadır. Doku hipoksis hücre membranında fonksiyonel bozukluğa neden olup hücre içi metabolit artışına yol açar. İskemi nedeniyle dokunun ATP deposu azalır ve hücrenin sentez ve sağ kalım kabiliyeti azalır. Daha sonra gelişen olaylar dizisi sonucunda protein yapılı enzimlerin bozulması, hücresel kompartmanların yıkımı ile membran bütünlüğü bozularak hücre ölümü gerçekleşir. İskemi nedeniyle dokudan salınan sitokinler, kompleman faktörleri, eikozanoidler ve reaktif oksijen türevleri polimorfonükleer lökosit ve endoteli aktive ederek mikrodolaşımda değişiklikler oluşturmaktadır. Sonrasında gelişen reperfüzyon ise çok zararlı etkilere neden olmaktadır(90). İskemi sonrası gelişen oksidatif stres ve buna eşlik eden lipid peroksidasyonu sonucu membran lipidleri yıkılarak hücre lizisi gerçekleşebilmektedir.

Anastomoz hattında kollajen lizisi kaçak etyolojisi en önemli faktör olarak değerlendirilmektedir. Kollajen düzeyinin bir göstergesi olan hidroksiprolin düzeyinde ki azalma ile kendini gösteren bu olay ameliyattan üç saat sonra başlar ve 48. saatte en yüksek düzeyine ulaşır (91). Portal kan akımının oklüzyonu yoluyla iskemi oluşturulan barsağa yapılan anastomozda ameliyat sonrası 4. ve 7. günlerde hidroksiprolin düzeyinin çok düşük olduğu gösterilmiştir (92). İskemi ve hipoksinin özellikle kolon anastomoz üzerine olumsuz etkisi uzun yıllardır bilinen bir gerçek olup yara iyileşmesi üzerine pozitif etkileri gösterilen RSV'nin iskemik kolon anastomozunda iyileşme parameterlerine etkisi ile ilgili araştırma sayısı oldukça azdır.

2.6. Bağırsakta Anastomoz İyileşmesini İnceleme Yöntemleri

Anastomoz iyileşmesini inceleme yöntemleri içinde mekanik, biyokimyasal ve histolojik değerlendirme sayılabilir. Bu çalışmada mekanik değerlendirme patlama basıncı; biyokimyasal inceleme ise doku hidroksiprolin düzeyleri incelenerek yapılmıştır. Histolojik inceleme çoğu zaman kantitatif bir araç olmasa da çalışmamızda histopatolojik değerlendirme kriterleri skorlanarak, gruplar arasında istatistiki olarak karşılaştırma yapılmasına olanak sağlanmıştır.

2.6.1. Anastomoz İyileşmesinin Değerlendirilmesi

1) Mekanik Değerlendirme Yöntemleri

Mekanik değerlendirme patlama basıncı ve kopma direnci ölçümü ile yapılır.

a) Patlama Basıncı

İlgili barsak segmentinin, artan intraluminal basınca karşı duvar direncini gösteren bir parametredir (104-105). Anastomoz sonrası 2-3. günlerde en düşük değerde iken hızla artarak 7. günde opere edilmemiş düzeye çıkar ve patlama bu andan itibaren anastomoz hattı dışında bir barsak ansından olur. Bu nedenle iyileşmenin erken döneminin değerlendirilmesi için uygundur (106,107,108,109).

b) Kopma Direnci

Barsak segmentinin uzun eksenine paralel olarak kesilip çıkarılan bir şeridin iki ucuna zıt yönde uygulanan ve kopmaya yol açan kuvvettir (28,69-71). Kopma gücü, patlama gücünden daha yavaş olarak yeniden kazanıldığı için yara iyileşmesinin geç dönem belirticidir (108,109).

2) Biyokimyasal Yöntemler

Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal parametresi kollajen miktarı tayinidir ve doku kollajen miktarı bir amino asit olan hidroksiprolin düzeyinin ölçümü ile saptanır (105).

GİS’de yara iyileşmesini değerlendiren bir diğer biyokimyasal yöntem de intramural pH ölçümüdür. Teknik olarak zor olmasına karşın anastomoz bölgesinin kanlanması ve dolayısıyla yara iyileşmesi açısından kantitatif verilerin eldesi mümkündür (110).

3) Histolojik Değerlendirme Yöntemleri

Işık mikroskobu ile anastomoz hattının hücresel infiltrasyonu ve fibroblastik aktivitesi incelenebilir. Daha gelişmiş olarak elektron mikroskobu kullanılarak kollajen lifleri detaylı olarak değerlendirilebilmektedir (107).

4) Radyoaktif İşaretleme Yöntemleri

Dokuların rejenerasyon kapasitelerinin incelenmesinde çeitli radyoaktif maddeler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle fibroblastlar işaretlenerek (timidin C14 ve H3 ile) anastomotik fibroblastik aktivite sayısal olarak değerlendirilebilirken, hidroksiprolin düzeyi ve kollajen sentez yüzdesi de belirlenebilmektedir (111).

5) Diğer Yöntemler

Mikroanjyografi, doppler ultrasonografi, fluoresseinle boyama ve yerel ısı ölçümleri de anastomoz iyileşmesinin incelenmesi için kullanılan yöntemlerdir.

2.7. Resvertarol

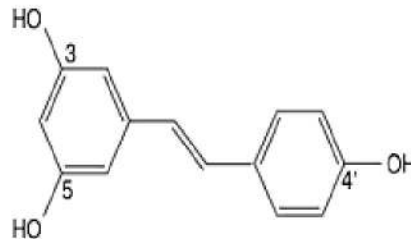
Resveratrol (3, 4', 5-trihidroksi-stilben), asmanın yaprak ve tane kabuğunda yüksek miktarda sentezlenen ve fitoaleksinin özelliği gösteren bir stilben grubu bileşiktir.

Thytoalexin', Yunanca bir terim olup, phyton; bitki, "alexein"; koruyucu anlamındadır (112). Bu bileşiğin, bitkileri hastalıklara karşı korumasının yanı sıra; son yıllarda antifungal, antimikrobiyal, antitümör ve antioksidan etkileri ile insanlarda da fitoaleksinin etkisi gösterdiği anlaşılmıştır (113-114).

Resveratrol, ilk olarak 1930'lu yılların başlarında tıbbi bir bitki olan *Veratrum grandifolium* Loes. fil.'de tanımlanmış ve sağlık üzerine etkileri; özellikle Çin ve Japon bilim adamları başta olmak üzere, birçok bilim adamı tarafından uzun yıllar araştırılmıştır (115). *Polygonum cuspidatum* bitkisinin köklerinden özütlenen resveratrol, Japonya ve Çin'de halk tarafından "kojoto" adıyla bilinen geleneksel bir ilaç olarak; hipertansiyon, damar tıkanıklığı, cilt iltihabı ve allerji gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadı (116).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar dikkate alındığında; 72 bitki türünde resveratrolün üretilip üretilmediği belirlenmiştir (117). Bu bitki türlerinden; asma, dut, yaban mersini, yer fıstığı ve Antep fıstığı en başta gelenlerdir. Asmalar ise diğer bitki türleri ile karşılaştırıldığında; yüksek resveratrol üretebilme kapasitesi ve taze veya işlenmiş ürünlerinin (şarap, sirke, kuru üzüm, pekmez, vb.) yaygın tüketimi nedeni ile önem kazanmaktadır. Resveratrol, özellikle renkli üzüm çeşitlerinin kabuklarında yüksek miktarda sentezlenmektedir (0.30-14.10 mg/g yaş ağırlık; 9.30-78.50 mg/g kuru ağırlık).

Üzüm ve şarabın tıbbi değeri, eski Mısır ve "Hippocrates"e ait kaynaklarda bildirilmiştir. Üzüm, Hindistan'da ayurvedik (kişinin yapısına göre seçilmiş yağlarla yapılan stres giderici, vücut dengeleyici masaj, sırt ve boyun ağrısı, gastrit, tansiyon vb. göre çeşitli şekillerde uygulanan tedavi masajı) tedavide; Ortadoğu, Çin ve Güney Afrika'da da tıbbi anlamda kullanılmaktadır. Amerikan ve İngiliz farmakopelerinin (ilaç yapmak için gerekli formül ve tarifleri içeren kitap) de bulunduğu bazı ilaç rehberlerinde üzüm yer almaktadır (112).



Şekil 2.6. Trans-resveratrolün kimyasal yapısı.

Siemann ve Creasy'nin şarapta resveratrolün bulunduğunu belirlemeleriyle birlikte, resveratrolün sağlık üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar da hız kazanmıştır (118). Bu çalışmanın ardından, Renaud ve de Lorgeril'in koroner kalp hastalıkları üzerine yaptıkları çalışma dikkat çekicidir (119). Yüksek oranda doymuş yağ tüketimi ile koroner kalp hastalıklarından ölüm oranı arasında pozitif bir ilişki olmasından yola çıkan araştırmacılar, Fransa'da koroner kalp hastalıklarından ölüm oranının düşük olmasını ılımlı şarap tüketimine (Fransız Paradoksu) dayandırmışlardır. Jang ve arkadaşlarına göre günlük 375 mL kırmızı şarap tüketimi, araşidonik asit metabolizmasını düzenlemektedir(120).Diğer yandan, Moriarty ve arkadaşları siyah Korint üzüm çeşidinden 50 tane tüketimin, resveratrol içeren bir kadeh şarap ile aynı düzeyde etkili olacağını vurgulamışlardır (121).

Resveratrol ısıya dayanıklı olması nedeni ile, birçok yiyecek çeşidinde aktif formunu (trans-resveratrol) koruyabilmekte, ağız yoluyla alındıktan hemen sonra sindirilmekte ve hızla kana karışmaktadır (112-122).

Resveratrolün moleküler ve biyokimyasal etki mekanizmaları çeşitlilik göstermektedir. Resveratrolün, çoklu ilaç direnç proteini, topoizomeraz II, DNA polimeraz, östrojen reseptörleri, tubulin ve Fl-ATP gibi çeşitli hücre sinyal proteinine bağlandığı gösterilmiştir. Resveratrol, aynı zamanda çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive ederek (NF-kappa B, STAT3, HIF-1 alfa, beta-katenin ve PPAR-gama) anti-apoptotik gen ürünlerini baskılamakta (Bcl-2, Bcl-XL, XIAP ve survivin), protein kinazlar inhibe etmekte (src, PI3K, JNK, ve AKT), antioksidan enzimlerin aktivitesini artırmakta (katalaz, süperoksit dismutaz ve hemooksijenaz-1), inflamatuvar belirteçler (NF, COX-2, iNOS, ve CRP) ile anjiyogenik ve metastatik gen ürünlerinin aktivitesini baskılamakta (MPs, VEGF, katapsin D ve ICAM-1) ve hücre siklusunu düzenleyen genler (p53, Rb, PTEN, siklinler ve CDKs) üzerine düzenleyici etki göstermektedir (123).

2.7.1. Resveratrolün Organlar ve Sistem Üzerine Etkileri

2.7.1.a- Kardiyovasküler Sisteme Etkileri

Resveratrolün kardiyovasküler sisteme etkileri ve etki mekanizmaları araştırma aşamasında olup tam olarak açıklanamamıştır. Damar düz kasında kasılma-gevşeme yanıtları üzerine endotel hücrelerinin etkisi; endotelden salınan Nitrik Oksid (NO) aracılığıyla ortaya çıkar (124). NO endoteliyal hücrelerde oluşmakla beraber birçok biyolojik ve patolojik olaydan sorumlu tutulmaktadır. Damar tonusunu azaltmakta, damar düz kas çoğalmasını düzenlemekte, trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe etmekte, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltmakta, hücre büyümesi ve migrasyonunu baskılamaktadır. Resveratrole ilişkin en önemli noktalardan biri de çok düşük konsantrasyon da apoptotik hücre ölümünü inhibe ederek miyokardiyal iskemik reperfüzyon yaralanması ve ventriküler aritmi gibi çeşitli hastalıklara karşı koruyucu olmasıdır. Resveratrol yüksek dozda kullanıldığında ise apoptotik hücre ölümünü kolaylaştırıcı etki göstermektedir (125) .

Resveratrolün ve kırmızı sarabın potansiyel kardiyoprotektif özelliklerinin yanında, damar tonusunun düzenleme, endotel fonksiyonunun sürdürülmesi gibi etkileri de tespit edilmiştir (126). Kırmızı şarapdaki polifenollerin aort endoteli üzerindeki vazodilatör etkisinden; endotel hücreleri ve endotel hücrelerindeki kalsiyum (Ca^{+2}) düzeyinin artışı sorumlu tutulmaktadır. Bu iki etki ise Ca^{+2} kanal blokerleri ve NO sentaz inhibitörleri ile ortadan kaldırılabilir (127).

Üzüm kabuğundan elde edilen ekstrenin endoteli sağlam sıçan aortasında fenilefrin ile oluşturulan kasılma yanıtlarında anlamlı gevşeme cevabı oluşturduğu, endoteli çıkarılmış halkalarda ise etkisinin olmadığı gözlenmiştir. NO sentaz (NOS) inhibitörü “NG-nitro-L-arginine” (L-NNA) bu gevşetici cevabı geri çevirmiş ve takiben Larginine verildiğinde tekrar gevşeme yanıtı oluşmuştur. Üzüm kabuğu ekstresinin endoteli sağlam sıçan aorta halkalarında KCl ile oluşturulan kasılma yanıtlarını da anlamlı olarak geri çevirdiği, ancak endoteli çıkarılmışlarda etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Endoteli sağlam dokuda cGMP düzeyinde anlamlı artışa neden olurken bu artış “NG-monomethyl-L-arginine” ile tamamen geri çevrilmiştir. Sonuçta ise üzüm kabuğu ekstresinin NO-cGMP aracılığıyla damar gevşetici etkilere yol açtığı, KCl yanıtlarında yapmış olduğu gevşetici etkiden ise iyon kanallarının sorumlu olabileceği düşünülmüştür (128).

Benzer bir çalışmada sıçan aortasında yapılmış ve resveratrolün, endoteli sağlam aortada noradrenalin kasılma yanıtlarını geri çevirdiği ve NOS inhibitörü L-NNA ile olan resveratrolün gevşetici etkisini bloke ettiği gösterilmiştir. Endotel sağlam aortada fenilefrin ile oluşturulan kasılma yanıtları da aynı derişimde resveratrol ile geri çevrilmiş ve L-NNA ile bu gevşeme yanıtları geri çevrilmiştir. Resveratrolün yüksek derişimi kullanıldığında endoteli çıkarılmış aorta halkalarında aynı agonistler ile elde edilen kasılma yanıtlarını geri çevirdiği, bununla birlikte L-NNA ile bu gevşeme yanıtlarının geriye çevrilemediği gözlenmiştir. Bu bulgular resveratrolün damar gevşetici etkilerinden NO aracılı ve NO aracılı olmayan mekanizmaların sorumlu olabileceğini ortaya koymuştur (129).

Bir çalışmada insan umblikal ven endotel hücrelerinin 20 saat kırmızı şarabın alkolik olmayan ekstreleri ile inkübe edilmesi ile NO sentezinin 3 kat arttığı gösterilmiştir (130). Doku faktörleri (TF) koagülasyonda rol oynayan maddelerdir. TF, fibroblast ve perisitlerde yapısal olarak üretilmekte fakat endotel ve monositte yapısal olarak üretilmediği kabul edilmektedir. Aterom plaklarında ise çok fazla üretilmektedir. Bu durum aterom plaklarında tromboz oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, vasküler endotel hücrelerinde ortaya çıkan doku faktörü ekspresyonu IL-1, TNF α ve Lipopolisakarit(LPS) ile indüklendiğinde resveratrol ile anlamlı olarak inhibe edilmiştir. Endotel hücresinde LPS uyarısı ile oluşan TNF α 'nın mRNA'sındaki artışı ve monosit hücresinde IL-1 ve TNF α 'nın mRNA'sındaki artışını, resveratrol anlamlı olarak önlemiştir. Bu sonuçlar resveratrolün uyarı sonrası damarda doku faktörlerinin ve sitokinlerin artışını anlamlı olarak baskıladığını göstermektedir (131).

Ateroskleroz patogeneğinde plazma ve matriks proteinlerinin önemli rolleri vardır. "Advanced glycation end-products" (AGEP) spontan hipertansif ve normotansif sıçanlarda vasküler düz kas hücrelerinde, hücre çoğalmasını zamana ve doza bağımlı olarak artırmaktadır. Spontan hipertansif sıçanların bu maddelere daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. Resveratrol ,AGEP etkilerini anlamlı olarak azaltmıştır. Östrojen reseptör inhibitörü ICI-182780 ile resveratrolün etkisi değişmemiştir. Bu sonuçlar resveratrolün kardiovasküler yararlı etkilerinden vasküler "remodeling" in önlenmesinin sorumlu olabileceğini ortaya koymaktadır (132).

Domuz koroner arterlerinde yapılan bir çalışmada resveratrolün , histamin ile oluşturulan kasılma yanıtlarını geri çevirdiği gösterilmiştir. Aynı dokuda, potasyum kanal inhibitörü tetraetilamonyum (TEA) ile inkübe edildikten sonra histaminle oluşturulan kasılma yanıtları resveratrol ile inhibe olmuştur. Sodyum-potasyum ATPaz inhibitörü

ouabain ile oluşturulan kasılma cevaplarında resveratrol ile inhibe olduğu gösterilmiştir (133).

Aterosklerozda endotel fonksiyonlarının bozulduğu; NO salınımının azaldığı ve endotelin-1 (ET-1)'in oluşumunun ve salınımının arttığı bilinmektedir. İnsan aortik düz kas hücreleri H₂O₂ ile muamele edildiğinde prepro ET-1 mRNA'sında artış olduğu ve ET-1 proteinindeki artışın oksidatif hasar için işaret olarak kullanılabileceği bildirilmektedir.

Resveratrol prepro ET-1 mRNA'sındaki ve ET-1 proteinindeki artışı anlamlı olarak inhibe etmiştir (134). Sığır aortik hücre kültüründe kırmızı sarap ve kırmızı üzüm suyunun ET-1 sentezini azalttığı ve ET-1 gen transkripsiyonunu baskıladığı gösterilmiştir (134).

Başka bir çalışmada resveratrolün fibrinolitik proteinlerin düzeyini artırarak fibrinolitik aktiviteyi artırdığını ve koroner kalp hastalıklarındaki koruyucu etkilerinde bunun katkısı olabileceğini göstermektedir (135).

Adenozin kendine özgü reseptörlere bağlanarak hücre içi protein kinazları aktive eden ve kalsiyum hareketlerini düzenleyen çok kısa yarılanma ömrüne sahip nükleotiddir. Egzersiz, doku hipoksisi, dipridamol verilmesi adenozin nükleotidlerin hücresel alımını artırmaktadır. Oral olarak verilen tek doz resveratrolün (1.5mg/kg) kan adenozin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (136). İskemi öncesi verilen resveratrolün ise iskemi-reperfüzyon hasarını önlediği, bunu da adenozin salınımını artırarak yaptığı sıçan kalbinde ortaya konmuştur (137).

2.7.1.b- Antioksidan Etkileri

Resveratrolün kalp koruyucu etkilerinden, antioksidan özelliğinin ve özellikle de peroksi radikal süpürücü etkisinin sorumlu olabileceği varsayılmaktadır. İskemi ve iskemi reperfüzyon hasarı dokuda lipid peroksidasyonunu artırmakta, sonuç olarakta peroksi radikaller oluşturmaktadır. Koroner oklüzyonla iskemi ile iskemi reperfüzyon hasarının oluşturulduğu bir çalışmada, resveratrolün koronerlerde lipid peroksidasyonu göstergesi kabul edilen malonildialdehit düzeylerini anlamlı azalttığı bulunmuştur. Peroksi radikal süpürücü olarak tanımlanan "trolox" ile mukayese edildiğinde resveratrolün peroksi radikal süpürücü etkisi daha güçlü bulunmuştur, bununla beraber infarkt alanında da anlamlı küçültme oluşturduğu gözlenmiştir (138-139).

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'lerin peroksidasyonlarının demir ve bakır iyonları ile artırıldığı bilinmektedir. Serbest radikal süpürücü etkinin değerlendirilmesinde "1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl" ve lipid peroksidasyon göstergesi olarak malondialdehit kabul edilerek, demir ve bakır iyonları ile yapılan bir çalışmada, resveratrol bunların düzeyinde anlamlı azalmaya yol açmıştır (140). Resveratrolün bakır şelasyon kapasitesinin yüksek olması önemlidir, çünkü LDL'nin de bakır bağlama kapasitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Cis izomerinin bahsedilen şelasyon için kapasitesi, trans formunun yarısı kadardır. Bunun nedeni olarakta OH gruplarının konumları suçlanmıştır. Resveratrolün bakır şelasyon kapasitesinin yüksekliği, antioksidan özelliği ve radikal süpürücü etkisi birbirleri ile örtüşmektedir (141). Bakır ile uyarılan lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisini;"epicatecin","catechin" ve"quercetin" gibi başka fenollerle karşılaştırıldığı başka bir çalışmada resveratrolün daha potent bir madde olduğu bulunmuştur (142).

Serbest radikallerin DNA hasarı yaptığı bilinmektedir. Bir çalışmada resveratrolün potent hidroksil radikal süpürücü etkisi ile DNA kırılmalarını azalttığı ortaya konmuştur (143). Kobaylarda yapılan bir çalışmada LDL'lerin iyon bağımlı (demir ve bakır ile) ve serbest radikal vericileri ile iyon bağımsız peroksidasyonu resveratrolün belirgin olarak azalttığını bulmuşlardır (144). Aynı çalışma insanlarda da yapıldığında resveratrol benzer sonuçları vermiştir (145,146). Resveratrolün koroner damar hastalıklarına karşı koruyucu etki mekanizmalarının çözülmesinde; düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonunu önleyici etkisinin bulunması, çok önemli bir dönüm noktası olmuştur (147).

Bunlara rağmen resveratrolün lipid peroksidasyonunu azalttığı, fakat hidroksil radikal süpürücü etkisinin anlamlı olmadığı bildiren çalışmalarda mevcuttur (133). Bir başka çalışmada da resveratrolün kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan squalen monoksijenazı inhibe ettiği bildirilmiştir (148).

İskemi-reperfüzyon olaylarında ortaya çıkan değişikliklerin fizyopatolojisi henüz tam olarak çözülememiştir. Hücre içi Ca^{+2} iyonu düzeylerinde ve reaktif oksijen derivelerindeki (hidroksi radikaller, süperoksit anyon, hidrojen peroksit) değişimlerin sorumlu olabileceği söylenmektedir. Reperfüzyonda oluşacak hasarın antioksidanlarla yapılan ön tedavilerle düşürüldüğü gösterilmiştir. Geçici iskemi oluşturulan sıçan kalbinde iskemi-reperfüzyon hasarlanması sonucu gelişen kardiyak hasarlanma ve aritmilerin resveratrolle azaltılabildiği; bu etkinin ise endotelial NO (Nitrik oksit) oluşumu ve antioksidan aktivite sonucu oluştuğu düşünülmüştür. Aynı çalışmada plazma NO

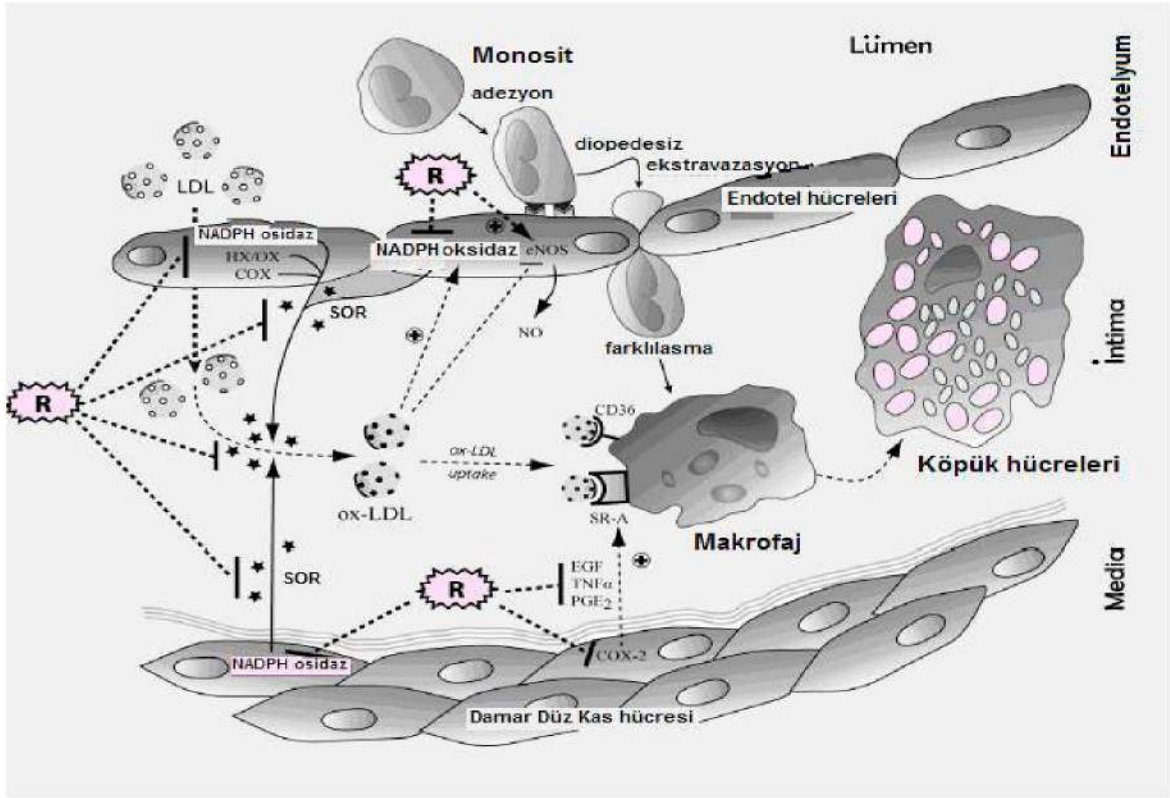
düzeylerinin doz bağımlı olarak arttığını ve hücre zedelenmesinin bir göstergesi olan laktat dehidrogenaz aktivitesinin ise doz bağımlı olarak azaldığı bulunmuştur (149). Orta serebral arterin tıkanmasıyla oluşturulan lokal beyin iskemisinde resveratrol tedavisinin infarkt oluşan alanı azalttığı gösterilmiştir. Bunun ise antitrombosit, damar gevşetici ve antioksidan özelliklerine bağlı olabileceği belirtilmektedir (150). Trombositlerden lipopolisakkarid ve trombin uyarısıyla oluşturulan; süperoksit radikallerin ve diğer reaktif oksijen türlerinin oluşumunun resveratrol ile azaltıldığı gösterilmiştir (151).

2.7.1.c- Antitrombosit Etki

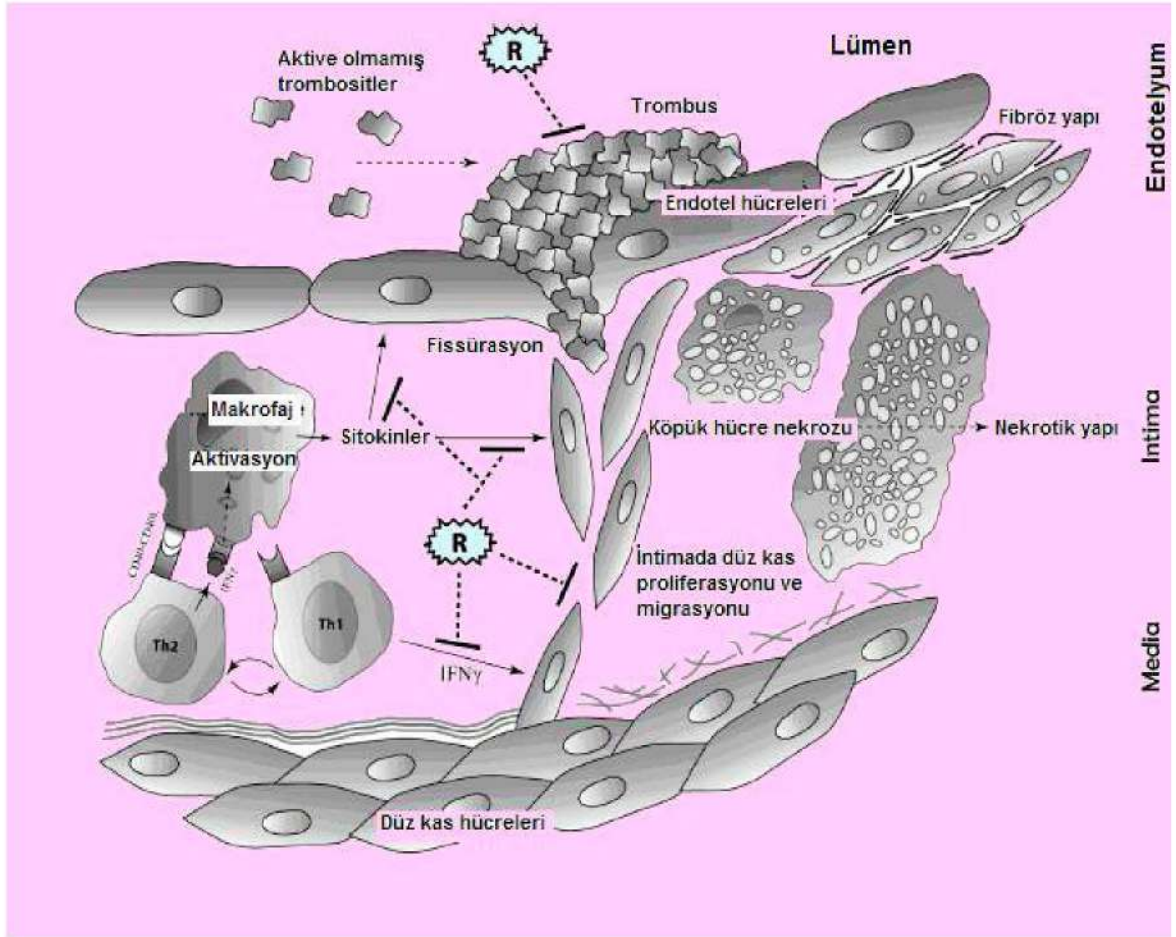
Trombositler, kanın pıhtılaşmasına yardım eden hücre parçalarıdır. Kan pıhtılaşması, koroner veya serebral arterlere olan kan akımını azaltarak bu dokuların beslenmesini azaltmaktadır.

Birçok çalışmada, in vitro koşullarda resveratrolün, trombositlerin kümeleşmesini engellediği vurgulanmıştır (152-153).

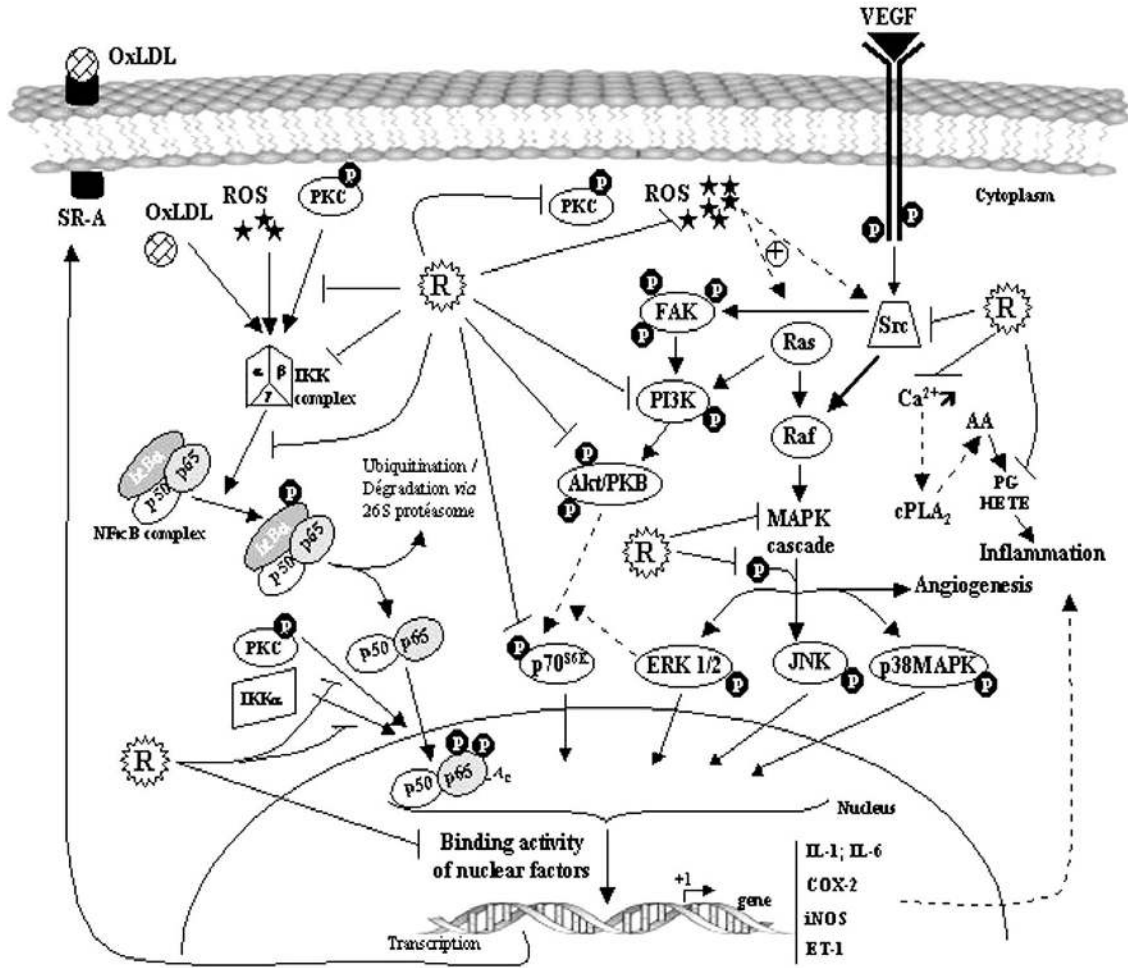
Kanama-pıhtılaşma fonksiyonun temel hücresi olan trombositlerin fonksiyonlarında yetersizlik durumunda kanamaya, artmada ise tromboza eğilim olur. Tromboz oluşan alana veya sklerotik alanlara tutunan trombositler kan akışkanlığını etkilerler. Trombosit aktivasyon ve agregasyonun artışı tromboz ve ateroskleroz patogeneğinde önemli risk faktörlerindendir (154,155,156).



Şekil 2.7. Ateroskleroz oluşumunun başlangıcında Resverartolun (RSV) etkileri
Delmas ve arkadaşları (2005)'dan alınmıştır.



Şekil 2.8. İlerlemiş aterosklerotik lezyon oluşumunda resveratrolun etkileri
Delmas ve arkadaşları (2005)'dan alınmıştır



Şekil 2. 9. Resveratrolün hücre içi sinyal yollarına etkisi
Delmas ve arkadaşları (2005)'dan alınmıştır

Araşidonik asit (AA)'dan COX enzimi ile sentezlenen TXA2 trombositlerde agregasyonu tetikler. Aynı yoldan sentezlenen PGI2 ise agregasyonu inhibe eder. Trombosit kaynaklı olan feraton ve PAF'da trombositlerde agregasyonu tetikler. Endotel kaynaklı NO'de trombosit agregasyonu ve adezyonunu inhibe eder(157).Agregasyonu tetikleyen ajanların trombositlerde hücre içi Ca+2 artırdıkları, inhibe edenlerin ise azalttıkları saptanmıştır. Trans resveratrolün trombosit agregasyonunu hücre içi Ca+2 inhibe ederekte engellediği bildirilmiştir (158).

Kimura ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada resveratrolün TXB2 ve lipooksijenaz ürünü lökotrienlerin oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Hem de AA neden

olduğu agregasyonun inhibe edildiği saptanmıştır. Resveratrolün cis izomerinin antiagregan etkisinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (159).

Kanserde de trombositlerde fonksiyonel değişiklikler bulunmuştur. Bu olaylar trombositler üzerine etkili, diyetle alınan antioksidan ve antitrombosit etkili birçok maddenin araştırılmasını gerektirmiştir (Örnek: E vitamini, mineraller, polifenoller vs.).

Kanserde ve kardiyovasküler hastalıklarda olumlu yönleride bulunmuştur. Resveratrolün ADP ve trombin ile aktive edilen trombosit adezyonunda inhibitör etkinliği bulunmuştur (160). Agregasyon sırasında artan hücre içi kalsiyumun kaynağı; hücre dışındaki kalsiyumun, kalsiyum kanalları aracılığı ile içeriye alınmasıdır. Resveratrol hücre içi kalsiyum akışını bariz olarak engellemiştir. Farklı olarak resveratrolün trombosit endoplazmik retikulumundaki Ca^{+2} ATP'az inhibitörü "thapsigargin" aracılı kalsiyum girişini azalttığıda gösterilmiştir (160).

Trombin ve ADP ile uyarılan insan trombositlerinin agregasyonu üzüm suyu ve şarap ile engellenmiştir (161). Başka bir çalışmada ise trombin, ADP ve kollajenle uyarılmış insan trombositlerinin agregasyonun; resveratrolle inhibe olduğu ve plazma tromboksan B2 (TXB2) düzeylerindede bariz azalmalar yaptığı ortaya konmuştur (162). Diğer bir çalışmada ise kollajenle uyarılan trombositlerde resveratrolün, agregasyonu belirgin inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (163).

2.7.1.d- Anjiyogeneze Etkileri

Anjiyogenezis vasküler membranın bozulması, endotel hücre göçü ve çoğalmasıyla, tüp seklinde biçimlenmeyle karakterizedir. Anjiyogenezis tümör, diabet, romatoid artrit ve ateroskleroz gibi bazı hastalıklarda görülmektedir. Yara iyileşmesinde önemli bir rolü olan anjiyogenezi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi bir çok büyüme faktör etkilemektedir. Nötrofil ve makrofajlardan salınan hidrojen peroksit gibi oksidanlar VEGF salınımını artırmaktadır. Oksidan ajanlarca artırılan VEGF ekspresyonunu resveratrolün artırdığı bulunmuştur. Resveratrolün anjiyogenezi artırarak yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (164).

Bir çalışmada sığır aorta endotel hücrelerinde resveratrolün doz bağımlı olarak vasküler hücre çoğalmasına ve hücre migrasyonuna olumsuz etkileri gösterilmiştir.

Resveratrolün hücre büyümesinin inhibisyonunda, siklooksijenaz enzim inhibisyonu ile etkili olduğu gösterilmiştir. Çünkü COX-1 vasküler endotel hücresinde anjiyogenezin düzenlenmesinde önemlidir (165). Başka bir çalışmada da kolon, prostat

karsinomu, meme ve epitelyal karsinomlarında da antianjiyogenik özellikler gösterdiği gösterilmiştir (166).

2.7.1.e- Antikanserojen Etkileri

Bir çok dokuda antikanserojen etkisi gösterilen resveratrolün, etki mekanizmaları gün ışığına çıkarılmayı beklemektedir.

Resveratrol hücre farklılaşmasını inhibe ederek kanserin ilerlemesini kontrol altına alabilmektedir. Resveratrolün maymun deri kanseri modelinde preneoplastik lezyon gelişimini ve tümör oluşumunu engellediği gösterilmiştir (169). Resveratrolün insan meme epitel hücresinde zaman ve doz bağımlı olarak proliferasyonu durdurduğu gösterilmiştir (174). Resveratrol tedavisi ile yaşayabilir hücre sayısının azaltıldığı ve hipertrofi gelişiminin önlendiği gösterilmiştir. Bu etkilerinin COX oluşumunun protein kinaz C yolu üzerinden inhibisyonu ile olduğu gösterilmiştir (170).

Bilindiği gibi prostat kanseri etiolojisinde androjenler ve androjen reseptörleri önemli etkilere sahiptir. Bir çalışmada androjen “upregulated” genleri üzerinde resveratrolün inhibitör etkileri tespit edilmiştir (168).

Apoptozis (programlanmış hücre ölümü) hücre çoğalması ile ölümü arasındaki dengede kritik bir rolü vardır; bununla beraber kanserin oluşumu ve gelişimini önleme hususunda da önemlidir. Birçok sitotoksik ve sitostatik kanser ilacının kanser hücreleri için apoptozis etkilediği bilinmektedir. İnsan promyleositik lösemi hücrelerinde resveratrolün hücrelerin çoğalmasını inhibe ettiği, apoptozisi etkin kıldığı, antiapoptotik oncoprotein Bcl-2 artışı engellediği ve DNA da kırılmalara neden olduğu gösterilmiştir (169-170). Başka bir çalışmada ise resveratrolün lenfoblast hücrelerinde apoptozisi artırdığı bilinen p53 aktivitesini ve p53 protein artışı bariz şekilde artırdığı ortaya konmuştur (171).

Özellikle tütün kullanımı gibi çevresel ajanlarla vücuda yüksek oranlarda alınan polisiklik aromatik hidrokarbonlar, dioksin ve benzopirinler; kanserojenik ve mutajenik etkilere sahiptir. Sperm sayısında azalmaya ve anormal sperm sayısında artışa neden olarak, erkek fertilitesinde de olumsuz etkilere yol açmaktadır. Yapılan bir çalışma insan meme kanseri hücrelerinde dioksin ve benzopirinlerin arilhidrokarbon (sitokrom P450) aracılı kanserojenik etkilerinin resveratrol ile azaltılabildiğini göstermiştir (172).

Kanser tedavisinde büyük yer tutan tirozin kinaz grubu enzimlerin inhibisyonun; insan plasental ve prostatik adenoma hücrelerinde çalışıldığı bir çalışmada resveratrolün olumlu etkileri tespit edilmiştir (173).

Tümör gelişiminde önemli olan protein kinaz C (PKC) inhibisyonunda tedavideki diğer önemli bir adımdır. Resveratrolün kalsiyum fosfatidilgliserin ile uyarılma sonucu artan PKC aktivasyonunu belirgin baskıladığı gösterilmiştir (147).

Nitrik oksidin tümör gelişiminde, yayılımında, anjiyogenezisinde ve tümör hücrelerinin migrasyonunda etkili olduğunu; murin meme tümörü ile ilgili bir çalışmada gösterilmiştir. Birçok insan kanserlerinde NOS aktivitesinin arttığı da bilinmektedir (174).

Farelerde yapılan bir çalışmada LPS ile uyarılmış peritoneal eksuda makrofajlarının NO oluşturmaları resveratrol ile baskılanmıştır. Ayrıca DNA sentezini baskıladığı, apoptozisi indüklediği ve hücre siklusunda hücreleri G0/G1 fazında durdurma gibi etkileri saptanmış (175).

2.7.1.f- Antiinflamatuvar Etkileri

RSV'nin proteazlar, kompleman sistemi, bradikininler, NO, sitokinler, adezyon molekülleri ve prostaglandinler gibi endojen üretilen ve inflamasyondan sorumlu tutulan maddelerin oluşumundaki önlemlerle antiinflamatuvar bir etki ortaya çıkarmaktadır. Son yapılan çalışmalar da siklooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu, NO oluşumu ve salınımının engellenmesi gibi başlıca üç nokta üzerinde yoğunlaşmıştır.

NO iskemi - reperfüzyon, akut – kronik inflamasyon, vazodilatasyon gibi fizyolojik ve patolojik olaylarda rol alır. NOS enzimi ile sentezlenen bir maddedir. NOS'un yapısal formu Ca^{+2} bağımlı NOS I ve NOS III (e NOS) endotelial hücrelerde bulunup, düşük miktarlarda NO sentezine neden olmaktadır. Ca^{+2} bağımsız NOS ise NOS II (i NOS) monosit ve makrofaj gibi birçok hücrede bulunmakta ve yüksek düzeylerde NO salınımını sağlar. Ateroskleroz, sepsis, artrit ve diyabet patogeneğinde fazlaca oluşan NO'nin peroksinitritlere dönüşerek sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur. Hem de DNA'da hasarlanma oluşturarak mutajenik ve kanserojenik etkilere yol açabilirler. Patolojik durumlarda iNOS artarak, fazlaca NO salınımına neden olmaktadır. Proinflamatuvar ajanlar olarak kabul edilen TNF alfa, IL-1, LPS'ler bu salınımı daha da artırmaktadır. LPS ile ortaya çıkarılan iNOS aktivitesi resveratrol ile belirgin olarak gösterilmiştir (176).

Resveratrolün siklooksijenaz – 2 (COX – II) ve dolayısı ile prostaglandin E2 (PGE2) sentezini doz bağımlı olarak azalttığı diğer COX – II inhibitörleri ile mukayese

edilerek yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (178). H₂O₂ ile uyarılmış insan eritrolösemi hücrelerinde lökotrien B₄ (LTB₄) ve PGE₂ düzeyleri resveratrol tarafından belirgin olarak baskılanmıştır. Resveratrolün farklı konsantrasyonları farklı enzimleri etkilemektedir, 4,5x10⁻⁶M derişiminde 5 lipooksijenazı, 4x10⁻⁵M derişiminde 15 lipooksijenazı, 3,5x10⁻⁵M derişiminde COX aktivitesini baskılamaktadır (179). COX – II hücrelerin proliferasyonunda önemli olup, transforme olan hücrelerde de bariz olarak yüksek bulunmuştur. Fetal sığır serumu ve trombositlerden elde edilen büyüme faktörü ile uyarılan 3T6 tromboplast hücre kültürlerinde, resveratrol reaktif oksijen türevlerini baskılayarak, Arışidonik asit(AA) ve PGE₂ üretiminde inhibitör etki göstermiştir. Böylece resveratrolün hem antiproliferatif hemde antiinflamatuvar etkisi bir kez daha gösterilmiştir. AA'ın artışının reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu artırdığı ve bu reaktif oksijen türevlerinin COX – II oluşumunu artırdığı bilinmektedir. Forbol ester ve LPS ile uyarılmış peritoneal makrofaj hücrelerinde reaktif oksijen türevlerinin salınımı, AA artışı, COX – II artışı ve PGE₂ oluşumu resveratrol tarafından baskılanmıştır. Resveratrol hem COX – II'yi direkt inhibe ederek hemde reaktif oksijen türevlerini inhibisyonla antiinflamatuvar etki göstermektedir (176). Sıçan arka pençesinde karregenen isimli madde ile lokal doku hasarı oluşturularak, hiperaleji oluşturulan bir çalışmada; resveratrolün ağrıyı anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Bunu ise lokal ağrı mediatörlerinin etkilerini engelleyerek, COX – II indüksiyonunu azaltarak ve arilhidrokarbon reseptörlerinin etkisini bloke ederek yaptığı düşünülmüştür (180). Sıçan arka pençesinde %1'lik ve %5'lik formalinle oluşturulan ağrı için selektif COX – II inhibitörü olan selekoksibin, diklofenak ve resveratrol uygulamalarında selekoksibinin etkisi olmadığı, diğer ikisinde doz doz bağımlı olarak etkileri gösterilmiştir. Karregenen ile oluşturulan inflamasyonda resveratrolün PGE₂ oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir. Bunların değerlendirilmesi sonucunda resveratrolün, selektif COX – II inhibitörü olan selekoksibinden daha potent olduğu düşünülmüştür (181).

İnsan safen veni endotel hücrelerinin LPS ile ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinin TNF alfa ile uyarıldığı bir çalışmada; resveratrolün hücre içi adezyon molekülü -1 (ICAM-1) ve vasküler adezyon molekülü 1 (VCAM-1)'i inhibe ettiği bulunmuştur.

Böylece nötrofillerin adezyonunu anlamlı olarak baskıladığı görülmüştür (183).

TNF α 'nın tirozin kinaz aktivitesini potansiyelize ederek vasküler permeabilite artışı yaptığı bilinmektedir. Fare karaciğer perfüzyon modeli ve böbrek perfüzyon

modelinde resveratrolün tirozin kinaz aktivitesini inhibe ederek, permeabiliteyi azalttığı ve antiinflamatuvar etki gösterdiği düşünülmüştür (184,185).

3. MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın Deneysel Tıp ve Hayvan Laboratuvarında, çalışma ile ilgili 28/01/2010 tarih ve 2010/01-2 sayılı izni ile yapıldı.

Çalışmada, ağırlıkları 225-250 gram arasında değişen (ortalama ağırlığı:225±25,3 gr), 20 haftalık, 85 adet dişi Wistar türü albino rat kullanıldı. Hem ameliyat öncesi, hem de ameliyat sonrası dönemde denekler sabit çevre koşulları içinde, standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu ile beslendi. İlaç uygulanacak gruplardaki ratlara 4-F besleme tüpü ile operasyon günü dahil 10 mg /kg resveratrol (Resveratrol, Now Foods, Bloomingdale, USA)günlük orogastrik yol ile verildi.

3.1.Çalışma Grupları

Sham grup: (kontrol grubu)

Sadece ortahat laparotomi uygulandı ve kontrol grubu olarak tanımlandı. Batın 3 cm'lik orta hat insizyon ile açılıp, tüm ince barsaklar ve kolon insizyondan dışarı çıkarıldı. Beş dakika beklenip tekrar batın içerisine gönderildi.

1.Grup: Sağlıklı sol kolon anastomozu uygulanan denekler postoperatif 4. gün sakrifiye edildi (POG 4).

2.Grup: Sağlıklı sol kolon anastomozu uygularak 10mg/kg/gün dozda RSV orogastrik yolla verilen denekler postoperatif 4. gün sakrifiye edildi. (POG 4 +RSV)

3.Grup: İskemik sol kolon modelinde anastomoz uygulanan denekler postoperatif 4. gün sakrifiye edildi (POG 4 İSKEMİK).

4.Grup: İskemik sol kolon modelinde anastomoz uygularak 10mg/kg/gün dozda RSV orogastrik yolla verilen denekler postoperatif 4. gün sakrifiye edildi. (POG 4 İSKEMİK + RSV)

5.Grup: Sağlıklı sol kolon anastomozu uygulanan denekler postoperatif 7. gün sakrifiye edildi (POG 7).

6.Grup: Sağlıklı sol kolon anastomozu uygularak 10mg/kg/gün dozda RSV orogastrik yolla verilen denekler postoperatif 7. gün sakrifiye edildi. (POG 7 + RSV)

7.Grup: İskemik sol kolon modelinde anastomoz uygulanan denekler postoperatif 7. gün sakrifiye edildi (POG 7 İSKEMİK).

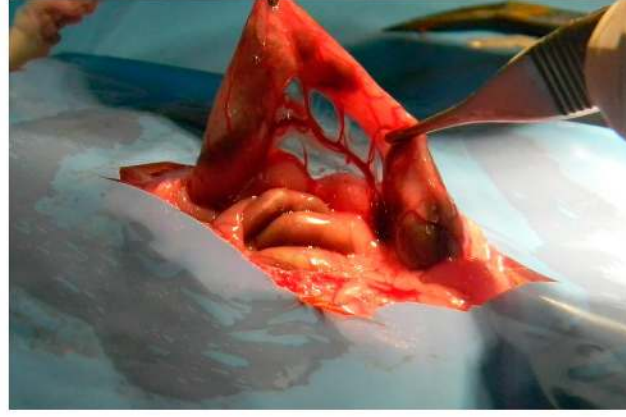
8.Grup: İskemik sol kolon modelinde anastomoz uygulanarak 10mg/kg/gün dozda RSV orogastrik yolla verilen denekler postoperatif 7. gün sakrifiye edildi. (POG 7 İSKEMİK+ RSV)

Ratlar kardiyak kan alma yöntemiyle sakrifiye edildi.

3.2. Cerrahi İşlem

Ameliyatlar gruplar halinde ve diurnal değişikliklerin sonuca yansımaları standardize edebilmek için sabah saat 9 ve 12 arasında yapıldı. Ameliyatlar steril olmayan temiz koşullarda gerçekleştirildi. Deneklere herhangi bir kolon temizliği yapılmaksızın, ketamin hidroklorür 50mg/kg (Ketalar® 50mg Flakon, Eczacıbaşı, İstanbul) intramüsküler enjeksiyon yoluyla uygulanarak anestezi sağlandı. El becerisinin sonuçları etkilememesi için, her gruptan denekler aynı cerrah tarafından ameliyat edildi. Sırt üstü yatar pozisyonda ameliyat masasına tespit edilen ratların karın tüylerinin temizlenmesinin ardından karın derisi %10'luk povidon iyodür (İsosol, Merkez Lab, Türkiye) solüsyonu ile temizlendi (Resim 3.1).

Deneklerin batınına ortahat laparotomi (3 cm) yapılarak girildi. Standart anastomoz grubunda sol kolon tespit edilerek ortaya kondu barsak segmentinin kanlanması bozulmayacak şekilde transekte edildi ve fekal içerik batın içi kontamine edilmeden tahliye edildi. Anastomoz atravmatik 6/0 polipropilen (6/0, Atraumatic Prolene Suture, Ethicon® Johnson&Johnson, Belgium) dikiş materyali ile uç-uca olacak şekilde, 8 adet tek tek atılan invert edici dikişlerle gerçekleştirildi (Resim 3.1). Dehidrasyonu önlemek amacıyla karın içine 3 cc serum fizyolojik solüsyonu enjekte edildi. Karın 3/0 atravmatik ipek dikiş (3/0, Atraumatic Silk Suture, Ethicon® Johnson&Johnson, Belgium) ile tek kat halinde devamlı dikişler ile kapatıldı ve povidon iyodür ile temizlendi. İşlem sonrası ratlara 6. saatten itibaren standart laboratuvar yemi ve su verildi.



Resim 3.1.Rat sol kolon anatomisi

Grup 2-4-6-8’de yer alan ratlara orogastrik olarak 10mg \kg\gün dozda RSV (Resveratrol, Now Foods, Bloomingdale, USA) uygulandı.

İskemik gruptaki deneklerde, peritoneal refleksiyonun 3 cm proksimalindeki kolon segmentinin, 1,5 cm distali ve 1,5 cm proksimali arasında kalan marjinal arterler ve vasa rektalar bipolar elektrokoter kullanılarak koagüle edildi (Resim 3.1). Bu işlem anastomotik yaranın sadece intramukozal olarak beslenmesini sağlayarak göreceli bir iskemi oluşmasına olanak tanıdı ve bu kan akımı sayesinde kolon dokusunda nekroz gelişmedi. İskemi yaratılan segmentin ortasına gelecek şekilde bağırsak segmenti tam kat kesildi. Anastomoz ve süregelen prosedür diğer gruptaki gibi tamamlanarak takip edildi.

3.3. Sakrifikasyon

Denekler gruplarına göre ameliyat sonrası 4. gün ve 7. gün yukarıda tarif edilen anestezi yöntemi ile uyutularak, orta hat laparotominin ardından intrakardiyak kan alma yöntemi ile sakrifiye edildi. Deneklerin kanları EDTA içerikli tüplere alınarak santrüfüje edildi. Patlama basıncının ölçülmesinin ardından kolon segmenti anastomoz hattının 2 cm proksimal ve 2 cm distalini içerecek şekilde rezeke edilerek, anastomozun ortasından geçecek şekilde iki eşit parçaya bölündü. Bir parça histopatolojik inceleme için %10’luk formaldehid solüsyonuna konuldu, diğer parça hidroksiprolin düzeyi ölçümü için -80°C’de donduruldu. -80°C’de dondurulmuş doku örnekleri liyohipolize edildi ve ezildi. Hidrolizasyon örneklerinden 25 µL alınarak liyohipolize edildi ve 1ml %50 (v/v) izopropil

alkolde çözüldü. 10 dakika sonra bu örnekler kolaramin-T eklendi. Ardından 1 ml. Erlich solüsyonu eklenerek 50 °C'de 90 dak. inkübe edildi. Reaksiyon sonrası oluşan renk değişikliği 560 nm dalga-boyulu spektrofotometre kullanılarak değerlendirildi. Aynı koşullar altında, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.2, ve 1.6 µg'lik hidroksprolin standartları incelendi. Standart eğri kullanılarak örnek konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar µg/mg doku olarak kaydedildi.

3.4. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü

Patlama basıncını ölçmek için sıvı pompası (Infusion pump, Abbott, ABD), basınç transdüseri (Transpac IV, Abbott, ABD) ve monitör (Petas KMA 460 R, Ankara, Türkiye) temin edildi. Karın açıldıktan sonra anastomoz yapılan bulundu. Anastomoz bölgesindeki yapışıkların giderilmesi veya manüplasyonu anastomozu zedeleyerek kaçak oluşmasına yol açabileceğinden ve böyle bir kaçağın ölçümlerin farklı çıkmasına neden olabileceğinden, çevre yapışıklıklar korundu.

Akse, anastomoz ayrılması ve kaçak varlığı dikkatlice incelendi. Anastomoz bütünlüğünün korunmasına özen gösterildi. Anastomoz hattının distal ucuna minibulldog klemp yerleştirilerek hava ve sıvı kaçağı engellendi. Anastomozun proksimal ucu transekte edildi ve içindeki fekal içerik (varsa) uzaklaştırılarak içine basınç transdüseri ile monitöre bağlanan 6 french kalınlığında kateeter yerleştirildi.

Hava ve sıvı kaçağını önlemek amacıyla 2/0 ipek ile kateter tespit edilerek kapalı bir sistem oluşturuldu. Perfüzyon pompası ile 50 ml/saat hızla proksimale yerleştirilen kateterden kolon içine sıvı verildi ve monitörde basınç takip edildi. Anastomozdaki patlama sırasında sıvı kaçağı veya basınçta ani düşme belirlenerek, o andaki monitör göstergesi anastomoz patlama basıncı olarak kaydedildi.

3.5. Biyokimyasal İnceleme

Serum biyokimya değerleri için deney hayvanlarının diseksiyonu sırasında kalpten alınan kan örnekleri jelli tüplere aktarıldı. MSE Mistral 2000 marka model santrifüj makinasıyla 300 Rpm de santrifüj edildi. Elde edilen serumlar polietilen tüplere aktarılıp analiz edilinceye kadar -80 C da derin dondurucuda bekletildi. Karaciğer hücrelerinde oluşabilecek fonksiyon bozuklarını tespit etmek için alanin aminotransferaz

(ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) çalışıldı. Tüm serum analizleri HITACHI-917 marka oto analizörde Human (Human Gessellschaft für Biochemica and Diagnostica mbH, Weisbaden Germany)marka ticari kitler kullanılarak yapıldı .

3.6. Histopatolojik İnceleme

%10'luk formaldehit solüsyonu içine konularak saklanan doku parçalarında parafin bloklar hazırlanarak, 4.5 mikron kalınlığında kesitler halinde hemtoksileneozin ile boyanıp tek bir patolog tarafından kör olarak ışık mikroskobunda değerlendirildi (Olympus, BX51, Japan.) Mukozal iskemi Chiu ve arkadaşları tarafından önerilen skala doğrultusunda skorlandı (Tablo 3.1). Anastomotik yara iyileşmesinin histolojik değişiklikleri, granülasyon dokusu oluşumu ve lokal inflamatuvar cevap Houdart ve Hutschenreiter tarafından oluşturularak Garci ve arkadaşları tarafından modifiye edilen parametreler doğrultusunda değerlendirilerek skorlandı (30) (Tablo 3.2).

Tablo 3.1. Chiu ve arkadaşları tarafından önerilen mukozal iskemi skalası (30)

Evre I	Normal mukozal villus
Evre II	Villusun apeksinde (genellikle) subepitelyal Gruenhagen's bosluğunun gelişimi ve (sıklıkla) kapiller konjesyon
Evre III	Subepitelyal bosluğun genişlemesi (lamina propriadan epitelyal tabakayı ılımlı şekilde kaldırması)
Evre IV	Villus kenarlarından masif epitelyal kalkma (birkaç uç denude olabilir)
Evre V	Lamina propria ile birlikte villusun denude olması ve dilate kapillerler ekspozе Olması

Tablo 3.2. Anastomotik yara iyileşmesi, granülasyon dokusu gelişimi ve lokal inflamatuvar cevabın histolojik değişikliklerin incelendiği parametrelerin skorlanması (30)

1. Mukozal Anastomotik Reepitelizasyon	
Evre 0:	Anastomoz hattında epitelizasyonun yokluğu
Evre 1:	Anastomotik yaranın tek tabaka hücre ile eksik olarak kaplanması
Evre 2:	Anastomotik yaranın tek tabaka hücre ile tam olarak kaplanması
Evre 3:	Glandüler epitelle birlikte tam reepitelizasyon

2. İnflamatuvar Granulom ve Granülasyon Dokusu Oluşumu				
	İnflamatuvar hücre varlığı	Neovaskülerizasyon	Fibroblastlar	Fibrozis oluşumu
Evre 1	yok	yok	yok	yok
Evre 2	az	az	az	az
Evre 3	orta	orta	orta	orta
Evre 4	yoğun	yoğun	yoğun	yoğun

3. Kas Tabakası Yıkımı			
	İskemik nekroz	Kas Tabakası devamlılığı	inflamasyon
Evre 1	yok	Tam bozulma	Yok
Evre 2	az	Kas sineşisi	az miktarda
Evre 3	orta	Tam yapılanma	orta
Evre 4	yoğun	-	yoğun

4. Anastomotik Yaraya İnflamatuvar İnfiltrasyon				
	Nötrofil	Lenfosit	Histiyosit	Dev hücre
Evre 1	Yok	yok	yok	yok
Evre 2	az	az	az	az
Evre 3	orta	orta	orta	orta
Evre 4	yoğun	yoğun	yoğun	yoğun

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.0 programı kullanılmıştır.

Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotları (Frekans sayımı, ortalama, ortalamanın standart hatası) kullanılmıştır. Sınıflandırılmış verilerin gruplar arası karşılaştırılmasında ki-kare, veri uygun olmadığı (gözelerde 4 ve daha küçük frekans olması) durumda Fisher's Exact Testi uygulanmıştır. Çalışmaya alınan örneklemin küçüklüğü göz önüne alınarak parametrik olmayan yöntemler; Kruskal Wallis Analizi, Mann Whitney U Test kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık 0,95 önem düzeyinde p değerinin 0,05' den küçük olması olarak kullanıldı.

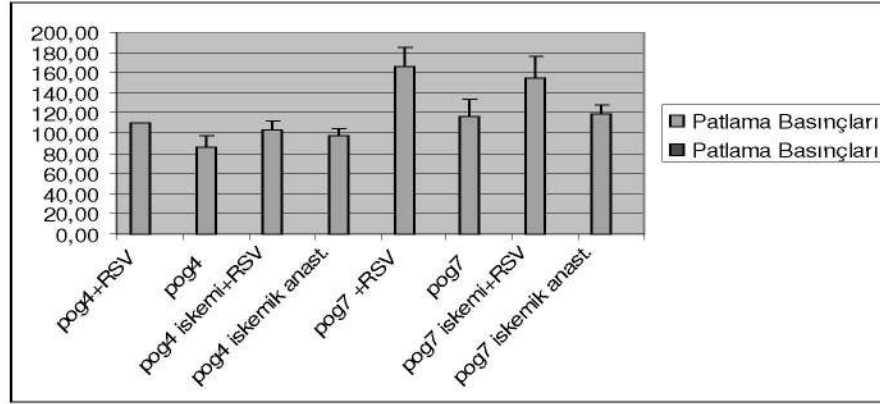
4. SONUÇLAR

4.1. Anastomoz Patlama Basıncı Değerleri

Anestezi ve cerrahi işleme bağlı hiçbir grupta ölüm görülmedi. Tüm deneklerde patlamanın anastomoz hattından olduğu görüldü. Anastomoz sonrası 4. ve 7. gündeki patlama basınç değerleri ve standart sapmaları Tablo 4.1’de ve gruplara göre anastomoz patlama basınç değerlerinin dağılımı Grafik 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Grupların anastomoz patlama basınçları (mmHg) ve P değerleri

Gruplar	Anastomoz P değerleri	Standart Sapma
Pog 4	87,500	9,442
Pog4+rsv	111,500	10,916
Pog 4 iskemi	94,000	19,258
Pog 4 iskemi+ rsv	101,000	7,0308
Pog 7	117,500	21,838
Pog7+rsv	169,000	16,400
Pog 7 iskemi	120,000	12,050
Pog 7 iskemi+ rsv	152,000	9,140



Grafik 4.1. Grupların anastomoz patlama basınç(mmHg) grafiği

Gruplar patlama basıncı açısından değerlendirildiğinde postoperatif 7. günde tespit edilen değerlerin postoperatif 4. gün değerlerinden anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). RSV uygulamasının postoperatif 4. günde hem iskemik hem de normal anastomoz uygulanan deneklerin patlama basınçlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edildi($p<0.05$). Postoperatif 7. gün açısından incelendiğinde ise benzer şekilde RSV uygulanan gruplarda patlama basınçlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). Bu veriler doğrultusunda RSV uygulamasının hem normal hem de iskemik anastomozda patlama basınçlarını anlamlı derecede arttırdığı sonucuna varıldı ($p<0.05$).

4.2. Biyokimyasal Değerlendirmeler

Biyokimyasal parametrelerden dokuda hidroksiprolin düzeyleri ile serumda ALT, AST, MDA, ve SOD değerleri çalışıldı. Postoperatif 4. ve 7. günlerdeki normal anastomozlu deneklere RSV uygulanmasının doku hidroksiprolin seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı saptandı. ($p<0,05$) Tablo 4.2. Benzer şekilde 4.ve 7. gün RSV uygulanmış iskemik anastomoz modelinde de deneklere RSV verilmesi sonrası doku hidroksiprolin seviyelerinde anlamlı artış tespit edildi. ($p<0,05$) Grafik 4.2.

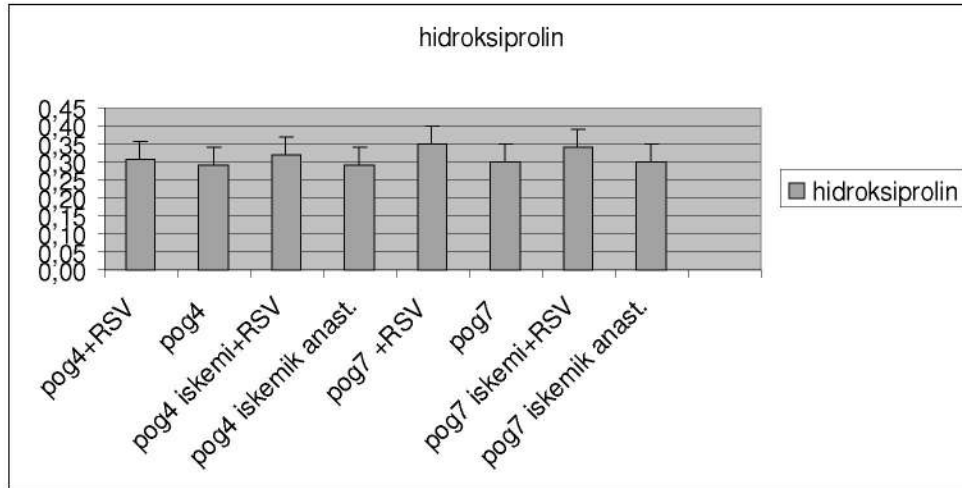
RSV uygulanmış 4.ve 7. günde sakrifiye edilmiş denekler ile uygulanmamış olan gruplar arasındaki karşılaştırmada serum MDA, ve SOD değerleri açısından istatistiksel anlam saptanmazken ($p>0,05$), RSV almış gruplarda SOD değerlerinde yükselme eğilimi,

MDA değerlerinde ise düşme eğilimi görüldü. Gruplar arasında ALT değerlerinde farklılık saptanmadı. ($p>0,05$) Grafik 4.3 ve grafik 4.4.

AST değerlerinde ise sadece 7.gün iskemi+RSV'li grup ile iskemik ilaçsız grup arasında anlamlı derecede fark saptandı. ($p<0,05$) Tablo 4.3.

Tablo 4.2. Hidroksiprolin ortalamaları ve standart sapmaları

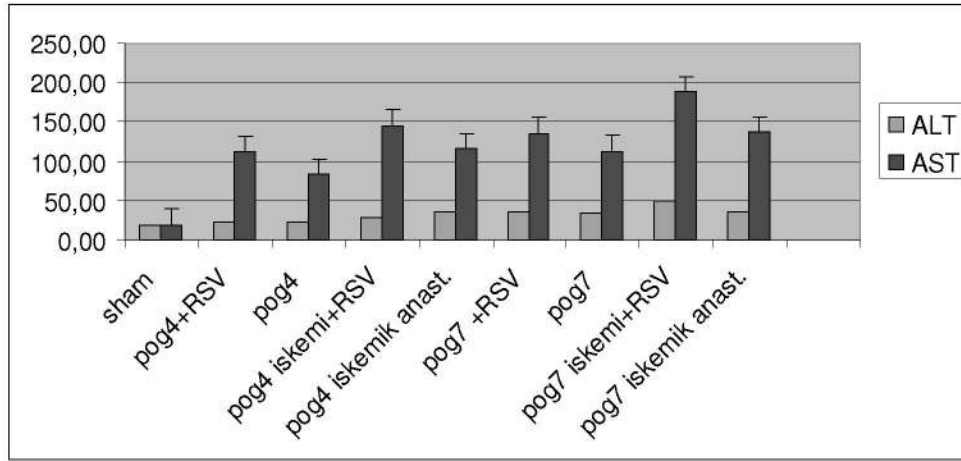
Gruplar	Doku Hidroksiprolin Ortalaması	Standart Sapma
sham	0.3060	0.1960
Pog 4	0.2965	0.00751
Pog 4 + rsv	0.3120	0.00806
Pog 4 iskemi	0.3005	0.01291
Pog 4 iskemi+ rsv	0.3225	0.01321
Pog 7	0.3040	0.01416
Pog 7 + rsv	0.3520	0.02188
Pog 7 iskemi	0.3090	0.01081
Pog 7 iskemi+ rsv	0.3410	0.01553



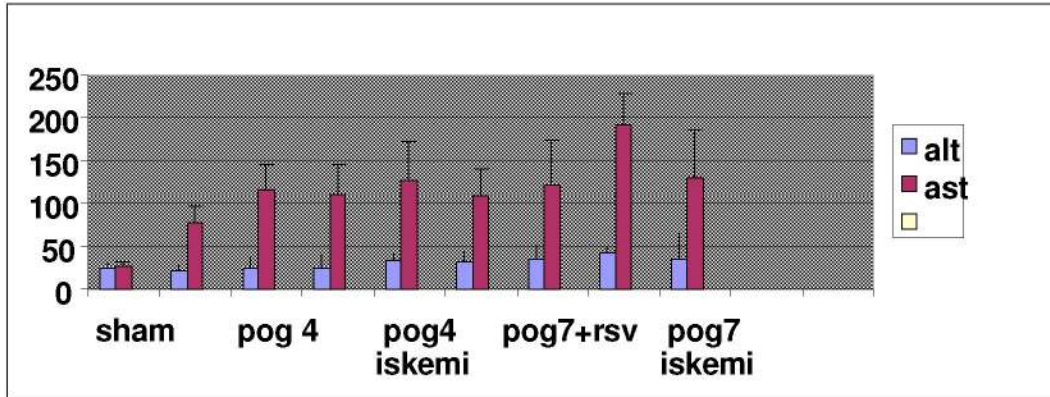
Grafik 4.2. Gruplara göre ortalama hidroksiprolin değerleri

Tablo 4.3. Gruplara göre ALT, AST değerleri ve standart sapmaları

Gruplar	ALT	Standart Sapma	AST	Standart Sapma
sham	24,643	7,232	26,32	5,452
Pog 4	25,000	8,353	77,000	19,0522
Pog 4 + rsv	21,000	11,730	117,000	29,105
Pog 4 iskemi	33,000	15,101	110,500	36,454
Pog 4 iskemi+ rsv	25,500	8,993	127,500	45,277
Pog 7	34,500	11,266	108,500	32,846
Pog 7 + rsv	32,000	16,256	121,500	52,102
Pog 7 iskemi	36,000	6,324	139,000	36,651
Pog 7 iskemi+ rsv	42,500	29,997	192,000	57,195



Grafik 4.3. Gruplara göre alt ast oranları



Grafik 4.4. Gruplara göre standart sapmaları ile birlikte sod mda oranları

4.3. Histopatolojik Değerlendirme

Mukozal iskeminin analizini sağlayan Chiu skorları açısından gruplar karşılaştırıldığında RSV uygulamasının iskemik anastomoz modelinde hem 4 hem de 7. gün skorlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü görüldü. Grafik 4.5. (P<0.05)

Bu parametrenin yanı sıra mukozal anastomotik reepitalizasyonda 4.ve 7.günlerdeki RSV almış iskemik gruplarda almamış olan kontrol gruplarına göre anlamlı olarak epitelizasyon lehine sonuçlar saptandı. Tablo 4.4. (P<0.05)

Kas tabakası devamlılığı, dev hücre, lenfosit, histiyosit oranlarında grupların karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmadı. Tablo 4.4. (P>0.05)

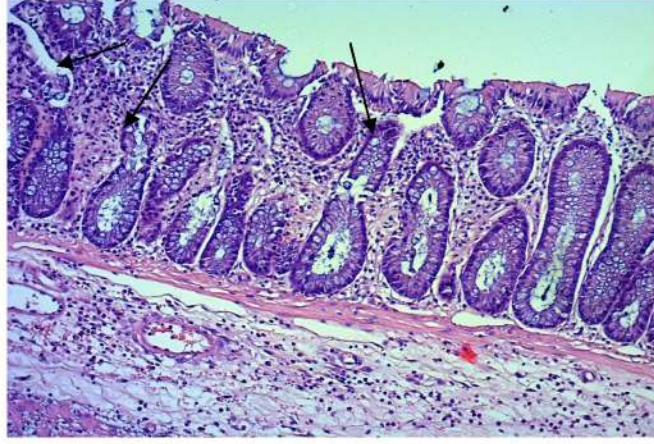
İskemik anastomozlu 4 ve 7. günlerdeki RSV almış ve almamış gruplar arasında iskemi oranlarında anlamlı derecede fark saptandı. RSV almış gruplarda istatistiksel olarak iskemi düşük bulundu. (P<0.05) İskemi yaratılmamış 4. ve 7.gün normal anastomozlu deneklerin ilaç alanları arasında histopatolojik skorlamada iskemi düzeylerinde istatistiksel fark saptanmadı. (P>0.05) Grafik 4.7.

Fibrosiz ve neovaskülerizasyon oranları 4.gün normal anastomozlu denekler ile RSV almış grup arasında ve iskemik 7.gün deneklerin RSV almış ve RSV almamış anastomozlu grupları arasında kaydadeğer farka sahipti. (P<0.05) Grafik 4.6 ve 4.8.

Normal anastomozlu 4.ve 7. gün grupların inflamasyon oranlarında RSV almış gruplarda almamış gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı düşük skorlar saptandı. (P<0.05)

Benzer ilişki İskemik kolon anastomozu oluşturulmuş 4. ve 7.günlerdeki RSV almış grupların almamışları ile karşılaştırılmasında saptandı. İnflamasyon değeri iskemik RSV'li gruplarda almamışlara oranla daha düşük saptandı. (P<0.05) Grafik 4.9.

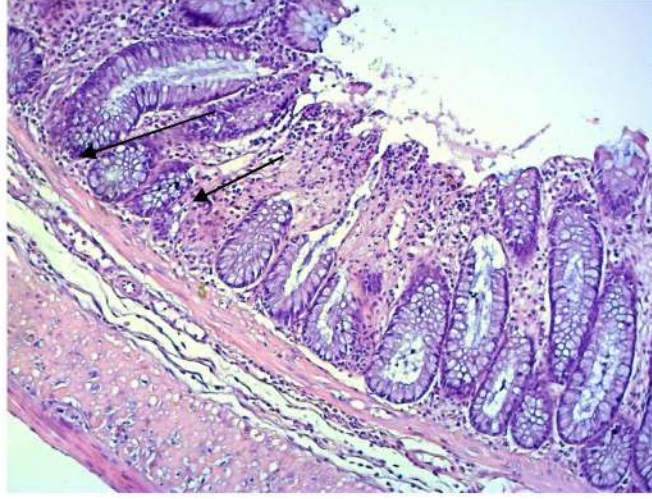
Notrofil oranları açısından ise sadece ilaç almış 7.gün iskemik anastomozlu grubun almamış olan gruba oranla farkı mevcuttu. (P<0.05)Grafik 4.10.



Resim 4.1. Epitel tabakasının ılımlı biçimde eleve olması
Pog 7 +RSV ve pog 7 iskemik anastomozda saptanmıştır. (H&E x 100)

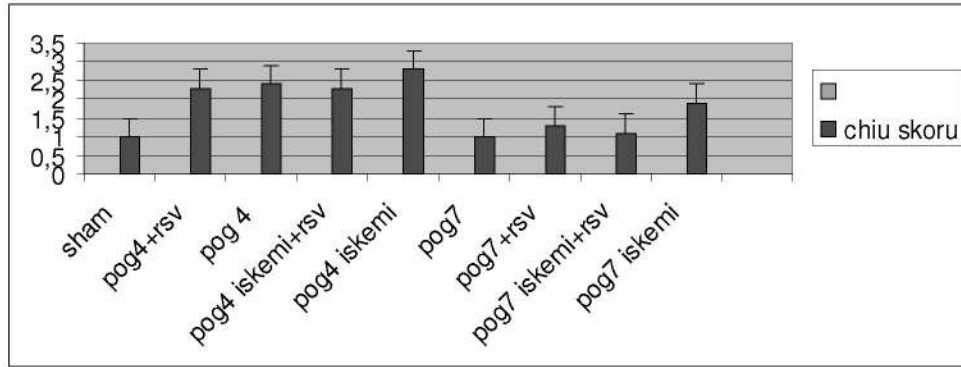


Resim 4.2. Pog 7 iskemik anastomozlu denek histopatolojik görüntüsü (H&E x 100)

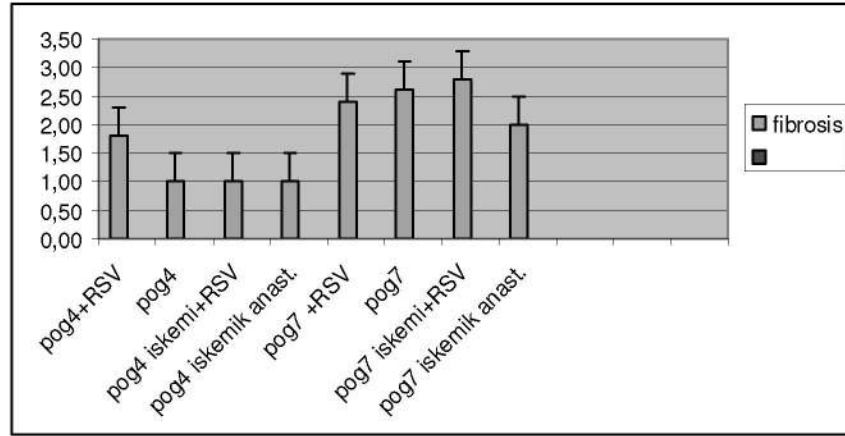


Resim 4.3. Pog 4 iskemik anastomozda saptanmış olan lamina propria ile birlikte villusun kaybı.

Bu grupta en yüksek chiu skoru saptanmıştır. Burada yoğun inflamasyon ile birlikte kas dokusu kaybı görülmektedir. (H&E x 100)



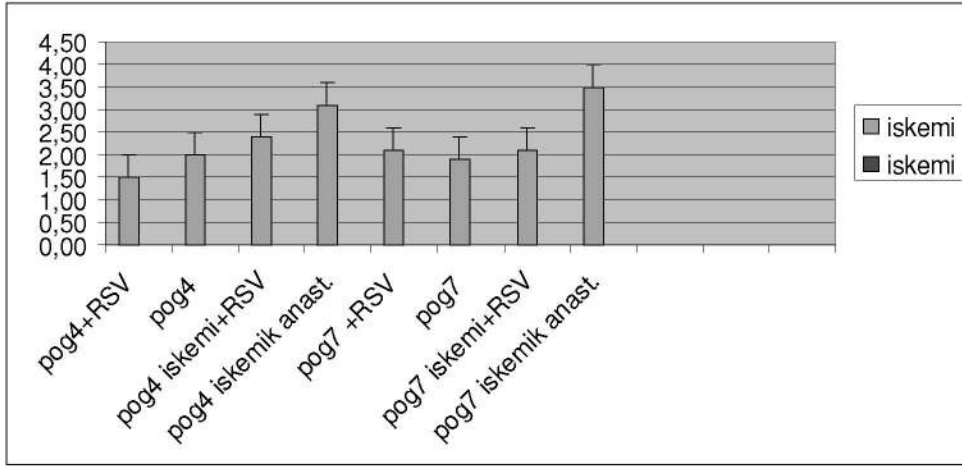
Grafik 4.5. Gruplara göre chiu skorlaması ortalama değerleri



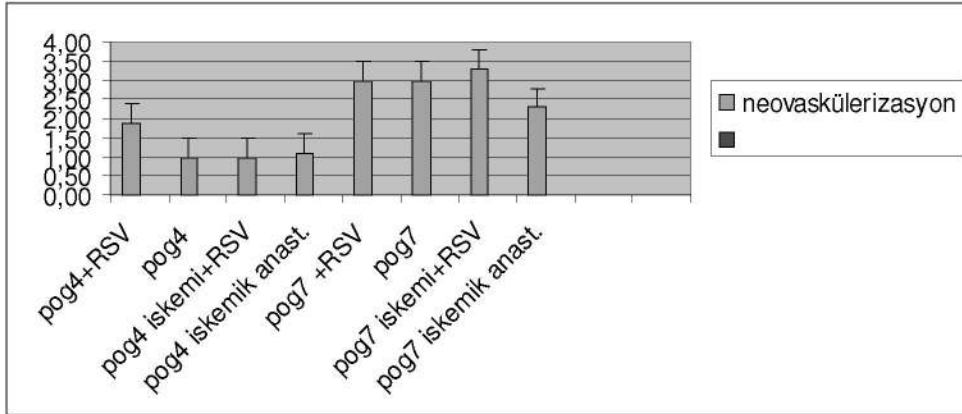
Grafik 4.6. Gruplara göre fibrozis oranları

Tablo 4.4. Grupların histopatolojik sonuçları ve istatiki karşılaştırmaları

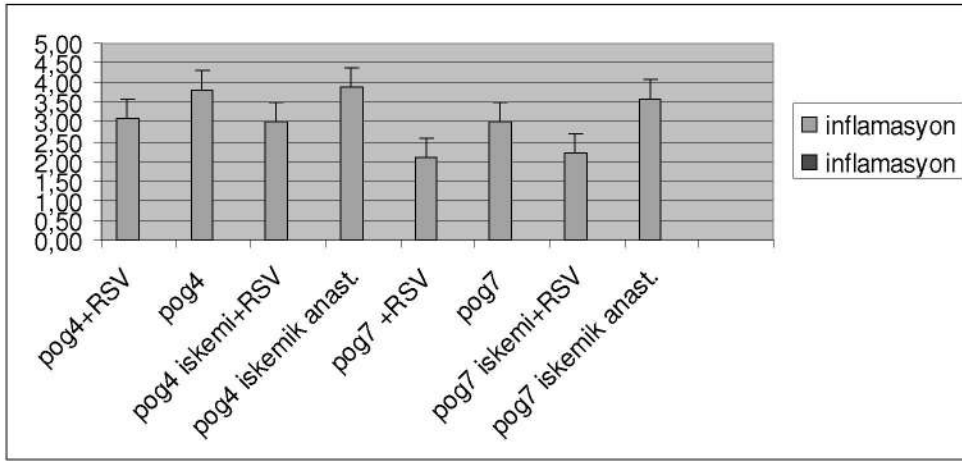
	Skor değeri	Pog4 N(10) (I)	Pog4+ RSV N(10) (II)	Pog4 İskemi N(10) (III)	Pog4 İskemi+ RSV N(10) (IV)	Pog7 N(10) (V)	Pog7+ RSV N(10) (VI)	Pog 7 İskemi N(10) (VII)	Pog7 İskemi+ RSV N(10) (VIII)	Grupların P Değerleri			
										Grup I-II	Grup III-IV	Grup V-VI	Grup VII-VIII
Chiu skoru	1	0	0	0	0	7	10	1	9	P>0.05	P<0.05	P>0.05	P<0.05
	2	6	7	3	7	3	0	9	1				
	3	4	3	6	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0	0	0	0	0				
	5	0	0	1	0	0	0	0	0				
Mukozal Anasto- motik reepitalizasy on	0	0	0	10	5	0	0	9	2	P>0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05
	1	0	2	0	5	4	0	1	8				
	2	10	8	0	0	5	10	0	0				
	3	0	0	0	0	1	0	0	0				
İnflamatuvar hücre varlığı	3	0	5	0	7	5	8	1	6	P>0.05	P<0.05	P>0.05	P>0.05
	4	10	5	10	3	5	2	9	4				
neovasküleri zasyon	1	10	1	9	10	0	0	0	0	P<0.05	P>0.05	P>0.05	P<0.05
	2	0	9	1	0	0	0	3	0				
	3	0	0	0	0	10	10	7	7				
	4	0	0	0	0	0	0	0	3				
fibroblastlar	1	10	2	10	10	0	0	0	0	P<0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05
	2	0	8	0	0	4	6	9	2				
	3	0	0	0	0	6	4	1	8				
	4	0	0	0	0	0	0	0	0				
fibrozis	1	10	2	10	10	0	0	0	0	P<0.05	P>0.05	P>0.05	P<0.05
	2	0	8	0	0	4	6	10	2				
	3	0	0	0	0	6	4	0	8				
İskemik nekroz	1	10	5	0	0	1	0	0	0	P>0.05	P<0.05	P>0.05	P<0.05
	2	0	5	0	6	9	9	0	9				
	3	0	0	9	4	0	1	5	1				
	4	0	0	1	0	0	0	5	0				
Kas tabakası devamlılığı	1	0	0	0	0	00	0	0	0	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05
	2	10	10	10	10	10	10	10	10				
inflamasyon	1	0	0	0	0	0	0	0	0	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05
	2	0	0	0	0	1	9	0	8				
	3	2	9	1	10	8	1	4	2				
	4	8	1	9	0	1	0	6	0				
notrofil	2	0	0	0	0	0	0	0	1	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P<0.05
	3	0	0	0	0	1	8	0	9				
	4	10	10	10	10	9	2	10	0				



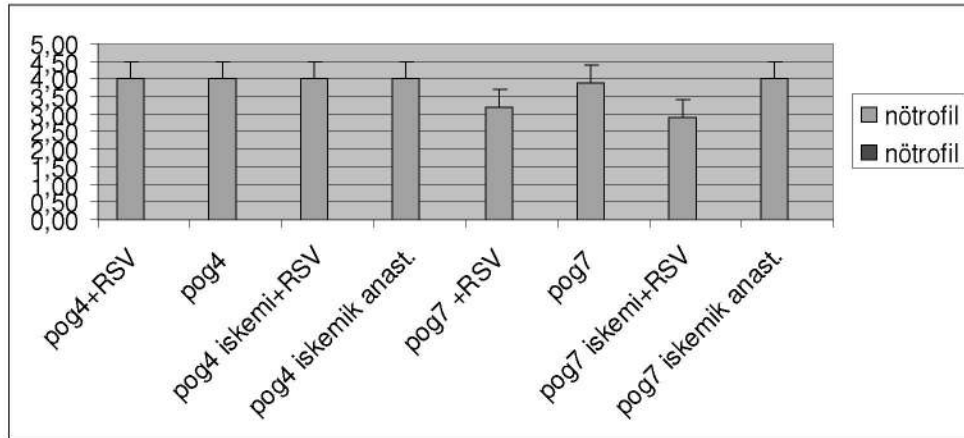
Grafik 4.7. Gruplara göre iskemi oranları



Grafik 4.8. Gruplara göre neovaskülerizasyon ortalama değerleri



Grafik 4.9. Gruplara göre inflamasyon ortalama oranları



Grafik 4.10. Gruplara göre nötrofil ortalama oranları

5.TARTIŞMA

Günümüzde kolorektal kanser olgularının artışı tedavi amaçlı rezeksiyon ve anastomoz uygulamalarını oldukça sık gerçekleştirilir hale getirmiştir. Bu hastaların önemli bir bölümü ileri yaştaki hastalardan oluşmakta, bir kısmı ise kanama, obstrüksiyon veya perofrasyon nedeniyle acil şartlarda ameliyata alınmaktadır. Bunlar gibi hasta bağımlı faktörler ve cerrahinin gerçekleştirilme durumu anastomozlarda oluşabilecek komplikasyon oranlarını arttırmaktadır. Özellikle kolon rezeksiyonlarından sonra görülen anastomoz kaçakları yoğun fekal içerik nedeniyle mortalite ve morbiditede artışa yol açmaktadır. Bunun dışında, acil şartlarda ve iskemi durumunda kaçak riskinin daha çok arttığı yapılan klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır (39). Kolorektal cerrahide anastomoz kaçağı farklı serilerde değişik oranlarda bildirilmekle birlikte, Fielding ve arkadaşları tarafından incelenen geniş vaka serisinde bu oran %13 olarak bulunmuş, diğer bir çalışmada ise radyolojik kaçak oranının %51'e dek yükselebildiği ortaya konmuştur(40). Olusturabileceği sonuçlar göz önüne alındığında anastomoz iyileşmesini özellikle iskemi gibi morbidite arttırıcı faktörler varlığında iyileştirecek ve kaçak oranını azaltabilecek teknik uygulamalar ve farmakolojik ajanlar günümüz cerrahisinin temel araştırma konularından biri olmuştur.

Fransız paradoksuna göre Güney Fransa'da yaşayan halk arasında uzun süre günde 1-2 kadeh şarap içenlerde yağlı diyetlerine rağmen kardiyak şikayetlerin oldukça az olduğu belirtilir (179). Bu paradoksdan esinlenerek RSV ile ilgili çalışmalar başlamıştır. Bugüne kadar RSV ile ilgili pek çok çalışma yapılmış klinik yansıması ve kullandığı yolaklar ortaya konmaya çalışılmıştır. RSV nin çalışmalarla ortaya konmuş antioksidan, antiplatelet, anti-inflamatuar ve antikanserojenik etkilerine ek olarak vazodilatasyon, anjiogenetik ve antiapoptatik özellikleri iskemik anastomoz iyileşmesine muhtemel olumlu etki hipotezini doğurmaktadır. Çalışmamızda bu hipotezden hareketle deneysel araştırmada kullanılan kolonik iyileşme modeli temel iyileşme prensipleri insanlarınkine benzer olan ratlarda çalışıldı (30). Bakteriyel-fekal yoğunluk ve iskemiye hassasiyet nedeniyle komplikasyonlara yatkınlığı bilinen sol kolon anastomoz modelinde vasküler hasar yaratılarak iyatrojenik iskemi modeli tercih edilerek RSV'nin iskemik ortamda anastomoz iyileşmesi üzerine etkisi gözlemlendi.

Kolon lümeni içerisindeki mikroorganizma sayısı gastrointestinal sistemin diğer bölümlerindekinden daha fazla olması nedeniyle kolon anastomozlarında ayrılma riski, mide ve ince barsak anastomozlarından daha fazladır (57). Özellikle sol kolon distali, rezeksiyon sonrası anastomozlarda yüksek anastomoz kaçağı ve ayrışması riski taşıdığından yüksek morbidite ve mortalite potansiyeline sahiptir (58). Kolon anastomozu yapılan hastalarda ki postoperatif mortalitelerin %20-80 i anastomoz kaçağı ve buna bağlı gelişen komplikasyonlar nedeni ile meydana gelir (64).

Sütür hattında gerilim olmaması, kanlanmanın yeterli olması, etkili mekanik barsak hazırlığına eklenen profilaktik antibiyotik tedavisi, barsak içeriğinin peritona bulaşmamasını sağlamak, uygun dikiş materyali ve tekniğinin seçimi, bunun yanında yaş, obezite, malnütrisyon, üremi ve steroid kullanılması gibi etkenler anastomoz iyileşmesinde önemli olan faktörlerdir (2,4,5,107).

Tüm anastomozlarda olduğu gibi, kolon anastomozu iyileşmesinde de doku kanlanmasının ve oksijenizasyonunun önemi büyüktür (107). Kolonun düşük kollajen ihtiva etmesi, yüksek kollajenaz aktivitesi, kollateral dolaşımın az olması ve ekstrapéritoneal rektum kısmında serozanın olmaması gibi anatomik ve biyolojik özelliklerinden dolayı gastrointestinal sistemin diğer bölümleri ile karşılaştırıldığında, yapılan anastomozlarda kaçak oranı daha yüksektir (93).

Barsak anastomozlarında iyileşme mekanik, biyokimyasal veya histopatolojik olarak değerlendirilebilir. Patlama basıncı, artan lümen içi basınca karşı gelişen duvar rezistansının ölçümüdür, patlama basıncı barsaklardaki fizyolojik gerilimin yansımasıdır (94). İntestinal duvarın mekanik gerilimi, patlama basıncının ölçümü ile değerlendirilebilir. Patlama duvar basıncı, rüptür noktasındaki sirküler duvar basıncıdır. Kolon anastomozundan sonra patlama basınç değişikliklerinin karşılaştırılması, patlama basıncı ile anastomoz güvenliği açısından iyi bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Anastomozun erken gerilimi, submukozal kollajenin kapasitesi tarafından oluşturulur (94-95). İyileşmenin ilk günleri esnasında patlama gerilimi, anastomoz geriliminin direkt ölçümüdür. Patlama basıncı anastomozdan sonraki 2-3 günde en düşük düzeyde iken sonra hızla artarak 7. günde ameliyat olmamış kolon düzeyine ulaşır. Yedinci günden sonra ise çoğunlukla anastomoz hattı dışında bir lokalizasyonda patlama görülür (106,52). Çalışmamızda değerlendirmeler için anastomoz sonrası 4 ve 7. Günlerin seçilme nedeni dayanıklılığın en düşük olduğu, diğer bir deyişle kollejenolizisin kollejenogeneze oranla baskın olduğu bir iyileşme dönemi ile normal gerilim direncine ulaşmış, kollajen içeriğine sahip anastomozlarda karşılaştırma yapma olanağı sağlamasıdır. Mekanik değerlendirme

anastomozun patlama veya kopma kuvvetine bakılarak yapılırken biyokimyasal değerlendirme anastomoz bölgesindeki kollajenin yapım hızına, miktarına ve özelliklerine bakılarak yapılır. Çalışmamızda mekanik dayanıklılık patlama basıncı ölçümü ve kollagen içeriği anastomoz hattından hidroksiprolin düzeyi ölçümü ile değerlendirildi. Anastomozların histopatolojik incelenmesinde kantitatif analize olanak sağlayarak istatistiksel karşılaştırma imkanı vermesi açısından daha önceki çalışmalarda uygulanmış skorlama sistemleri kullanıldı (109).

Erken anastomoz geriliminde kullanılan sütür materyallerinin gerilim kuvveti, yeni oluşan kollajenler arasındaki köprülenmeye ve barsak duvarının orijinal geriliminin restore edilmesine ihtiyaç duyar. Bu nedenle kollajen sentezinin ilerlemesi, yara iyileşme döneminde ana rol oynar ve regülasyonunun engellenmesi anastomoz gerilimini etkiler. Ayrıca sadece kollajen kitlesi değil fibrillerin kalitesi de gerilimi belirler, ayrıca kollajen tipi ve çapraz bağların stabilitesi gerilimde önemlidir. Gerilim kuvveti, kollajen fibrillerin mekanik stabilitesi ve intermoleküler kros bağların oluşumuna bağlıdır (109).

Anastomozların dayanıklılığı anastomoz hattındaki kollajen miktarıyla paralellik gösterir. Anastomozdaki kollajen içeriği ise hidroksiprolin düzeyleri ölçülerek değerlendirilir. Hipoksi halinde doku hidroksiprolin düzeyinde azalma olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda RSV uygulamasının, hem iskemik hem de normal anastomoz sonrası 4. ve 7. günde doku hidroksiprolin düzeylerini, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı görüldü ($p<0,05$). Bu veri, RSV'nin hidroksiprolin seviyelerini iskemik ortamda dahi yükselterek anastomoz iyileşmesine pozitif etki gösterebileceğini sergilemektedir. RSV'nin kollagen mekanizması üzerine etkisi Bedirli ve arkadaşlarının RSV uygulanmış kolon anastomozu yaptıkları ratlarda yükselmiş hidroksiprolin seviyeleri ile birlikte artmış anastomoz güvenliğini çalışmalarında da gösterilmiştir (96). Bu etkiye neden olabilecek mekanizmaların aydınlatılması gerekmektedir.

RSV'nin anastomoz iyileşmesine olumlu etkisinin altında yatan potansiyel fizyolojik yolların incelendiği birçok çalışma mevcuttur. RSV'nin inflamasyon, inflamatuvar hücreler ve sitokinler üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalara bakıldığında resveratrolün siklooksijenaz – 2 (COX – II), prostaglandin E2 (PGE2), lökotrien B4 (LTB4) gibi inflamasyonda etkin sitokin ve enzimlerin sentezini doz bağımlı olarak azalttığı gösterilmiştir (100,167). Ayrıca, resveratrol reaktif oksijen türevlerini baskılayarak, Aritidonik asit ve ürünlerinin üretiminde inhibitör etki göstermiştir. LPS ile uyarılmış peritoneal makrofaj hücrelerinde ise reaktif oksijen türevlerinin salınımı,

Arişidonik asit artışı, COX – II artışı ve PGE2 oluşumu resveratrol tarafından baskılanmıştır. Diğer bir deyişle RSV'nin antiinflamatuvar etkinliği hem COX – II'yi direkt inhibe ederek hem de reaktif oksijen türevlerinin inhibisyonuyla gelişmektedir (177).

Gentili ve arkadaşlarının resveratrolün ağrıyı anlamlı olarak azalttığını göstermelerinin ardından antiinflamatuvar etkinlikte lokal ağrı mediatörlerinin etkilerinin engellenmesi hipotezini de doğrumuştur (240). Delmas ve ark.2005 yılında yaptıkları çalışmada RSV nin ekzojen oksidanları, kalsiyum akışını ve proinflamatuvar bileşikleri inhibe ettiğini belirtmişlerdir (186).

Çalışmamızın sonucunda, özellikle iskemik anastomoz gruplarında görülen aşırı inflamasyonun, RSV uygulanan gruplarda baskılanarak, normal anastomoz düzeyine yaklaşması, RSV'nin iskemik anastomoz iyileşmesinde, patlama basıncı ve doku hidrokspolin düzeylerinde artışla konfirme edilmiş pozitif etkisinden sorumlu faktörlerden biri olarak değerlendirilebilir.

RSV'nin iskemik yara iyileşmesi üzerindeki etkisinden sorumlu olabilecek diğer bir mekanizma ise oksidatif stres yolakları üzerine yarattığı etki olabilir. Resveratrolün serbest radikalleri ve diğer oksidanlar üzerine toplayıcı etkisi yüksektir. In-vitro olarak zayıf bir antioksidan olup in-vivo güçlü bir antioksidandır. Bunun sebebi NO sentezi ve serbest radikal süpürücü etkisi olduğu bilinmektedir. İskemi- Reperfuzyon hasarında kalp, beyin ve böbrekte resveratrol NO sentezini induklerken oksidatif stresi azaltmıştır. Resveratrolün O₂- ve H₂O₂'yi inhibe ettiği gözlenmiştir (179). Oksidatif stres göstergelerinden biri de membranların lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonun ise en önemli ürünü malondialdehid (MDA) olarak tanımlanmaktadır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nin nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (182). Çeşitli çalışmalarda resveratrolün MDA düzeylerini azaltarak oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (192,193,194).

Oksidatif hasarın önlenmesi yönünde etki eden süperoksitdismutaz (SOD), aerobik tüm hücrelerde bulunur. Hem sitozol, hem de mitokondrilerde bulunan bu enzim süperoksit radikallerini etkisizleştirerek, hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkilerinden korur. Dokularda oksijen basıncının (pO₂) yükselmesi ile SOD aktivitesi artar.

Enzim fagosit edilmiş bakterilerin intraselüler olarak öldürülmesinde rol oynar ve granülosit fonksiyonu için önemlidir (195).

Spanier ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada RSV'nin endotel hücrelerinde SOD,glutatyon peroksidaz(GSH) ve NADPH oksidaz subinetelerinde artış yaparak oksidatif stresi azalttığını belirtmişler (196).

Yao J ve arkadaşlarının deneysel kolit modelinde düşük ve yüksek doz resveratrol uygulamasının MDA , TNF- α , IL-8, IFN- γ seviyelerini düşürdüğü, SOD ve glutatyon peroksidaz seviyelerini yükselterek kolit gelişiminde gerileme oluşturduğu gösterilmiştir (197). Çalışmamızda farklı anastomoz günleri açısından grupların MDA ve SOD düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemekle birlikte, iskemik ortamda gerçekleştirilen anastomozlarda RSV uygulaması sonrası MDA düzeylerinin yükselme, SOD seviyelerinin ise düşme eğiliminde olması ajanının oksidatif stres basamakları üzerindeki etkisini kısmen de olsa göstermektedir. Ayrıca iskemik anastomoz modelinde RSV uygulamasının patlama basınçları ve dokuda kollagen miktarını yansıtan hidroksiprolin düzeyleri üzerindeki olumlu etkisinin gösterilmesi ve histopatolojik olarak inflamasyon ile anjiogenez üzerindeki etkisinin kanıtlanması, genel etkisinin oksidatif mekanizmalardan ziyade yukarıda sayılan yollar üzerinden olduğu görüşünü de doğrulamaktadır.

Resveratrolle ilgili yapılan araştırmalarda NO düzeyini artırarak, damar tonusunu azalttığı, damar düz kas çoğalmasını düzenlediği, trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu mekanizmalarla, adezyon oluşumunda sorumlu olduğu düşünülen iskemiye, iskemi-reperfüzyon hasarına ve trombositlere karşı gelişecek normalde koruyucu olan cevapların, aşırılığı engellenmiş olabilir (200,201,202,203).

RSV'nin, iskemik hasarı yavaşlattığı veya önlediği gösterilmiştir (198,199). İntestinal iskemi-reperfüzyon modelinde intravenöz RSV uygulamasının hasarı engellediği de gösterilmiştir (204). Penumathsa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada myokardiyal iskemi yaratılan ratlarda neovaskülerizasyonun ve kalp kasılma gücünde artış olduğu saptanmıştır (187). Çalışmamızda Chiu skalası ile değerlendirilen mukozal iskeminin RSV uygulaması sonrası iskemik ortamda gerçekleştirilen anastomozlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunması literatür verileri ile uyumluluk göstermektedir. Bu koruyucu mekanizmada RSV'nin antiinflamatuvar ve anjiogenetik özelliklerinin etkin olabilceği görüşü histopatolojik incelemede aynı gruplarda tespit edilen inflamatuvar hücre azalması, granülom oluşumu azalması ve neovaskülerizasyonda artış nedeniyle olası görünmektedir. Ayrıca iskemik

anastomozlarda RSV uygulaması sonrası reepitelizasyonun artması ve iskemik nekrozun azalmasında da yukarıdaki mekanizmalara ek olarak bölgesel ve sistemik oksidatif stresin azaltılması rol oynayabilir. İskemik hasardan koruyucu veya hasarı giderici hücresel fonksiyonların ortaya konulması ve kesin mekanizmaların belirlenmesi amacıyla daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Deneysel olarak kullanılan ajanların deney modeli üzerinde yaratacakları pozitif etkiler dışında üzerinde önemle durulması gereken diğer bir nokta ise organ sistemlerinde oluşturabilecekleri yan etkilerin irdelenmesidir. Bu amaçla çalışmamızda fazla miktrada akümüle olduğu gösterilen karaciğer üzerindeki etkisi karaciğer fonksiyon testlerinin incelenmesi ile değerlendirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı görülmüştür.

RSV, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, immünmodülatör, neovaskülarizasyonu arttırıcı, oksidatif stres ile karsinogeneze karşı koruyucu özelliklere sahip kardiyovasküler, serebrovasküler ve hepatoselüler düzeyde olumlu etkileri gösterilmiş çok fonksiyonlu bir ajandır. RSV'nin iskemik hasarı azaltıcı etkisi özellikle serebral iskemi ve myokardial iskemi modellerinde gösterilmiştir. Etkisini uygulanma zamanı, uygulama yolu ve uygulandığı doza bağımlı olarak göstermektedir. İskemi halinde doku koruyucu etkinin görülebilmesi adına çalışmamızda normal ve iskemik anastomoz uygulanarak RSV verilmiş ve karşılaştırma 4. ve 7. günler için ayrı olarak uygulanmıştır. Çalışmamız verileri doğrultusundan eksojen oral RSV uygulamasının iskemik anastomozlarda patlama basıncında, doku hidroksiprolin düzeylerinde ve yara iyileşmesinin histolojik parametrelerinde kaydadeğer artışa yol açtığı görülmüştür. RSV'nin iskemik anastomoz iyileşmesi üzerine oluşturduğu olumlu etki mekanizmaların değerlendirilmesi ve iskemik şartlar altında anjiogenez, oksidatif stres, apoptoz ve iyileşmenin potent hücreleri üzerinde oluşturduğu anabolik ve trofik etkinin incelenmesi için ileri çalışmalar gerekmektedir.

6. SONUÇ

Kolorektal cerrahide anastomoz kaçakları hasta mortalite, morbidite oranlarını arttırdığı gibi hastanın hastanede yatış süresini hekim hasta ilişkisini derinden etkilemektedir. Anastomoz kaçakları olasılığını düşürmek adına hasta faktörlerini azaltmaktan ve cerrahın uygun anastomoz prosedürlerini uygulamasından başka etkili bir yöntem ortaya konulamamıştır. Araştırmamızı bu noktadan yola çıkarak olası bir ekzojen bir maddenin normal ve iskemik anastomoz modelinde iyileşme üzerinde etkisini inceledik.

Resveratrol pek çok çalışmada antiinflamatuvar, antikansorejen, kardiyoprotektif, antiplatelet, antioksidan etkili bir ajan olarak gösterilmiştir.

Çalışmamızda 4.ve 7. gün normal ve iskemik kolon anastomozu uygulanmış deneklerin RSV almış olan grupları ile karşılaştırmasını yaptık. 4. ve 7.gün gruplar arasında RSV almış hem normal anastomozlu hem iskemik anastomozlu grupların almamış gruplarına oranla daha yüksek hidroksiprolin ve patlama basınçları, daha düşük inflamasyon skorları elde ettik. Benzer şekilde istatistiki anlam taşımamakla beraber RSV almış gruplarda SOD oranlarında artış MDA oranlarında düşüş eğilimi saptadık.

4. ve 7.gün iskemi oluşturulmuş gruplar arasında RSV almışlar ile almamışlar arasındada almış olanlarda daha düşük chui mukozal iskemi skoru elde ettik.

Çalışmamızda sonuç olarak oral yöntemle uygulanmış RSV'nin hem iskemik hem de non iskemik ortamda daha iyi anastomoz güvenliği oluşturduğunu saptadık. RSV'nin klinik kullanımı için doz, süre, etki yollarını daha detayla ortaya koyabilecek çalışmalara ihtiyaç olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Kirsner RS, Eaglstein WH. *Dermatologic Clinics*. 1993; 11 (4): 629-640
2. Kahya AS. Kolon obstrüksiyonu nedeniyle uygulanan rezeksiyon sonrası, düşük molekül ağırlıklı heparin, papaverin ve pentoksifilin anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi 2001
3. Genel Cerrahi Cilt-1. İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Konu 4. Yara İyileşmesi 51-68.
4. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the Gastrointestinal Tract. *Surgical Clinics of North America*. 1997 (3):549-573
5. Giray S. Preoperatif Radyoterapi uygulanmış sıçanlarda kolon anastomozuna hiperbarik oksijen ve pentoksifilin etkileri. Uzmanlık Tezi 1998
6. Schiedeck TH, Schwandner O, Baca I, et al. Laparoscopic surgery for the cure of colorectal cancer: results of a German five-center study. *Dis Colon Rectum* 2000;43:1-8.
7. Nesbakken A, Nygaard K, Lunde OC. Outcome and late functional results after anastomotic leakage following mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg* 2001;88:400-4.
8. Kasperk R, Philipps B, Vahrmeyer M, Willis S, Schumpelick V. Risikofaktoren der Anastomoseninsuffizienz nach sehr tiefer colorectaler und coloanaler Anastomose. *Chirurg* 2000;71:1365-9.
9. Tocchi A, Mazzoni G, Lepre L, et al. Prospective evaluation of omentoplasty in preventing leakage of colorectal anastomosis. *Dis Colon Rectum* 2000;43:951-5.
10. Jex, R.K., Heerden, J.A.V., Wolff, B.G., Ready, R.L., Ilstrup, D.M.: Gastrointestinal Anastomoses. Factors Affecting Early Complications. *Ann Surg*, 167:138-141, 1987
11. Jiborn, H., Ahonen, J., Zederfeldt, B.: Healing of Experimental Colonic Anastomoses III. Collagen Metabolism in the Colon After Left Colon Resection. *The American Journal of Surgery*, 139:398-405, 1980
12. Koruda, M.J., Rolandelli, R.H.: Current Research Review. Experimental studies on the Healing of Colonic Anastomoses. *Journal of Surgical Research*, 48:504-515, 1990
13. Mori, N., Yoshizuka, M., Ueda, H., Ono, E., Umezu, Y., Fujimoto, S.: Ultrastructural Findings in the Wound Healing of the Colonic Mucosa of Rabbits. *Acta Anat*, 134:82-88, 1989
14. Thornton, F.J., Barbul, A.: Healing in the Gastrointestinal Tract. *Surgical Clinics of North America*, 77:549-573, 1997.

- 15.** Foster ME, Laylcock JRD, Silver IA. Hypovolemia and healing in colonic anastomoses. Br. J. Surg. 1985; 72:831
- 16.** Ersoy Y. E. Sıçanlarda sol kolon anastomozunda, anastomoz iyileşmesi ve klamp hattı perfüzyonuna pentoksifilin ve papaverinin etkileri (Uzmanlık Tezi)
- 17.** Tireli GA, Salman T, Ozbey H, Abbasoglu L, Toker G, Celik A. The effect of pentoxifylline on intestinal anastomotic healing after ischemia. Pediatr Surg Int 2003;19:88–90.
- 18.** Demirogullari B, Sonmez K, Turkyilmaz Z, et al. Comparison of consequent small bowel anastomoses after transient ischemia: an experimental study in rats. J Pediatr Surg 1998;33:91–3.
- 19.** Brasken P. Healing of experimental colon anastomosis. Eur J Surg 1991;566(Suppl):1-51.
- 20.** Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. Br J Surg 1985;72:606–9.
- 21.** Schrock TR, Deveney CW, Dumphy JE. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. Ann Surg 1973;177:513-8.
- 22.** Stoop MJ, Dirksen R, Hendriks T. Advanced age alone does not suppress anastomotic healing in intestine. Surgery 1996; 119:15
- 23.** Uluocak K. Kolon anastomoz yetmezliklerinin sebepleri ve önlenmesi. Dirim 1992;67 sayı 1-2 sayfa: 34-42
- 24.** Pablo Parra-Membrives, Virgilio Ruiz-Luque, Carlos Escudero-Severin, Jose Aguilar-Luque, Virginia Mendez-Garcia Effect of Pentoxifylline on the Healing of Ischemic Colorectal Anastomoses Dis. Colon Rectum 2006; 50: 369-375
- 25.** Sarah K. Thompson, M.D. , Eugene Y. Chang, M.D. Clinical Review: Healing In Gastrointestinal Anastomoses, Part I. Microsurgery 2006;26:131–136.
- 26.** Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. Br J Surg 1985;72:606–609.
- 27.** Hunt TK, Zederfeldt B, Goldstick TK. Oxygen and healing. Am J Surg 1969;118:521–5.
- 28.** Hamzaoglu I, Karahasanoğlu T, Aydin S, et al. The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses. Am J Surg 1998;176:458–61.
- 29.** Lastra CA, Villegas I, Martin AR. Resveratrol as an antioxidant. In: Aggrawal B, Shishodia S, eds. Resveratrol in Health and Disease. 1 st ed. Newyork: CRC, Taylor and Francis group; 2006. p.1-17.

30. Çakmak G.K et all. The effects of resveratrol on the healing of left colonic anastomosis. Journal of Investigative Surgery, 22, 353–361, 2009
31. Romolo JL. Embryology and anatomy of the colon. Shackelford s Surgery of the alimentary Tract. Ed: George D. Zuideman. 1996;4:3-16.
32. Skandalakis EJ. Colon and rectum. Surgical anatomy and technique. Ed: Skandalakis .1995;13:401-470.
33. Menteş B, İrkörücü O. Kolon Fizyolojisi. Ed: Alemdaroğlu. İstanbul. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları . 2004;31-37
34. Sayek . Temel Cerrahi 3. Baskı Ankara Güne Kitabevi Ltd. ti. 2004;1243-1251.
35. Patrick E. Sharp, Marie C. La Regina, “The Laboratory Rat”, CRC Press 1998: 6.
36. Marks R, Dykes P, Mootley R. Clinical Signs and Procedures in Dermatology 1.st ed. London 1993;35
37. Arnold HL, Odom RB, James WD. Andrews Disease of the skin, clinical Dermatology, 8th ed. WB Saunders Company Philadelphia. 1990
38. Engin A. Yara iyileşmesi. Ed: Engin A. Genel cerrahi. Tan ve tedavi ilkeleri. 1. Baskı . 2000;132-144.
39. Schrock TR, Deveney CW, Dumphy JE. Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. Ann Surg 1973;177:513-8.
40. Fielding LP, Stewart-Brown S, Blesovsky L, Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. Br Med J. 1980 Aug 9;281(6237):411-4.
41. Witt MB, Barbul A. General principles of wound healing. Surg Clin North Am June 77:509-528, 1997
42. Necmi Akut ve kronik yara bakımı Ankara 2003 Sayfa 17-33
43. Engin A. Yara iyileşmesi, Temel Cerrahi; Sayek, İ (ed), Güneş Kitabevi, Ankara, İkinci baskı; Cilt I 1996; s.266-277.
44. Lawrence W. Way (ed). Wound healing. Current Surgical Diagnosis and Treatment. 9th ed Appleton and Lange 1991; pp. 86-95
45. Kalaycı Göksel Genel Cerrahi I. cilt Ankara 2002 Sayfa 53-60
46. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. Surg Gynecol Obstet. 1968 May;126(5):1061-5.
47. Graham MF, Drucker DE, Diegelmann RE, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. Gastroenterology 92(2):400-405, 1987

- 48.** Martens MF, Huyben CM, Hendriks T. Collagen synthesis by human colon: Regulatory aspects differences with skin fibroblast. *Gut* 33(12):1666-70, 1992
- 49.** Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg. Clin North Am* 1997;77:549-573
- 50.** Graham MF, Blomquist P, Zederfeldt B. The alimentary canal (In) *Wound healing : Biochemical and clinical Aspects* (Eds) Cohen IK, Diegelmann RF, Lindblad WJ. WB Saunders Company 1992, Philadelphia:433-449
- 51.** Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomosis. *J Sug Res* 1990 May;48(5):504
- 52.** Brasken P. Healing of experimental colon anastomoses. *Eur J Surg* 1991; Suppl 566:8-51
- 53.** Mast BA. Healing in other tissues. *Surg Clin North Am* 77:529-47, 1997
- 54.** Höglström H, Hagland U. Postoperative decrease in suture holding capacity in laparotomy wounds and anastomoses. *Acta Chir Scand* 1985;151:533-535
- 55.** Hesp Flem, Hendriks T, Lubbers A-JC, de-Boer HHM. Wound healing in the intestinal wall: A comparison between experimental ileal and colonic anastomoses, *Dis colon Rectum* 1984;27:99-104
- 56.** Martens MF WC, Hendriks TH. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut*, 1991;32:1482-1487
- 57.** Choti MA. Obstruction of large bowel. *Current Surgical Therapy*. Ed: Cameron. 1995 ;162
- 58.** Williams N.S. Large Bowel Obstruction Surgery of the anus, rectum and colon. Ed: Keighley M.R.B.W.B. Saunders Company Ltd. London 1993;1823.
- 59.** Kasiwagi H. The lower limit of tissue blood flow for safe colonic anastomoses: An experimental study using laser doppler velocimetry. *Surg Today* 1993;23:430-438
- 60.** Golliger LC, Et. Al. A controlled comparison of one and two layer techniques of for high and low colorectal anastomoses. *Br j surg* 1997;64:609-614
- 61.** Yeşilkaya Y, Soyhan N, Bengisu N. The effects of different Suture techniques on collagen metabolism in experimental distal colonic anastomoses. *Br.J.surg.* 1985;72:987
- 62.** Schilling JA. Wound Healing . *Surg Cli North Am.* 1976;56:859-874
- 63.** Mustoe TA, Cutler NR, Alman RM ve ark. A phase II study to evaluate recombinant platelet-derived growth factor-BB in treatment of stage 3 and 4 pressure ulcers. *Arch Surg* 1994;129:213-219.
- 64.** Van Der Ham AC, Weijma IM, Van Ded Ingh H.F.G.M. et al. Effect of

- fibrin sealant on the healing colonic anastomosis in the rat. Br J Surg.1991;78:49.
- 65.**Hawley PR,Fault WP;Hunt TK,Durphy JE:Collogenase activity in the gastrointestinal tract,Br.J.surg.1970;57:896-901
- 66.**Hawlwy PR:Causes and prevention of anastomotic breakdown.Dis.Colon Rectum 1973 jul.16:4,272-277
- 67.**Uluocak K,Kolon anastomoz yetmezliklerinin sebepleri ve önlenmesi.Dirim 1992;67.sayı 1-2:34-42
- 68.**Irvin TT:Collogen metabolism in infected colonic anastomoses .Br.J.Surg.1975;62:659
- 69.**Schrock TR,Deveney CW,Dunfy JE:Factors contrubuting to leakage of colonic anastomoses .Ann Surg 1973;177:513-51
- 70.**Smith JH;connlly JC,Carne PW ve ark..The effect of drainage materails on colonic healing Br.J.Surg 1982;69:153-155
- 71.**Agular-Nascimento JE,Mathie RT,Man WK,Williamson RC:Enhanced intraanstomotic healing by operative lavage with nutrientsolutions in experimental left-sided colonic obstruction.Br.J.Surg.1995;82:461-464
- 72.**Tsunado A,Shibusawa M,Kamiyama G,Takata M,Choh H,Kusano M:Iodine absorption after intraoperative bowel irrigation with povidone-iodine.Dis Colon Rectum 2000;43:1127-1132
- 73.**Spayer JL,Sugabaker PH:5-FU chemoterapy and pelvic radiation in the treatment of large bowel cancer Surgery 1986;58:826-83
- 74.**Bland K,Palin W,Von Fraunhofer A,Morris R,Adcock R,Tobin G.Experimental and clinical observations of the effects of cytotoxic chemotherapeutic drugs on wound healing Ann.Surg.1994;199:782-790
- 75.**Demetriades H,Botsios D,Kazantzidou D.ve ark.Effect of early postoperative enteral feeding on the healing colonic anastomoses in rats.Eye J Res 1999;31:57-63
- 76.**Tadros T,Wobbes T,Hendriks T Blood transfusion impairs in the healing of experimental intestinal anastomoses.Ann Surg.1992;215:276-281
- 77.**Foster ME,Laycock JRD,Silver IA and Leaper DJ:Hypovolemia and healing in colonic anastomoses.Br J Surg 1985,Vol 72.October,831-832
- 78.**Koloğlu M,Sayer I,Koloğlu ve ark.:Effect of persistently elavated intraabdominal pressure on healing of colonic anastomoses.Am j Surg 1999;178:293-297
- 79.**Foster ME,Laycock JRD,Silve IA ve ark.Hypovolemia and healing in colonic anastomoses.Br.J Surg 1985;72:831-834

- 80.**Hunt TK,Zederfeldt B,Goldstick TK,Oxygen and healing .Am J Surg 1969;118:521-526
- 81.**Ehrlich P,Hunt TK.The effect of cortisone and anabolic steroids on the tensile strength of healing wound .Am Surg,1969;170:203-306
- 82.**Hamzaoğlu İ.Karahasanoğlu T,Aydın S,Şahin D.A,ÇArkman S,Sarıyar M,Alemdaroğlu K,The effects of hyperbaric oxygen on normal and ischemic colon anastomoses.Am J Surg 1998;176:458-461.
- 83.**De Roy von Zuidewijin DB,Henriks T,Wobbles T ve ark.intraperitoneal-cytostatics impair healing of experimantal intestinal anastomoses .Br J Cancer 1991;63:937-941
- 84.**Tümer AR,Kama NA ,Tümer L ve ark.Effects of 5-FU and zinc on healing of colonic anastomoses in rabbits ,Eur J Surg 1999;165:369-377
- 85.**Mast BA,Cohen IK,Diegelman RF,Linbland WJ.Wound healing :Philedelphia.WB Company,1992 1.Ed:334-355
- 86.**Kuşlu SN.Diabetik sıçanlarda kolon anastomozuna epidermal growth faktörün etkisi.Uzmanlık tezi 1997.
- 87.**Kim SC,Buchmiller LT,Fonkalsrud WE,Philips D.The effect of anabolic steroids on ameliorating the advers effect of chronic corticosteroids on intestinal anastomotic healing in rabbits.Gyn.And Obs.Surg 1993;176:73-79
- 88.** Christensen H,Chemnitz J,Christensen BC,Oxlund H Collogen structural organisation of healing colonic anastomoses and the effect of growth hormon treatment .Dis Colon Rectum 1995;38:11
- 89.**Gainant A.Prevention of anastomotic dehiscence in colorectal surgery .J.Chir(Paris)2000 feb;137(1):45-50
- 90.** Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury. A review in relation to free tissue transfers. Microsurgery, 2004; 24: 468-475.
- 91.**Akgün Y, Batun S, Taçy ld z , Akku M, Ketani A. Deneysel mezenterik iskemi reperfüzyon modelinde değişik koruyucu ajanların etkilerinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi. Klinik ve Deneysel Cerrahi Derg. 1996;4:13-17.
- 92.** Aydoğdu N, Kaymak K, Yalç n Ö. S çanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında n-asetilsisteinin etkileri. Fırat Tıp Dergisi. 2005;4:151-155.
- 93.** Kılıç Y, Avar B, Kamalı S, Güven H, Sungur F. Kolon anastomozlarında stapler ve el Dikiş tekniklerinin kısa süreli komplikasyonlar açısından karşılaştırılması. Kolon Rektum Hast .Derg. 1991; 1: 45-50

- 94.** Biert J, Seifert W, Man B, Wobbes T, Hoogenhout J, Hendriks T. Combined preoperative irradiation and local hyperthermia delays early healing of experimental colonic anastomoses. *Arch Surg.* 1996; 131:1037-1042.
- 95.** Mansson P, Zhang XW, Jeppsson B, Thorlacius H. Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *Int J Colorectal Dis.* 2002; 17: 420-425.
- 96.** Bedirli A, Salman B. Effects of nuclear factor- κ B inhibitors on colon anastomotic healing in rats. *J Surg Res.* 2011 Nov;171(1):355-60. Epub 2010 Feb 11.
- 97.** İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical mechanism and tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. *J Neurol Sci.* 2000; 7:1984-2000.
- 98.** Liu TZ, Stern A. Assessment of the role oxidative stress in human diseases. *J Biomed Lab Sci.* 1998;10:12-28.
- 99.** Gözükara EM. Biyokimya. Ankara Nobel Tıp Kitabevleri. 2000;923-941.
- 100.** Knight J, Taylor GW, Wright P, Clare AS, Rowley AF. Eicosanoid biosynthesis in an advanced deuterostome invertebrate, the sea squirt (*Ciona intestinalis*). *Biochim Biophys Acta.* 1999 Jan 4;1436(3):467-78.
- 101.** Kurtulu H, Eskiocak S, Tütüncüler F, Baran Ü.N, Gülen . Sistemik Hipoksi Geliştirilmiş Yenidoğan Ratlarda N-Asetilsistein Uygulamasının Etkileri. *Turkish Journal of Biochemistry.* 2003;28:40-44.
- 102.** Kandilci HB, Gümüşel B. Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Ön Koşullama Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi.2005;1:35-49.
- 103.** Yazıcı C, Köse K. Melatonin Karanlığın Antioksidan Gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (E.Ü.Journal of Health Sciences).* 2004;13: 56-65.
- 104.** Kahya AS. Kolon obstrüksiyonu nedeni ile uygulanan rezeksiyon sonrası, düşük molekül ağırlıklı heparin, papaverin ve pentoksifilin anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi.* İstanbul, 2001.
- 105.** Giray S. Preoperatif radyoterapi uygulanmış sıçanlarda kolon anastomozuna hiperbarik oksijen ve pentoksifilin etkileri. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi.* İstanbul, 1998.
- 106.** Jiborn H, Ahonen J, Zedfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses: III. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *Am J Surg* 1980; 139: 398-405.
- 107.** Yarımkaya A. İskemik kolon modelinde anastomoz iyileşmesine büyüme hormonu ve anabolik steroidlerin etkileri. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi.* İstanbul, 2000.

- 108.** Brasken P. Healing of experimental colon anastomosis. *Eur J Surg Suppl* 1991; 566: 1-51
- 109.** Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses : parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990; 33: 891-901.
- 110.** Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses: parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990;33(10): 891-901.
- 111.** Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall. *Am J Surg.* 1978 Mar;135(3):333-40
- 112.** Shishodia S, Aggrawal B, Resveratrol. Apolyphenol for all season. In: Aggrawal B, Shishodia S, eds. *Resveratrol in Health and Disease* 1 st ed. Newyork: CRC, Taylor and Francis group; 2006. p.1-17.
- 113.** Mazza G. Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995;35:341-71.
- 114.** Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006;444:337-42.
- 115.** Ingram DK, Zhu M, Mamczarz J, Zou S, Lane MA, Roth GS, et al. Calorie restriction mimetics: an emerging research field. *Aging Cell* 2006;5:97-108
- 116.** de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: mechanisms and clinical implications. *Mol Nutr Food Res* 2005;49:405-30.
- 117.** Lastra CA, Villegas I, Martí'n AR. Resveratrol as an antioxidant. In: Aggrawal B, Shishodia S, eds. *Resveratrol in Health and Disease*. 1 st ed. Newyork: CRC, Taylor and Francis group; 2006. p.1-17.
- 118.** Rahman I, Biswas SK, Kirkham PA. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol* 2006;72:1439-52.
- 119.** Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. The world of resveratrol. *Adv Exp Med Biol.* 2001;492:159-82
- 120.** Wilson T. Whole foods, antioxidants and health. In: TK Basu, NJ Temple, M.L. Garg, eds. *Antioxidants In Human Health*. 1st ed. Nairobi, Kenya: CAB Publ; 1999. p.141-50.
- 121.** Ara C, Kirimlioglu H, Karabulut AB, Coban S, Ay S, Harputluoglu M, et al. Protective effect of resveratrol against oxidative stress in cholestasis. *J Surg Res* 2005;127:112-7.

- 122.** Kirimlioglu V, Ara C, Yilmaz M, Ozgor D, Isik B, Sogutlu G, et al. Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, protects gastric tissue against the oxidative stress in cholestatic rats. *Dig Dis Sci* 2006;51:298-302.
- 123.** Uguralp S, Mizrak B, Bay Karabulut A. Resveratrol reduces ischemia reperfusion injury after experimental testicular torsion. *Eur J Pediatr Surg.* 2005;15:114-9.
- 124.** The Surgical Membrane Study Group. Prophylaxis of pelvic side wall adhesions with Gore- Tex surgical membrane: a multicenter clinical investigation. *Fertile Steril* 1991;57: 921-3
- 125.** Bertelli AA, Giovannini L, Giannessi D, Migliori M, Bernini W, Fregoni M, et al. Antip latelet activity of synthetic and natural resveratrolin red wi ne. *Int J Tissue React* 1995;17(1):1-
- 126.** Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J Clin Lab Anal.* 1997;11(5):287-313.
- 127.** Andriambeloson E, Kleschyov AL, Muller B, Beretz A, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *Br J Pharmacol.* 1997 Mar;120(6):1053-8.
- 128.** Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol.* 1993 Aug;265(2 Pt 2):H774-8.
- 129.** Chen CK, Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol.* 1996 Mar;27(2):363-6.
- 130.** Leikert JF, Rathel TR, Wohlfart P, Cheynier V, Vollmar AM, Dirsch VM. Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression and subsequent nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation.* 2002 Sep 24;106(13):1614-7
- 131.** Pendurthi UR, Williams JT, Rao LV. Resveratrol, a polyphenolic compound found in wine, inhibits tissue factor expression in vascular cells : A possible mechanism for the cardiovascular benefits associated with moderate consumption of wine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999 Feb;19(2):419-26.
- 132.** Mizutani K, Ikeda K, Yamori Y. Resveratrol inhibits AGEs-induced proliferation and collagen synthesis activity in vascular smooth muscle cells from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Jul 21;274(1):61-7.
- 133.** Murcia MA, Martinez-Tome M. Antioxidant activity of resveratrol compared with common food additives. *J Food Prot.* 2001 Mar;64(3):379-84.
- 134.** Corder R, Douthwaite JA, Lees DM, Khan NQ, Viseu Dos Santos AC, Wood EG,

- Carrier MJ. Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature*. 2001 Dec 20-27;414(6866):863-4.
- 135.** Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca(2+)-activated K⁺ current in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res*. 2000 Mar;45(4):1035-45.
- 136.** Blardi P, De Lalla A, Volpi L, Di Perri T. Stimulation of endogenous adenosine release by oral administration of quercetin and resveratrol in man. *Drugs Exp Clin Res*. 1999;25(2-3):105-10.
- 137.** Bradamante S, Piccinini F, Barenghi L, Bertelli AA, De Jonge R, Beemster P, De Jong JW. Does resveratrol induce pharmacological preconditioning? *Int J Tissue React*. 2000;22(1):1-4.
- 138.** Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, Corsi MM, Bonfrate M, Ferrara F, De Caterina R, Giovannini L, Bertelli A. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr*. 1998 Dec;68(6):1208-14.
- 139.** Pajdo R, Brzozowski T, Konturek PC, Kwiecien S, Konturek SJ, Sliwowski Z, Pawlik M, Ptak A, Drozdowicz D, Hahn EG. Ischemic preconditioning, the most effective gastroprotective intervention: involvement of prostaglandins, nitric oxide, adenosine and sensory nerves. *Eur J Pharmacol*. 2001 Sep 21;427(3):263-76.
- 140.** Fauconneau B, Waffo-Teguo P, Huguet F, Barrier L, Decendit A, Merillon JM. Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using in vitro tests. *Life Sci*. 1997;61(21):2103-10.
- 141.** Nigdikar SV, Williams NR, Griffin BA, Howard AN. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr*. 1998 Aug;68(2):258-65.
- 142.** Fulgenzi A, Bertelli AA, Magni E, Ferrero E, Ferrero ME. In vivo inhibition of TNF α -induced vascular permeability by resveratrol. *Transplant Proc*. 2001 May;33(3):2341-3.
- 143.** Burkitt MJ, Duncan J. Effects of trans-resveratrol on copper-dependent hydroxylradical formation and DNA damage: evidence for hydroxyl-radical scavenging and a novel, glutathione-sparing mechanism of action. *Arch Biochem Biophys*. 2000 Sep 15;381(2):253-63.
- 144.** Belguendouz L, Fremont L, Linard A. Resveratrol inhibits metal ion-dependent and

- independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. *Biochem Pharmacol.* 1997 May 9;53(9):1347-55.
- 145.** Yamaguchi M, Jie Z. Effect of polyphenols on calcium content and alkaline phosphatase activity in rat femoral tissues in vitro. *Biol Pharm Bull.* 2001 Dec;24(12):1437-9.
- 146.** Zhiron W, Zou J, Huang Y, Cao K, XU Y, WU JM. Effect of resveratrol on platelet aggregation invivo and invitro. *Chinese Medical J.* 2002;115:378-80
- 147.** Stewart JR, Ward NE, Ioannides CG, O'Brian CA. Resveratrol preferentially inhibits protein kinase C-catalyzed phosphorylation of a cofactor-independent, arginine-rich protein substrate by a novel mechanism. *Biochemistry.* 1999 Oct 5;38(40):13244-51.
- 148.** Laden BP, Porter TD. Resveratrol inhibits human squalene monooxygenase. *Nutrition Res.* 2001;21,747-53
- 149.** Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res.* 2000 Aug 18;47(3):549-55.
- 150.** Huang SS, Tsai MC, Chih CL, Hung LM, Tsai SK. Resveratrol reduction of infarct size in Long-Evans rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life Sci.* 2001 Jul 20;69(9):1057-65.
- 151.** Olas B, Wachowicz B, Szewczuk J, Saluk-Juszczak J, Kaca W. The effect of resveratrol on the platelet secretory process induced by endotoxin and thrombin. *Microbios.* 2001;105(410):7-13.
- 152.** Kirk RI, Deitch JA, Wu JM, Lerea KM. Resveratrol decreases early signaling events in washed platelets but has little effect on platelet in whole blood. *Blood Cells Mol Dis* 2000; 26(2):144-50.
- 153.** Olas B, Wachowicz B, Saluk-Juszczak J, Zieliński T. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin. *Thromb Res* 2002;107(3-4):141-5.
- 154.** Deckert V, Desrumaux C, Athias A, Duverneuil L, Palleau V, Gambert P, Masson D, Lagrost L. Prevention of LDL alpha-tocopherol consumption, cholesterol oxidation, and vascular endothelium dysfunction by polyphenolic compounds from red wine. *Atherosclerosis.* 2002 Nov;165(1):41-50.
- 155.** Davies MG, Hagen PO. The vascular endothelium. A new horizon. *Ann Surg.* 1993 Nov;218(5):593-609.
- 156.** Drexler H. Nitric oxide and coronary endothelial dysfunction in humans. *Cardiovasc*

Res. 1999 Aug 15;43(3):572-9.

- 157.** Cohen RA, Weisbrod RM, Gericke M, Yaghoubi M, Bierl C, Bolotina VM. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation *Circ Res*. 1999 Feb 5;84(2):210-9.
- 158.** Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J Clin Lab Anal*. 1997;11(5):287-313.
- 159.** Kimura Y, Okuda H, Arichi S. Effects of stilbene derivatives on arachidonate metabolism in leukocytes. *Biochim Biophys Acta*. 1985 Nov 14;837(2):209-12.
- 160.** Dobrydneva Y, Williams RL, Blackmore PF. trans-Resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets. *Br J Pharmacol*. 1999 Sep;128(1):149-57.
- 161.** Pace-Asciak CR, Rounova O, Hahn SE, Diamandis EP, Goldberg DM. Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clin Chim Acta*. 1996 Mar 15;246(1-2):163-82.
- 162.** Kirk RI, Deitch JA, Wu JM, Lerea KM. Resveratrol decreases early signaling events in washed platelets but has little effect on platelet in whole food. *Blood Cells Mol Dis*. 2000 Apr;26(2):144-50.
- 163.** Bertelli AA, Giovannini L, Bernini W, Migliori M, Fregoni M, Bavaresco L, Bertelli A. Antiplatelet activity of cis-resveratrol. *Drugs Exp Clin Res*. 1996;22(2):61-3.
- 164.** Khanna S, Roy S, Bagchi D, Bagchi M, Sen CK. Upregulation of oxidant-induced VEGF expression in cultured keratinocytes by a grape seed proanthocyanidin extract. *Free Radic Biol Med*. 2001 Jul 1;31(1):38-42.
- 165.** Igura K, Ohta T, Kuroda Y, Kaji K. Resveratrol and quercetin inhibit angiogenesis in vitro. *Cancer Lett*. 2001 Sep 28;171(1):11-6.
- 166.** Cao Y, Cao R, Brakenhielm E. Antiangiogenic mechanisms of diet-derived polyphenols. *J Nutr Biochem*. 2002 Jul;13(7):380-390.
- 167.** MacCarrone M, Lorenzon T, Guerrieri P, Agro AF. Resveratrol prevents apoptosis in K562 cells by inhibiting lipoxygenase and cyclooxygenase activity. *Eur J Biochem*. 1999 Oct 1;265(1):27-34.
- 168.** Mitchell SH, Zhu W, Young CY. Resveratrol inhibits the expression and function of the androgen receptor in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Res*. 1999 Dec 1;59(23):5892-5.
- 169.** Holtz G. Prevention and management of peritoneal adhesions. *Fertil Steril*. 1984 Apr;41(4):497-507.
- 170.** O'Brien WF, Drake TS, Bibro MC. The use of ibuprofen and dexamethasone in the prevention of postoperative adhesion formation. *Obstet Gynecol*. 1982 Sep;60(3):373-8.

- 171.** Huang C, Ma WY, Goranson A, Dong Z. Resveratrol suppresses cell transformation and induces apoptosis through a p53-dependent pathway. *Carcinogenesis*. 1999 Feb;20(2):237-42.
- 172.** Casper RF, Quesne M, Rogers IM, Shirota T, Jolivet A, Milgrom E, Savouret JF. Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor: implications for prevention of dioxin toxicity. *Mol Pharmacol*. 1999 Oct;56(4):784-90.
- 173.** Palmieri L, Mameli M, Ronca G. Effect of resveratrol and some other natural compounds on tyrosine kinase activity and on cytolysis. *Drugs Exp Clin Res*. 1999;25(2-3):79-85.
- 174.** Rotondo S. Red wine, aspirin and platelet function. *Thrombosis and haemostasis* 1994;72:818-9
- 175.** Gusman J, Malonne H, Atassi G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis*. 2001 Aug;22(8):1111-7.
- 176.** Martinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol*. 2000 Apr 1;59(7):865-70.
- 177.** Martinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol*. 2000 Apr 1;59(7):865-70.
- 178.** Knight J, Taylor GW, Wright P, Clare AS, Rowley AF. Eicosanoid biosynthesis in an advanced deuterostomate invertebrate, the sea squirt (*Ciona intestinalis*). *Biochim Biophys Acta*. 1999 Jan 4;1436(3):467-78.
- 179.** Karabulut A. Resveratrol ve Etkileri Türkiye Klinikleri *J.Med.Sci* 2008;28(Suppl):S166-S169
- 180.** Gentilli M, Mazoit JX, Bouaziz H, Fletcher D, Casper RF, Benhamou D, Savouret JF. Resveratrol decreases hyperalgesia induced by carrageenan in the rat hind paw. *Life Sci*. 2001 Feb 2;68(11):1317-21.
- 181.** Torres-Lopez JE, Ortiz MI, Castaneda-Hernandez G, Alonso-Lopez R, Asomoza-Espinosa R, Granados-Soto V. Comparison of the antinociceptive effect of celecoxib, diclofenac and resveratrol in the formalin test. *Life Sci*. 2002 Feb 22;70(14):1669-76.
- 182.** Mercan U (2004). The importance of free radicals in toxicology. *Vet.Fac. J*. 15:91-96.
- 183.** Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, Corsi MM, Bonfrate M, Ferrara F, De Caterina R, Giovannini L, Bertelli A. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr*. 1998 Dec;68(6):1208-14.

- 184.** Fremont L, Belguendouz L, Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcoholfree wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Sci.* 1999;64(26):2511-21.
- 185.** Bertelli AA, Baccalini R, Battaglia E, Falchi M, Ferrero ME. Resveratrol inhibits TNF alpha-induced endothelial cell activation. *Therapie.* 2001 Sep-Oct;56(5):613-6.
- 186.** Delmas D, Jannin B, Latruffe N. Resveratrol: Preventing properties against vascular alterations and ageing. *Mol. Nutr. Food Res,* 2005;49:377-395
- 187.** Penumathsa SV, Koneru S, Samuel SM, Maulik G, Bagchi D, Yet SF, Menon VP, Maulik N. *Free Radic Biol Med.* 2008 Oct 1;45(7):1027-34. Epub 2008 Jul 27
- 188.** Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5:493–506.
- 189.** Lu CC, Lai HC, Hsieh SC, et al. Resveratrol ameliorates *Serratia marcescens*-induced acute pneumonia in rats. *J Leukoc Biol.* 2008;83(4):1028–1037.
- 190.** Martín AR, Villegas I, La Casa C, et al. Resveratrol, a polyphenol found in grapes, suppresses oxidative damage and stimulates apoptosis during early colonic inflammation in rats. *Biochem Pharmacol.* 2004;67(7):1399–1410.
- 191.** Khanna S, Roy S, Bagchi D, et al. Upregulation of oxidantinduced VEGF expression in cultured keratinocytes by a grape seed proanthocyanidin extract. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(1):38–42.
- 192.** Ferrero ME, Bertelli AE, Fulgenzi A, Pellegatta F, Corsi MM, Bonfrate M, Ferrara F, De Caterina R, Giovannini L, Bertelli A. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. *Am J Clin Nutr.* 1998 Dec;68(6):1208-14.
- 193.** Fauconneau B, Waffo-Teguo P, Huguet F, Barrier L, Decendit A, Merillon JM. Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using in vitro tests. *Life Sci.* 1997;61(21):2103-10.
- 194.** Nigdikar SV, Williams NR, Griffin BA, Howard AN. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr.* 1998 Aug;68(2):258-65.
- 195.** NORDBERG, J. and ARNÉR, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biol. Med.*, 31, 1287–1312.
- 196.** Spanier G, Xu H, Resveratrol reduces endothelial oxidative stress by modulating the gene expression of superoxide dismutase 1 (SOD1), glutathione peroxidase 1 (GPx1) and NADPH oxidase subunit (Nox4). *J Physiol Pharmacol.* 2009 Oct;60 Suppl 4:111-6.

- 197.** Yao J, Wang JY, Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS-induced ulcerative colitis. *Arch Med Res.* 2010 May;41(4):288-94.
- 198.** Sinha K, Chaudhary G, Gupta YK. Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sci.*, 71, 655—665 (2002).
- 199.** - Inoue H, Jiang XF, Katayama T, Osada S, Umesono K, Namura S. Brain protection by resveratrol and fenofibrate against stroke requires peroxisome proliferator-activated receptor α in mice. *Neurosci. Lett.*, 352, 203—206 (2003).
- 200.** Furchgott RF. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res.* 1983 Nov;53(5):557-73.
- 201.** Deckert V, Desrumaux C, Athias A, Duverneuil L, Palleau V, Gambert P, Masson D, Lagrost L. Prevention of LDL alpha-tocopherol consumption, cholesterol oxidation, and vascular endothelium dysfunction by polyphenolic compounds from red wine. *Atherosclerosis.* 2002 Nov;165(1):41-50.
- 202.** Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet.* 1993 Feb 20;341(8843):454-7.
- 203.** Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca^{2+} - activated K^{+} current in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res.* 2000 Mar;45(4):1035-45.
- 204.** Petrat F, de Groot H. Protection against severe intestinal ischemia/reperfusion injury in rats by intravenous resveratrol. *J Surg Res.* 2011 May 15;167(2):e145-55. Epub 2010 Jun 29.

Ek.1: Etik Kurul Onayı



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

TOPLANTI TARİHİ : 28/01/2010
TOPLANTI NO : 2010/01

- 2- Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, 2010-02-28/01 Protokol nolu "Ratlarda İskemik ve Normal Sol Kolon Anastomoz Modelinde Resveratrolün Anastomoz İyileşmesi Üzerine Etkisi" konulu çalışmasının ZKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Z. Nur Banoğlu'.

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