

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**“ RATLARDA DENEYSEL KOLON ANASTOMOZ KAÇAĞI MODELİNDE
İNTRAPERİTONEAL ATORVASTATİN UYGULAMASININ ANASTOMOZ
KAÇAĞI ONARIMI ÜZERİNE ETKİSİ ”**

DR. YAVUZ SELİM KAŞIKÇI

UZMANLIK TEZİ

KONYA 2020

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**“ RATLARDA DENEYSEL KOLON ANASTOMOZ KAÇAĞI MODELİNDE
İNTRAPERİTONEAL ATORVASTATİN UYGULAMASININ ANASTOMOZ
KAÇAĞI ONARIMI ÜZERİNE ETKİSİ ”**

DR. YAVUZ SELİM KAŞIKÇI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: PROF. DR. MEHMET ERİKOĞLU

KONYA 2020

ÖNSÖZ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki eğitimim sırasında gösterdikleri ilgi ve destekten dolayı anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Faruk Aksoy ve tüm Genel Cerrahi Anabilim Dalı hocalarıma, tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Erikoğlu'na, tez konusunda yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı hocamız Dr. Öğr. Ü. Fahriye Kılınç'a, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı hocamız Dr. Öğr. Ü. İbrahim Kılınç'a, Halk Sağlığı Anabilim Dalı hocamız Doç. Dr. Mehmet Uyar'a, KONÜDAM Müdürü Prof. Dr. Selim Kutlu'ya ve kıymetli tüm KONÜDAM çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

RATLARDA DENEYSEL KOLON ANASTOMOZ KAÇAĞI MODELİNDE İNTRAPERİTONEAL ATORVASTATİN UYGULAMASININ ANASTOMOZ KAÇAĞI ONARIMI ÜZERİNE ETKİSİ

Amaç: Anastomoz kaçağı cerrahide karşılaşılan en ciddi problemlerden biridir. Bu problemi çözmek için geçmişten günümüze pek çok çalışma yapılmış, fazla ilaç ve materyal denenmiş, fakat net bir sonuç elde edilememiştir. Amacımız anastomoz kaçağı onarımına intraperitoneal atorvastatin uygulamasının etkisini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmamız 4 gruptan oluştu. Kontrol grubunda 8; primer onarım, atorvastatin ve DMSO gruplarında 10'ar rat yer aldı. Deneklerde çekumun hemen distalindeki kolon ansına transeksiyon uygulandı. Kontrol grubunda, transeksiyon sonrası kaçak oluşturmada anastomoz yapıldı. Diğer gruplarda anastomozun antimezenterik tarafında 5 mm açıklık bırakıldı ve bu gruplara postoperatif birinci günde relaparotomi yapıldı. Primer onarım grubuna sadece primer onarım uygulandı. Atorvastatin grubuna primer onarımdan sonra 1 ml DMSO içerisinde çözündürülmüş 30 mg / kg atorvastatin intraperitoneal olarak uygulandı. DMSO grubunda primer onarımdan sonra 1 ml DMSO aynı şekilde uygulandı. Onarım yapılan gruplar postoperatif 5. günde; kontrol grubu ise diğer gruplarla aynı süre takip edilerek 6.günde sakrifiye edildi. Anastomoz patlama basınçları ölçüldü. Histopatolojik olarak fibroblast sayısı, inflamatuvar hücre, anjiyogenez ve kollajen miktarı ölçüldü. Biyokimyasal olarak ise doku hidroksiprolin ve FGF-2 seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: Atorvastatin grubunda patlama basınçları oran olarak yüksekti fakat istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Primer onarım grubunda inflamatuvar hücre atorvastatin grubuna göre anlamlı yüksek görüldü. Kontrol grubunda ise kollajen miktarı primer onarım ve DMSO gruplarına göre anlamlı yüksekti. Atorvastatin grubunda hidroksiprolin düzeyi diğer gruplara göre anlamlı yüksekti. FGF-2 düzeyi ise atorvastatin grubunda primer onarım grubuna göre anlamlı yüksekti .

Sonuç: Çalışmamız sonucunda intraperitoneal atorvastatin uygulamasının anastomoz üzerine olumlu etkisi olduğu görüldü. Yaptığımız çalışmanın bu konuda yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağını düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Anastomoz, anastomoz kaçağı, atorvastatin

ABSTRACT

THE EFFECT OF INTRAPERITONEAL ATORVASTATIN APPLICATION ON THE REPAIR OF ANASTOMOSIS LEAK IN THE EXPERIMENTAL COLONIC ANASTOMOSIS LEAKAGE IN RATS

Objective: Anastomotic leak is one of the most serious problems encountered in surgery. To solve this problem, many studies have been carried out from past to present, many drugs and materials have been tried, but a clear result has not been obtained. The aim of this study is to investigate the effect of intraperitoneal atorvastatin application on anastomotic leak repair.

Method: Our study consisted of 4 groups. There were 8 rats in the control group; 10 rats in the primary repair, atorvastatin and DMSO groups. Transection was applied to the colon loop just distal to the caecum in the subjects. In the control group, re-anastomosis was performed after transection without causing any leakage. In other groups, an opening of 5 mm was left on the antimesenteric side of the anastomosis, and relaparotomy was performed in these groups on the first postoperative day. Only primary repair was applied to the primary repair group. After primary repair, 30 mg / kg atorvastatin dissolved in 1 ml DMSO was administered intraperitoneally to the atorvastatin group. In the DMSO group, 1 ml DMSO was applied in the same way after primary repair. The repaired groups were sacrificed on the 5th day after the repair. The control group was followed for the same time as the other groups, it was sacrificed on the 6th day without reoperation. Anastomotic bursting pressures were measured. Histopathological evaluation scored the number of fibroblasts, inflammatory cells, angiogenesis and collagen amount. In biochemical evaluation, tissue hydroxyproline and FGF-2 levels were measured.

Results: Bursting pressures were proportionally higher in the atorvastatin group, but there was no statistically significant difference between the groups. Inflammatory cells in the primary repair group were significantly higher in the atorvastatin group. In

the control group, the amount of collagen was significantly higher than the primary repair and DMSO groups. Hydroxyproline level was significantly higher in the atorvastatin group compared to the other groups. FGF-2 level was significantly higher in the atorvastatin group compared to the primary repair group.

Conclusion: As a result of our study, we found that intraperitoneal atorvastatin administration has a positive effect on anastomosis. We think that our study will shed light on other studies on this subject.

Keywords: Anastomosis, anastomotic leak, atorvastatin



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ.....	ix
KISALTMALAR	x
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİ	3
2.2 BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN YARA İYİLEŞMESİNDEKİ ROLÜ.....	4
2.3 ANASTOMOZ KAÇAĞINDA TEDAVİ PRENSİPLERİ.....	5
2.4. ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	5
2.4.1. Mekanik Değerlendirme Yöntemleri	6
a. Patlama Basıncı	6
b. Kopma Direnci	6
2.4.2. Histolojik Değerlendirme Yöntemleri.....	6
2.4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri	6
2.5. STATİNLER VE PLEİOTROPİK ETKİLERİ	7
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	9
3.1. Deney Grupları.....	9
3.2. Cerrahi Girişim.....	10
3.3. Kolon Patlama Basıncı Ölçümü	12
3.4.Histopatolojik inceleme	14
3.5.Biyokimyasal inceleme	14
3.6.İstatistiksel analiz	15
4.BULGULAR	16
5.TARTIŞMA	22
6.SONUÇ	26
7.KAYNAKLAR	27

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1: Erlich – Hunt modeli	14
Tablo 2: Grupların anastomoz patlama basınçları.....	16
Tablo 3: Erlich- Hunt modeline göre grupların histopatolojik değerlendirilmesi ve skor yüzdeleri	17
Tablo 4: Tüm gruplar için histopatolojik olarak istatistiksel analiz.....	17
Tablo 5: Kontrol grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri.....	19
Tablo 6: Primer onarım grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri	19
Tablo 7: Atorvastatin grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri.....	20
Tablo 8: DMSO grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri.....	20
Tablo 9: FGF-2 düzeyi açısından gruplar arası karşılaştırma	20
Tablo 10: Hidroksiprolin düzeyi açısından gruplar arası karşılaştırma	21

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 1: Kaçak modeline uygun olarak antimezenteriktarafı bırakılan 5 mm'lik açıklık.....	10
Resim 2: Atorvastatin çözeltisi	11
Resim 3: Atorvastatin çözeltisinin intraperitoneal uygulanması	11
Resim 4: Dimetil sülfoksit (DMSO)	12
Resim 5: DMSO'nun intraperitoneal uygulanması.....	12
Resim 6: Patlama basıncı ölçümü için hazırlanan sfingomanometre.....	13
Resim 7: Ölçüm esnasında ilk hava çıkışının gözlenmesi	13
Resim 8: Grup 1'de Histopatolojik bulgular	17
Resim 9: Grup 2'de Histopatolojik bulgular	18
Resim 10: Grup 3'de Histopatolojik bulgular	18
Resim 11: Grup 4'de Histopatolojik bulgular	18

KISALTMALAR

HMG-KoA : 3-Hidroksi-3-metilglutaril koenzim A

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

MMP: Matriks metalloproteinaz

TIMP: Matriks metalloproteinaz enzimlerinin doğal doku inhibitörleri

DMSO: Dimetil Sülfoksit

ASA: Amerikan Anestezistler Derneği

GİS: Gastrointestinal sistem

1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Cerrahi tedavide komplikasyonlar geçmişte olduğu gibi günümüzde de önemli problem olmaya devam etmektedir. Operasyon öncesi hazırlıklar, profilaktik antibiyoterapi, cerrahi tekniklerin ilerlemesi ile geçmiş yıllara göre cerrahi komplikasyonlarda azalma görülmesine rağmen anastomoz kaçakları sık görülmeye devam etmektedir. Cerrahi sırasında gözden kaçan intestinal yaralanmalar ve anastomoz kaçakları sonrası batın içi apseler, yara yeri komplikasyonları, fistüller, anastomoz darlıkları riski artmaktadır. Anastomoz kaçakları ve intestinal yaralanmalar mortalite ve morbidite ile yakından ilişkilidir(1,2).

Anastomoz kaçakları etiyolojisinde lokal ve/veya sistemik etkenler rol oynamaktadır(3). Sistemik etkenlerden ileri yaş, malignite, beslenme ve elektrolit dengesizliği, anemi, peritonit ve sepsis durumu komplikasyon oranını arttırır(3,4). İlgili kolon segmentinde beslenme bozukluğu, anastomoz hattındaki gerginlik, kullanılan sütür materyalleri, cerrahi teknik, barsaktaki primer patoloji ise komplikasyon oranını etkileyen lokal etkenlerdir (5,6).

Anastomoz kaçağı riski Treitz ligamanından distale doğru gidildikçe artar. Yapılan çok merkezli bir çalışmada kolorektal rezeksiyon sonrası anastomozda kaçak sıklığının %0.5-30 arasında değiştiği bildirilmiştir. Kolonda patojen mikroorganizmaların fazla bulunması ve kollajenaz enzim aktivitesinin yüksek olması nedeniyle anastomoz kaçağı riski ince barsağa göre yüksektir. Proksimal ince barsak anastomozunda kaçak riski %1 iken, distal kolorektal rezeksiyonlarda bu oran yükselmektedir(7,8,9). Klinik ve radyolojik olarak fark edilemeyen asemptomatik kaçakların sıklığı bilinmemekle beraber fark edilenlerden 2-3 kat fazla olduğu bildirilmiştir(10,11).

Kolorektal patoloji nedeniyle acil cerrahi müdahale yapılan vakalarda rezeksiyon+anastomoz yapılması halen tartışmalı bir konu olup, anastomoz kaçağını önlemek için bazı riskli hastalarda anastomoz yerine ostomi açılmasının daha uygun olduğu bildirilmiştir. Fakat anastomoz yapılması yerine ostomi açmanın da bir çok komplikasyonu olduğu akılda tutulmalıdır (12,13).

Anastomozları iyileştirmek amacıyla yıllardır cerrahlar tarafından çalışmalar yapılmakta, bir yandan da teknolojik gelişmeler cerrahın yükünü hafifletmek ve riskleri azaltmak konusunda yardımcı olmaktadır. Çeşitli anastomoz tekniklerinin yanında anastomozu sağlamlaştırmak amaçlı bazı tıbbi materyal ve ilaçlarla pek çok çalışmalar yapılmıştır.

Bir ilacın primer etkisi dışında diğer sistemler üzerine olan farklı etkilerine “pleiotropik etki” denir. Statinler, HMG-KoA redüktaz inhibitörü antikolesterol ilaçlar olup yapılan çalışmalarda bazı pleiotropik etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Statinlerin endotelial fonksiyonu iyileştirdiği, vasküler inflamasyonu azalttığı, trombosit agregasyonunu azalttığı, angiogenez sürecinde endotel oluşumunu arttırdığı, angiogenez sürecinde endotelial hücre proliferasyonu ve göçü arttırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur (14-20).

Bir deneysel çalışmada oral simvastatin uygulamasının, sıçanlarda kolonik anastomoz üzerine olumlu etkileri olduğu sonucuna varılmıştır(14). Bir başka deneysel çalışmada intraperitoneal lovastatin ve atorvastatin uygulamasının postoperatif intraperitoneal adezyonu azalttığı sonucuna varılmış, intraperitoneal lovastatin uygulamasının anastomoz üzerine olumsuz bir etki yapmadığı mekanik değerlendirme ile belirtilmiştir(21). İntraperitoneal atorvastatin uygulanmasının peritoneal adezyonları azaltıcı etkisi olduğu sonucuna varılan bazı çalışmalar mevcut olup, gastrointestinal sistemde herhangi bir anastomoz üzerine olumlu veya olumsuz etkisini doğrudan gösteren çalışma yoktur. Biz çalışmamızda anastomoz kaçağı oluşturulmuş ratlarda intraperitoneal atorvastatin uygulamasının anastomoz kaçağı onarımı üzerine etkisini mekanik, biyokimyasal ve histolojik olarak değerlendirerek yeni yöntemlerin geliştirilmesine katkıda bulunmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER:

2.1.GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE YARA İYİLEŞMESİ:

Tüm dokularda yara iyileşmesi benzer olmakla birlikte gastrointestinal sistemde bazı farklı özellikler taşır. Gerilme kuvveti barsaklarda cilt yaralarına göre normal şartlarda daha hızlı oluşmaktadır. Barsak yaralarında fibroblastlara ek olarak düz kas hücreleri de kollajen sentezler. Cilt ve barsak yaralarında fibroblastlardan kollajen sentezi farklı mekanizmalarla gerçekleşir (22-25).

Gastrointestinal organlar anatomik olarak çok tabakalı duvar yapısına sahip lümenli yapılardır. En iç tabaka olan mukoza epiteli lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmakta olup özefagus dışında tüm GİS organlarında epitelyum bazal membran üzerine oturmuş kolumnar hücrelerden oluşmaktadır. Submukoza, vasküler yapılardan ve konnektif dokudan meydana gelen bir tabaka olup barsak çeperinin bütünlüğünü ve mekanik gücünü sağlar. Gastrointestinal sistemdeki kollajenin büyük kısmı bu tabakada bulunur ve yarısından fazlası tip 1 kollajendir. Ayrıca elastin de içermekte olup yara iyileşmesindeki en önemli tabakadır. Submukozanın üzerinde muskularis propria bulunur. Bu tabaka sirküler ve longitudinal kas katmanlarından oluşur. En dış tabaka ise seroza olup bağ dokusu ve mezotel hücrelerinden oluşur(25-27).

Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi evreleri inflamasyon, proliferasyon-fibroplazi ve olgunlaşmadır. İlk olarak yara dudaklarında vazokonstriksiyon meydana gelir; sonrasında vazodilatasyon, vazoaktif ajanların salınımı ve permeabilite artışı sonucu inflamasyon başlar. Yaralanmanın 3.saatinde nötrofiller bölgeye gelir ve 12-24 saatte en üst düzeye ulaşır. Daha sonra sırasıyla makrofajlar ve fibroblastlar yara bölgesine gelir. Makrofajlar sitokin salgılayarak inflamasyonu kontrol ederler. Fibroblast ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunu, kollajen sentezini ve neovaskülarizasyonu uyarırlar.

Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesinde kollajen sentezinden fibroblastlarla birlikte düz kas hücreleri de sorumludur. Yarada kollajen sentezi ile proliferasyon

evresine geçilir(26-29). Sağlam barsaktaki gerilme kuvvetinin en önemli kaynağı ve anastomotik uçları bir araya getiren dikişlerin tutunduğu temel katman submukozadır. Submukozadaki kollajen birikimi, yaranın mekanik direncini belirler(25,26). Postoperatif ilk 3-4.günlerde anastomozda belirgin bir kuvvet azalması yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir. Bunun öncelikle yara bölgesinde artmış kollajenolize bağlı olduğu düşünülmüş olup anastomoz kaçağı açısından en riskli dönemin ilk 3-4 gün olduğu belirtilmiştir. Proliferasyon evresinde yani dördüncü günden itibaren yara bölgesinde kollojen yapımı belirginleşmeye başlar ve kollajen miktarındaki artışla birlikte anastomoz kuvvetinde de artış meydana gelir(25). Kollajenin temel görevi bağ dokusunu güçlendirmektir. Kolon anastomozlarının mekanik dayanıklılığı 14. günde normal dokunun %45'i kadardır, 4. ayda ise %75 'i düzeyine ulaşır(29,30). 10.günden 6.aya kadar olan bir süreden oluşan remodeling döneminde granülasyon dokusu azalarak yerini normal dokuya bırakır (28).

2.2 BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN YARA İYİLEŞMESİNDEKİ ROLÜ

Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri de önemli bir role sahiptir(31). Bu faktörlerden en önemlileri: trombosit türevli büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü ve vasküler endotelial büyüme faktörüdür. Anastomoz bölgesinden salınan büyüme faktörleri, hücrel çoğalmayı, anjiogenezisi ve ekstrasellüler matriksin artmasını sağlar. Bu süreç yara iyileşmesinin hızlandırır(32). FGF büyüme faktörlerinden bir tanesidir. FGF ailesi 23 üyeden oluşur. FGF-1 ve FGF-2 sırasıyla asidik ve bazik FGF'ler olarak bilinirler. İnflamatuar hücreler, vasküler endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratinositler tarafından üretilirler. Yeniden epitelizeasyon, anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumunda rol oynarlar. FGF-2 ayrıca ekstrasellüler matriksi oluşturan proteinlerin, onların yıkım enzimlerinin, bu enzimlerin inhibitörlerinin ve yara iyileşmesinde çok önemli bir basamak olan anjiyogenezis ve vaskülogenezis olaylarının düzenlenmesinde de çok önemli rol oynayan bir büyüme faktörüdür(33,34). Endotel hücrelerin çoğalması, göç etmesi ve yeni kan damarı oluşumunun uyarılmasında FGF-2 önemli rol oynar(35,36).

2.3 ANASTOMOZ KAÇAĞINDA TEDAVİ PRENSİPLERİ

Anastomoz içeren cerrahi yapılmış hastalarda huzursuzluk, iyiye giden genel durumda birden bozulma, ateş, karın ağrısı gibi belirtiler baş gösterdiğinde anastomoz kaçağı ihtimali akla gelmelidir. Hastalarda genellikle paralitik ileus gelişir, iştahsızlık, yemek yedikten sonra kusma gibi belirtiler de ortaya çıkar. Bu sayılan bulguların varlığında fizik muayene ve gerekirse görüntüleme yöntemlerinden faydalanarak anastomoz kaçağı olup olmadığı değerlendirilmelidir. Anastomoz kaçağı az ve kontrollü ise, hastanın genel durumunda belirgin bozulma yoksa konservatif takip düşünülmelidir. Hemen oral alım kesilerek total parenteral beslenme ve antibiyotik tedavisine başlanmalıdır. Yine hepatopankreatikobiliyer sistem kaçaklarında drenaj yeterli ise ve fistül kontrollü ise tedavi için konservatif yaklaşım düşünülebilir (37) .

Daha önceden dren konulmamış ve enfeksiyon kontrol altına alınamayan hastalarda yeniden cerrahi endikasyonu vardır. Bu durumdaki kolon anastomoz kaçaklarında kolostomi açılmalıdır. İnce barsak anastomoz kaçaklarında kaçak bölgesi rezeke edilip enflamasyon ve ödem minimal ise yeniden anastomoz denenebilir. Safra yolu kaçaklarında kaçak kontrollü ise dren yerleştirilmeli, kaçak alanı geniş ise safra yolunun rekonstrüksiyonu düşünülmelidir. Yine pankreatik kaçaklarda debi düşük ise dren yerleştirilmesi yeterli olabilir. Hangi bölge olursa olsun anastomoz kaçağı olan hastalarda sepsis, septik şok ve ölümün önüne geçmek için tedavi seçenekleri bir an önce belirlenmelidir(37).

2.4. ANASTOMOZ İYİLEŞMESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Anastomoz iyileşmesi başlıca mekanik, biyokimyasal ve histolojik yöntemlerle değerlendirilir. Histolojik inceleme doku düzeyinde iyileşmenin saptanması açısından önemli bir göstergedir(38-40).

2.4.1. Mekanik Değerlendirme Yöntemleri

a. Patlama Basıncı

Barsak duvarı gaz veya sıvı ile artan intralüminal basınca karşı direnç gösterir(38,40). Anastomoz sonrası 2-3.günlerde bu direnç en düşük değerlerde iken sonrasında hızla artarak 7.günde ameliyat öncesi düzeye çıkar. Bu andan itibaren patlama anastomoz hattı dışında bir barsak segmentinden olur. Bu nedenle erken dönemde anastomoz hattının değerlendirilmesi için patlama basıncı ölçümü kıymetli bir yöntemdir. Sfigmomanometre ile manuel olarak basınç değerlerinin ölçülebilmesi yanında Logger Bilgisayar Programı gibi sistemler ile basıncın bilgisayarda monitörize edilebildiği hassas ölçüm yöntemleri de mevcuttur (1,39).

b. Kopma Direnci

Bu yöntemde ilgili barsak ansı uzun eksenine paralel olarak kesilerek standart büyüklükte bir şerit hazırlanır. Şeridin iki ucuna karşıt yönlerde kuvvet uygulanırken anastomozun kopmasına neden olan kuvvet kopma direncini gösterir. İkinci haftaya kadar olan değerlendirmelerde uygun bir parametredir(38).

2.4.2. Histolojik Değerlendirme Yöntemleri

Anastomoz hattındaki hücresel infiltrasyon ve fibroblastik aktivite ışık mikroskobu altında incelenebilir. Gelişen teknoloji ile birlikte daha çok kullanım alanına sahip olan elektron mikroskobu da kollajen lifleri detaylı olarak gösterebilmektedir(39).

2.4.3. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri

İyileşmenin temel biyokimyasal parametresi kollajen miktarı tayini olup doku kollajen miktarı bir aminoasit olan hidroksiprolin düzeyi ölçümü ile saptanır(10). Kollajen miktarı, anastomoz sonrası ilk günde gerek kollajenoliz, gerekse yapımındaki

azalmaya baęlı olarak en dūřık seviyeye iner ki anastomoz için en kritik dönem bu dönemdir(38).

Genel bilgiler kısmında da belirtildiği gibi yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin rolü büyüktür(31). Başlıcaları trombosit türevli büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü ve vasküler endotelyal büyüme faktörü olup bu faktörler hücresel çoğalmayı, anjiogenezisi ve ekstrasellüler matriksin artmasını sağlarlar. Bu süreç yara iyileşmesinin hızlandırır(32). 23 üyeden oluşan FGF bunlardan bir tanesidir. FGF-2 (bazık FGF) yeniden epitelizasyon, anjiogenez ve granülasyon dokusu oluşumunda rol oynar. Endotel hücre çoğalması, g etmesi, yeni kan damarı oluşumunun uyarılması FGF-2' nin en iyi karakterize edilen fonksiyonlarıdır(33-36). Bu bilgilerden yola çıkarak dokuda büyüme faktörleri konsantrasyonu ölçümünün değerlendirme yöntemi olarak kullanılabileceğini düşündük ve doku FGF-2 düzeyini analiz etmeyi planladık.

2.5. STATİNLER VE PLEİOTROPİK ETKİLERİ

Bir ilacın primer etki amacı dışında diğer sistemler üzerine olan farklı etkilerine “pleiotropik etki” denir. 3-Hidroksi-3-metilglutaryl koenzim A redüktaz (HMG-KoA redüktaz) inhibitörleri yaygın olarak statinler olarak bilinirler. İlk olarak kolesterol düşürücü ilaçlar olarak tıbbın kullanımına girmiştir. Yapılan çalışmalarda pek çok pleiotropik etkisi ortaya konulmuştur. Statinlerin endotelyal fonksiyonu iyileştirdiği, vasküler inflamasyonu azalttığı, trombosit agregasyonunu azalttığı, anjiogenez sürecinde endotel oluşumunu arttırdığı, anjiogenez sürecinde endotelyal hücre proliferasyonu ve g arttırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur (14-20).

akmak ve arkadaşları yaptıkları bir deneysel çalışmada oral simvastatin uygulamasının sıçanlarda kolonik anastomoz üzerine olumlu etkileri olduğu sonucuna varmışlardır(14). Başka bir çalışmada intraperitoneal statin uygulamasının diyabetik ve normal ratlarda serebral iskemiye azalttığı gösterilmiştir(41).

Bir başka çalışmada intraperitoneal lovastatin ve atorvastatin uygulamasının postoperatif adezyonu azalttığı sonucuna varılmış, intraperitoneal lovastatin uygulamasının anastomoz üzerine olumsuz bir etki yapmadığı (mekanik değerlendirme ile) belirtilmiştir(21).



3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneyisel çalışmamız, 18.06.2020-25.06.2020 tarihleri arasında, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (KONÜDAM) laboratuvarında Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK) 2020-025 karar sayısı ile onay alınarak gerçekleştirildi. Çalışmada ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen 38 adet Wistar Albino cinsi dişi rat kullanıldı. Ratlar 25° C'de 12 saat gündüz, 12 saat gece periyotlarında standart rat yemi ve normal içme suyu ile beslendi. Deneklerde daha önce yapılan benzeri çalışmalardaki kaçak modeline benzer şekilde anastomoz kaçağı oluşturuldu(1,27,42). Bu kaçak modeline benzer şekilde anastomozun antimezenterik yüzünde 5 mmlik açıklık bırakıldı. Anastomoz onarımı ve sakrifikasyon işlemi süreleri de yine literatüre uygun ve benzer olarak belirlendi(1,42). Postoperatif 1.günde reoperasyon ile anastomoz onarımı, kaçak onarımı sonrası 5.gün ise sakrifikasyon uygulanmıştır. Kontrol grubu olan 1.grup da diğer gruplarla beraber aynı süre takip edilmiş, reoperasyon yapılmadan 6.günde sakrifikasyon uygulandı. Denekler yüksek doz ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorür anestezisi ile sakrifiye edildi.

3.1. Deney Grupları

Deneyde 4 grupta 38 rat kullanıldı. Kontrol grubu olan 1.grup 8, diğer gruplar 10'ar rattan oluşturuldu.

1.Grup (n:8) : Kontrol grubu (transeksiyon+anastomoz grubu)

Transeksiyon sonrası 5/0 vikril ile anastomoz yapıldı. 6.günde sakrifikasyon uygulandı.

2.Grup (n:10) : Primer onarım grubu

Transeksiyon sonrası anastomoz inkomplet olarak yapıldı. Antimezenterik yüzde 0.5 mm' lik açıklık bırakıldı. 1. gün reopere edilerek kaçak olan kısım 5/0 vikril sütür ile onarıldı. Reoperasyonun 5. gününde sakrifikasyon yapıldı.

3.Grup (n:10) : Atorvastatin grubu

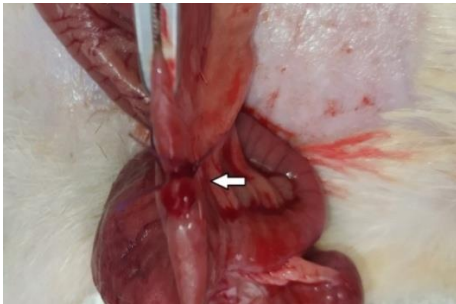
Transeksiyon sonrası 2.gruptaki gibi inkomplet anastomoz yapıldı. 1. gün reopere edilerek kaçak olan kısım 5/0 vikril sütür ile onarıldı. 1 ml dimetil sülfoksitte (DMSO) çözülmüş 30 mg/kg atorvastatin anastomoz üzerine uygulandı (21). Reoperasyonun 5. gününde sakrifikasyon yapıldı.

4.Grup (n:10): Plasebo çözelti grubu

Transeksiyon sonrası inkomplet anastomoz yapıldı. 1. gün reopere edilerek kaçak olan kısım 5/0 vikril sütür ile onarıldı. Anastomoz üzerine 1 ml dimetil sülfoksit (DMSO) plasebo çözelti olarak uygulandı. Reoperasyonun 5. gününde sakrifikasyon yapıldı.

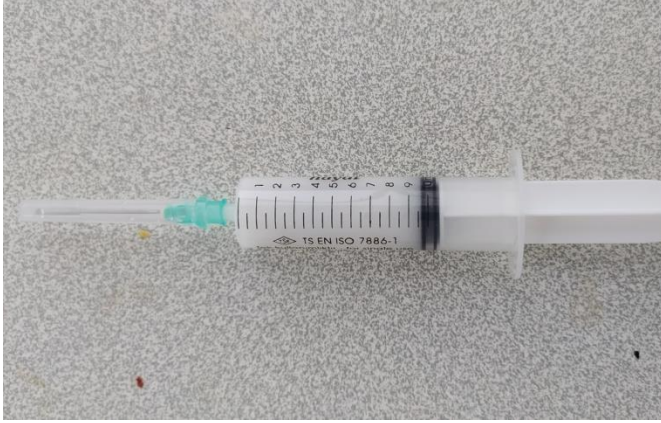
3.2. Cerrahi Girişim

Cerrahi teknikler tamamen steril koşullar altında gerçekleştirildi. Tüm denekler cerrahi girişimden önceki 12 saat boyunca aç bırakıldı. Deneklere Ketamin hidroklorür (Ketalar R %10) 1 ml/kg (Anestezi için), Ksilazin hidroklorür (Rompun R %2) 1 ml/kg (Sedasyon ve analjezi için) kombinasyonu intraperitoneal uygulandı. Karın ön duvarları tıraşlandıktan sonra povidon iyod ile temizlendi. Ksifoid altından başlayan 3 cm.lik orta hat insizyonu ile karına girildi. Çekum bulunarak hemen distalinde barsak segmentinin kanlanması bozulmadan, uzun eksenine dik olacak şekilde transeksiyon kesisi yapıldı. Birinci grupta transeksiyonu takiben 5/0 vikril sütür ile tek planda anastomoz yapıldı. Kaçak oluşturulan diğer gruplarda kaçak modeline göre anastomozun antimezenterik tarafında yaklaşık 5 mm'lik açıklık bırakıldı (Resim 1).



Resim 1: Kaçak modeline uygun olarak antimezenterik tarafta bırakılan 5 mm'lik açıklık.

Tüm anastomozlar tek cerrah tarafından yapıldı ve her anastomoza 6-7 sütür konuldu. İşlem sonrası fasya ve cilt 3/0 ipek sütür ile devamlı olarak kapatıldı. Denekler, postoperatif dönemde standart rat yemi ve içme suyu ile beslendi. 1. gruba sadece kolon anastomozu yapıldı ve kontrol grubu olarak belirlendi. Kaçak oluşturulmayan bu grup diğer deneklerle aynı süre takip edilerek 6. günde sakrifiye edildi. 2. gruba anastomoz kaçağı oluşturulduktan sonra 1. günde reoperasyon yapıldı ve anastomoz primer olarak onarıldı. Reoperasyondan sonra 5. günde denekler sakrifiye edildi. 3. gruba anastomoz onarımı yapıldıktan sonra toz haline getirilip 1 ml DMSO'da çözülmüş 30 mg/kg atorvastatin enjektörle anastomoz bölgesi üzerine uygulandı (Resim 2,3). Reoperasyonun 5. gününde sakrifikasyon yapıldı.

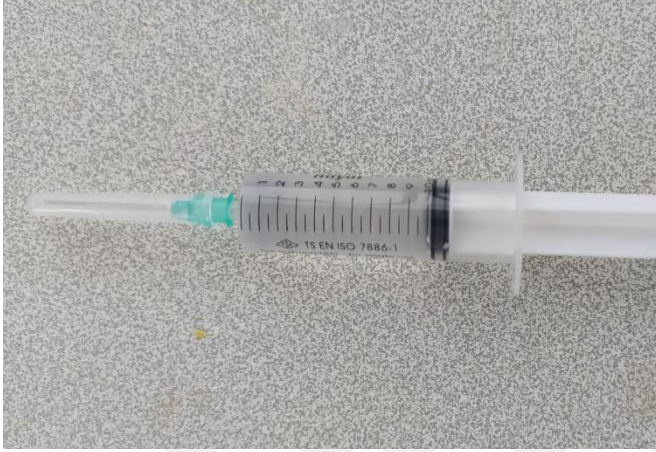


Resim 2: Atorvastatin çözeltisi

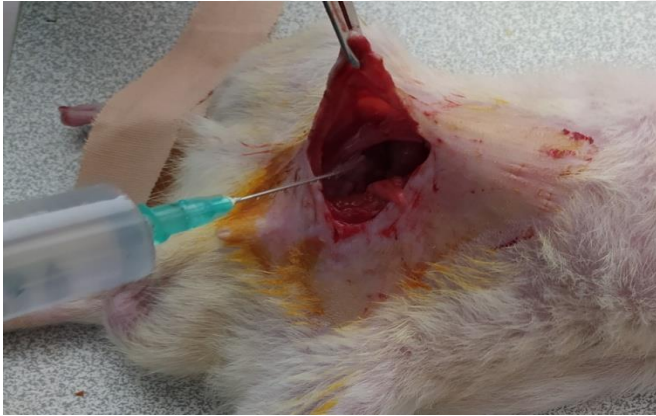


Resim 3: Atorvastatin çözeltisinin intraperitoneal uygulanması

Dördüncü gruba ise onarımla birlikte anastomoz bölgesi üzerine 1 ml DMSO plasebo çözelti olarak uygulandı (Resim 4,5). Reoperasyonun 5. gününde sakrifikasyon yapıldı. Kolon patlama basıncı ölçüldü ve perianastomotik dokunun histopatolojik ve biyokimyasal incelemesi için örnekler alındı.



Resim 4: Dimetil sülfoksit (DMSO)



Resim 5: DMSO'nun intraperitoneal uygulanması

3.3. Kolon Patlama Basıncı Ölçümü:

Postoperatif 6. günde sakrifiye edilen ratlara eski insizyon hattından relaparotomi yapıldı. Anastomoz hattı bulunarak, çevre dokularla olan yapışıklıklar giderildi. Anastomozun sağlam olduğu görüldükten sonra, anastomoza 2 cm uzaklıktaki proksimal ve distal kolon kesilerek anastomozu içeren 4 cm'lik barsak segmenti rezeke edildi. Çıkarılan segmentlerin distal ucu 3/0 ipekle bağlandı. Proksimal uçları ise lümen

içerisine kanül yerleştirildikten sonra manuel sfıgmomanometreye bağlandı. Manuel sfıgmomanometre ile su içerisinde intralüminal basınç hava ile arttırıldı (Resim 6,7). Anastomozun onarım yapılan kaçak yerinden ilk hava çıkışının gözleendiğı basınç değeri kaydedildi. Patlama basıncı (mmHg) olarak ölçüldü (Resim 7).



Resim 6: Patlama basıncı ölçümü için hazırlanan sfıgmomanometre



Resim 7: Ölçüm esnasında ilk hava çıkışının gözlenmesi

3.4.Histopatolojik inceleme:

Kolon segmentlerine ait dokular %10'luk neutral buffered formalin solüsyonu ile fikse edildi. Tespit sonrası ototeknikonla standart doku takip işlemlerinden geçirilen dokular parafin bloklara gömüldü. Mikrotomla her bir bloktan ortalama 4 µm kalınlığında kesitler lam üzerine alınarak lamlara standart Hemotoksilen/Eozin (H/E) boyama yöntemi uygulandı.

Mikroskopik değerlendirme, kamera ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus BX53F; Tokyo, JAPAN) altında tek patolog tarafından gerçekleştirildi. İnceleme; inflamatuvar hücre, fibroblast sayısı, anjiogenez (neovaskülarizasyon) ve kollojen miktarının 1-4 skalada skorlanarak değerlendirildiği Erlich – Hunt modeline göre yapıldı (43) (Tablo 1).

Tablo 1: Erlich - Hunt modeli	
Skor	İnflamatuvar hücre/Fibroblast sayısı/Anjiogenez/ Kollajen miktarı
1	Az miktarda ama dağınık olarak var
2	Az miktarda ve her alanda var
3	Çok miktarda ama dağınık olarak var
4	Çok miktarda ve her alanda var

3.5.Biyokimyasal inceleme:

Rat barsak örnek dokuları soğuk fosfat tamponu (50 mM, pH: 7.4) içerisine alındı. Doku örnekleri parametrelerin analizine kadar New Brunswick U570 (New Brunswick Scientific, New Jersey, USA) buzdolabında -80 °C' de saklandı. Çözdürülen doku örnekleri tartılarak 10 kat (w/v) soğuk fosfat tamponu (50 mM, pH: 7.2) içerisinde mekanik homojenizatör (Ika T10 basic ultra-turrax, Almanya) ve ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonopuls, Almanya) kullanılarak buz içerisinde homojenize edildi. Homojenatlar Hettich Rotina 46R (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Almanya)

marka soğutmalı santrifüj cihazında 4°C ve 10.000 g hızda 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar ayrıldı.

Barsak dokularından elde edilen süpernatantlarda rat FGF-2 ve genel hidroksiprolin seviyeleri (USCN Life Science. Inc., Wuhan, Çin) kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

Barsak dokularından elde edilen süpernatantların doku protein seviyeleri Pierce bicinchoninic acid-BCA (Thermo Scientific, Illinois, ABD) kitleri kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile ölçüldü.

Barsak doku süpernatantlarında parametre seviye sonuçları protein seviyelerine bölünerek standardize edildi. FGF-2 seviyeleri pg/mg protein olarak ve hidroksiprolin seviyeleri ng/mg protein olarak verildi.

ELISA kitlerinin yıkama sürecinde Biotek ELX 50 mikropate yıkayıcı (BioTek Instruments, Vermont, ABD) kullanıldı. Spektrofotometrik ölçümlerde Bio-rad Mikropate absorbans okuyucu xMark (Bio-rad Laboratories, California, ABD) sistemi kullanılarak absorbans konsantrasyon kalibrasyon grafiklerine göre sonuçlar hesaplandı.

3.6.İstatistiksel analiz:

İstatistiksel analiz için SPSS 24.0 programı kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırma Kruskal-Wallis varyans analizi ile yapıldı. Post-Hoc analizde Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm analizlerde $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Grupların anastomoz patlama basıncı değerleri karşılaştırıldığında anlamlı farklar görüldü (tablo 2). Tüm gruplarda anastomozlar salimdi. 3 ve 4.gruplarda benzer anastomoz patlama basınç değerleri ölçüldü. 2.grup olan primer onarım grubunda anastomoz patlama basınç değerleri genel olarak diğer gruplara göre düşüktü.

Tablo 2: Grupların anastomoz patlama basınçları				
DENEKLER	GRUP 1 (kontrol grubu) (mmHg)	GRUP 2 (primer onarım grubu) (mmHg)	GRUP 3 (atorvastatin grubu) (mmHg)	GRUP 4 (DMSO grubu) (mmHg)
1	170	120	200	180
2	160	210	180	140
3	140	50	100	110
4	180	140	220	120
5	80	100	120	160
6	140	60	120	80
7	100	90	140	100
8	160	90	80	200
9		50	120	120
10		140	100	120

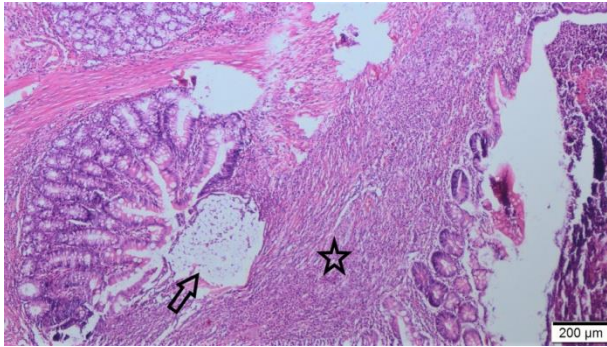
Gruplar arası karşılaştırmada oransal fark saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.243$).

Anastomozlardaki inflammatuar hücre ve kollajen skoru sonuçları anlamlı idi ($p<0.05$). Fibroblast sayısı ve anjiogenez skorları açısından ise anlamlı sonuçlar elde edilemedi ($p>0.05$). 1.gruptaki kollajen miktarı 2. ve 4.gruptan anlamlı düzeyde fazla

görüldü ($p=0.05$). 2.Grupta inflamatuvar hücre skoru 3.gruba göre anlamlı düzeyde yüksek görüldü ($p=0.011$) (tablo 3,4).

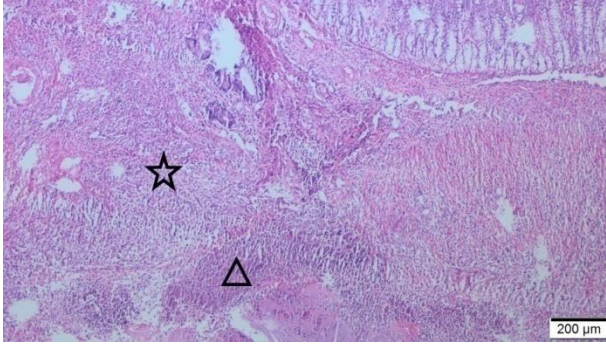
Tablo 3: Erlich - Hunt modeline göre grupların histopatolojik değerlendirilmesi ve skor yüzdeleri					
Değerlendirme	Skor	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
İnflamatuvar hücre	1	% 0	% 0	% 20	% 0
	2	% 62.5	% 20	% 50	% 50
	3	% 12.5	% 40	% 30	% 50
	4	% 25	% 40	% 0	% 0
Fibroblast sayısı	1	% 12.5	% 20	% 10	% 40
	2	% 37.5	% 40	% 40	% 60
	3	% 37.5	% 40	% 50	% 0
	4	% 12.5	% 0	% 0	% 0
Anjiogenez	2	% 50	% 50	% 40	% 50
	3	% 12.5	% 50	% 60	% 50
	4	% 37.5	% 0	% 0	% 0
Kollajen miktarı	1	% 37.5	% 90	% 50	% 90
	2	% 50	% 10	% 30	% 10
	3	% 12.5	% 0	% 20	% 0

Tablo 4: Tüm gruplar için histopatolojik olarak istatistiksel analiz	
Değerlendirme	İstatistiksel anlamlılık
İnflamatuvar hücre	$p < 0.05$ - 2.grupta 3.gruba göre anlamlı yüksek
Fibroblast sayısı	$p > 0.05$ - Gruplar arasında anlamlı fark yok
Anjiogenez	$p > 0.05$ - Gruplar arasında anlamlı fark yok
Kollajen miktarı	$p < 0.05$ - 1.Grupta 2. ve 4.gruba göre anlamlı yüksek



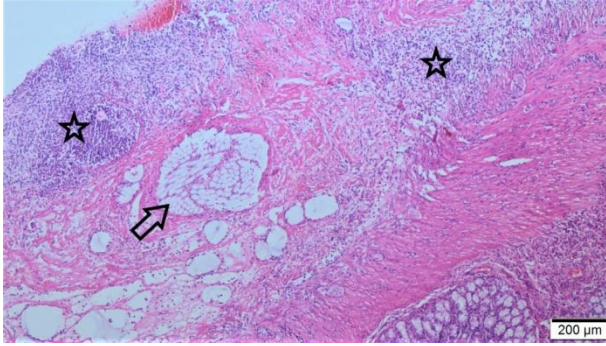
Resim 8: Grup 1’de Histopatolojik bulgular

Grup 1’de anastomoz hattında anjiogenez, kollojen sentezi, inflamatuvar hücreler izlenmekte (yıldız). Ok sütür materyalini göstermekte (Hematoksilen/Eozin, 40x).



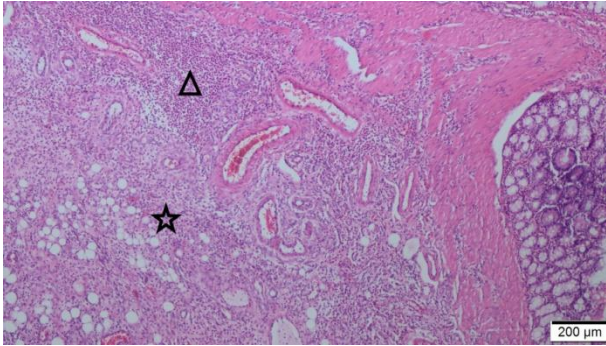
Resim 9: Grup 2’de Histopatolojik bulgular

Grup 2’de anastomoz bölgesinde barsak duvarında anjiogenez ve inflamatuvar hücreler (yıldızla işaretli alan) mevcut olup serozal yüzeyde iltihabi hücrelerin yoğunlaştığı görülmekte (üçgen) (Hematoksilen/Eozin, 40x).



Resim 10: Grup 3’de Histopatolojik bulgular

Grup 3’te anastomoz hattında barsak duvarında iltihabi infiltrasyon ve anjiogenez alanları (yıldızlar) izlenmekte. Sütür materyali (okla işaretli) çevresinde fibrin ve inflamatuvar hücreler görülmekte (Hematoksilen/Eozin, 40x).



Resim 11: Grup 4’de Histopatolojik bulgular

Grup 4'te anastomoz hattında (yıldız) barsak duvarında değişik çaplarda vasküler yapıların proliferasyonu, inflamatuvar hücreler, fibroblastik proliferasyon izlenmekte. Bir alanda inflamatuvar hücreler yoğunlaşmakta (üçgen) (Hematoksilen/Eozin, 40x).

Kollajen miktarı, kaçak oluşturulmayan grupta 2. ve 4.gruba göre anlamlı yüksekti ($p<0.05$). Kaçak olmayan kontrol grubunda inflamatuvar hücre sayısı açısından diğer gruplara göre anlamlı farklılık yoktu. Primer onarım yapılan 2.grupta inflamatuvar hücre sayısı 3.grup olan atorvastatin grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Bu durumun, atorvastatin grubunda yara iyileşmesinin hızlanması ve inflamasyon fazından proliferasyon fazına daha hızlı geçişin olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Biyokimyasal olarak anastomoz hattı doku FGF-2 ve hidroksiprolin düzeyleri analiz edildi (Tablo 5,6,7,8).

Tablo 5: Kontrol grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri

GRUP 1	FGF-2 (pg/mg protein)	Hidroksiprolin (ng/mg protein)
1	35,64	66,08
2	35,16	65,21
3	34,81	65,18
4	29,32	54,36
5	30,74	56,99
6	27,56	51,29
7	33,95	62,37
8	36,75	66,17

Tablo 6: Primer onarım grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri

GRUP 2	FGF-2 (pg/mg protein)	Hidroksiprolin (ng/mg protein)
1	34,67	68,49
2	32,09	63,39
3	32,18	63,57
4	30,95	61,15
5	25,65	49,83
6	19,78	36,08
7	25,69	49,33
8	28,82	56,94
9	25,06	49,12
10	28,72	55,08

Tablo 7: Atorvastatin grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri

GRUP 3	FGF-2 (pg/mg protein)	Hidroksiprolin (ng/mg protein)
1	38,34	67,85
2	43,97	79,23
3	33,32	58,97
4	31,35	56,48
5	38,07	68,62
6	35,14	62,77
7	39,10	70,44
8	44,64	82,04
9	39,73	71,58
10	39,42	71,02

Tablo 8: DMSO grubunda doku FGF-2 ve Hidroksiprolin düzeyleri

GRUP 4	FGF-2 (pg/mg protein)	Hidroksiprolin (ng/mg protein)
1	30,48	53,84
2	29,33	51,54
3	32,19	56,87
4	26,98	48,12
5	28,41	50,17
6	37,07	65,37
7	38,21	67,48
8	39,54	71,19
9	36,83	65,02
10	32,61	57,61

Tablo 9: FGF-2 düzeyi açısından gruplar arası karşılaştırma

FGF-2 düzeyi açısından gruplar arası istatistiksel anlamlılık
Grup 1 ile grup 2 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 1 ile grup 3 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 1 ile grup 4 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 2 ile grup 3 arasında fark var $p<0,001$
Grup 2 ile grup 4 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 3 ile grup 4 arasında fark yok $p>0,05$

Tablo 10: Hidroksiprolin düzeyi açısından gruplar arası karşılaştırma

Hidroksiprolin düzeyi açısından gruplar arası istatistiksel anlamlılık
Grup 1 ile grup 2 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 1 ile grup 3 arasında fark var $p<0,05$
Grup 1 ile grup 4 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 2 ile grup 3 arasında fark var $p<0,05$
Grup 2 ile grup 4 arasında fark yok $p>0,05$
Grup 3 ile grup 4 arasında fark var $p<0,05$

3.grup olan atorvastatin grubunda FGF-2 düzeyi primer onarım yapılan 2.gruba göre anlamlı yüksek bulundu. Fakat diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmadı. Yine hidroksiprolin düzeyi 3.grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Dolayısıyla bu sonuçlar atorvastatin grubunda yara iyileşmesinin daha iyi olduğunu düşündürmektedir.

5.TARTIŞMA

Gastrointestinal sistem anastomozlarında yara iyileşmesi yıllardan beri pek çok klinik ve deneysel çalışmalarla araştırılmakta olup bazı sonuçlar ortaya konulmuş olsa da yüksek riskli olgularda kaçak olasılığını azaltmaya yönelik net bir tedavi şekli ortaya çıkarılamamıştır. Tanı amaçlı görüntülemelerde ultrasonografi ve bilgisayarlı tomografi yaygın olarak kullanılmasına rağmen anastomoz kaçaklarında standart bir sınıflama hala yapılamamıştır(44). Bu nedenle anastomoz kaçakları ciddi morbidite ve mortalite sebebi olmaya devam etmektedir.

Kolorektal cerrahide de ölümle sonuçlanabilecek en önemli komplikasyonlardan biri anastomoz kaçaklarıdır(45). Genel olarak GİS anastomoz ayrılması ve kaçakları sıklığı %2-7 iken koloanal anastomozlarda bu oran % 10-20'lere çıkmaktadır(46,47). Komen ve ark.'larının yaptığı 122 hastalık bir çalışmada anastomoz kaçağı için birtakım risk faktörleri belirtilmiştir. Bunlar divertiküler hastalık, rektal rezeksiyon cerrahisi, acil cerrahi girişimler, sigara kullanımı, vücut kitle indeksi yüksekliği, steroid kullanımı, radyoterapi veya kemoterapi alınması, yüksek ASA skoru olması, geçirilmiş kardiyovasküler cerrahi, anastomozun elle veya stapler ile yapılmış olması ve operasyon süresi olarak belirtilmiştir(48). Hastanın serum albümin düzeyi, karaciğer fonksiyon testleri ve protrombin zamanı gibi laboratuvar değerlerinin bozuk olması riskli bir anastomoz yapıldığını gösterebilir. Yine Hastanın genel durumu, yaşı, malnütrisyon, anemi, diabetes mellitus, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi eşlik eden hastalıklar anastomozun iyileşmesini bozabilir(49). Bu olumsuz etkilerden bir kısmını düzeltmek mümkün iken bir kısmını düzeltmek imkânsızdır. Bizim çalışmamız aynı cins ve benzer özelliklerdeki ratlar üzerinde yapıldı. Postoperatif dönemde ratlar aynı çevre koşullarında yaşatıldı. Anastomoz kolonun aynı yerinde ve aynı sayıda düğümlerle yapılarak homojen şartlar sağlandı.

Anastomoz kaçaklarının önemli komplikasyonları lokal rekürrens, peritonit, intraabdominal apse ve fistüllerdir. Sonuçta da hastane kalış süresi ve maliyet artışı olmaktadır(50,51). Geçirilmiş abdominal cerrahisi olan hastalarda intestinal yaralanma ihtimali artmakta, bu yaralanmalar geç fark edildiğinde de anastomoz kaçağı ile benzer klinik tablolar görülmektedir. Gecikmiş bu tür vakalarda primer onarımın başarısı

düşüktür ve sıklıkla ostomi gerekmektedir. Primer onarım yapılan olgularda kaçak riski artmaktadır(49-51). Yapılan bir kolon yaralanmaları çalışmasında erken saatlerde uygulanan primer onarımın başarısı vurgulanmıştır. Nitekim kolon yaralanmalarında tedavi stratejisi anastomoz kaçağıyla benzerdir. Prospektif ve retrospektif olmak üzere iki grup ve toplam 41 hastadan oluşan çalışmada hastalar kolon travması sonrası saatler içerisinde ameliyata alınarak primer onarım yapılmıştır. 2 hastada postoperatif anastomoz kaçağı görülürken, 2 hasta ameliyat esnasında, 3 hastada postop dönemde kaybedilmiştir(52). Erken dönem fark edilen kaçaklarda sağlanan bu başarı, maalesef geç fark edilen kaçaklarda sağlanamamaktadır. Uzamış peritonitli bazı olgularda barsak segmenlerinin yeniden anastomoz ve hatta ostomiye bile izin vermeyecek derecede yapılarının ve mobilizasyonlarının bozulduğu tespit edilmiş, bu durumda katater enterostomi ile kontrollü kaçak oluşturma umut verici olmuştur (53).

Anastomoz güvenliğini artırmak için çeşitli çalışmalarda mesh, amyonik membran, omentum, fibrin glue, siyaloakrilat (cyanoacrylate) gibi birçok ürün kullanılmıştır. Hoeppner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada anastomozun biyolojik ve sentetik malzemeler ile desteklenmesinin anastomoz kaçağı oluşumunu azalttığı rapor edilmiştir(54). Randomize çok merkezli bir çalışmada kolorektal cerrahi sonrası kaçaklarda yeni bir tedavi stratejisi olarak omentoplasti uygulanmış fakat istenildiği kadar başarılı sonuçlar elde edilememiştir(55). Yapılan benzeri iki çalışmada anastomoz yaparken siyanoakrilat kullanılmış, mekanik ve histopatolojik incelemelerde uygulanan ajanın anastomoz sağlamlığını arttırdığı belirtilmiştir(56,57).

Peki başka nasıl bir strateji bize anastomoz kaçaklarının tedavisinde yüz güldürücü sonuçlar verebilir? Bu ve benzer sorular araştırmacıları yeni arayışlara itmiştir. Farklı kullanım alanları olan ilaçlar, yapılan pek çok çalışmada ortaya çıkarılan pleiotropik etkileri nedeniyle anastomoz üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmıştır. Onur ve arkadaşları, etil pirüvatın antioksidan ve antiinflamatuvar etkisinden yola çıkarak deneysel peritonit modelinde kolon anastomozunda bu ajanı intraperitoneal olarak uygulamışlar, etil pirüvatın kolon anastomozu üzerine olumlu etkisi olduğu sonucuna varmışlardır (58).

Statin grubu ilaçlar da pek çok pleiotropik etkisi nedeniyle farklı alanlarda çalışmalarda denenmiştir. HMA-KoA redüktaz inhibitörü antikolesterol ilaçlar olarak

kullanıma giren statinlerin endotelial fonksiyonu iyileştirdiği, vasküler inflamasyonu azalttığı, anjiogenez sürecinde endotel oluşumunu arttırdığı, endotelial proliferasyonu ve gocu arttırdığı yonunde calışmalar mevcuttur (14-20).

Cary ve arkadaşları, yaptıkları bir deneysel calışmada intraperitoneal lovastatin ve atorvastatin uygulamasının postoperatif intraperitoneal adezyonu azalttığı sonucuna varmışlar, intraperitoneal lovastatin uygulamasının anastomoz uzerine olumsuz bir etki yapmadığını mekanik değerlendirme ile (patlama basıncı olcu mu y ile) belirtmişlerdir(21). Biz calışmamızda kaçak ortamında primer onarım yaptık. Gruplar arasında intraperitoneal adezyon aısından belirgin makroskopik fark gormedik. İntraperitoneal atorvastatin uygulanan grupta patlama basıncı oransal olarak yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılık saptamadık ($p>0,05$).

Erdi ve arkadaşları, ratlarda deneysel cekum-assendan kolon volvulusunda detorsiyon sonrası iskemi-perfuzyon hasarının onlenmesinde intraperitoneal atorvastatin ve N-Asetil Sisteinin etkilerini araştırmışlar, atorvastatin ve N-Asetil Sistein verilen gruplarda organ hasarının diğer gruplara gore daha az olduğu sonucuna varmışlar, biyokimyasal iskemi parametrelerinde yine atorvastatin ve N-Asetil Sistein gruplarında diğer gruplara gore duşukluk saptamışlardır (59). Calışmamızda atorvastatin grubunda inflamatuvar hucre azlığı ve kontrol grubunda primer onarım ile DMSO grubuna gore kollajen miktarı yuakseklıği gozlemledik ($p>0,05$). Kaçak oluşturulmayan grupta kollajen miktarı yuakseklığini, anastomozda kaçak olmadığı iain daha hızlı iyileşme olduğu şeklinde yorumladık. Atorvastatin grubunda inflamatuvar hucre azlığını da bu grupta yara iyileşmesinin primer onarım grubuna gore daha iyi olduğu, inflamasyon fazından proliferasyon fazına geaişin hızlandığı şeklinde yorumladık.

Çakmak ve arkadaşları, yaptıkları bir deneysel calışmada oral simvastatin uygulamasının ratlarda kolon anastomozu uzerine olumlu etkisi olduğu sonucuna varmışlardır. Postoperatif 3. gunde sakrifiye edilen ve 7. gunde sakrifiye edilen gruplarda simvastatin verilen grupların patlama basınçları istatistiksel olarak anlamlı yuakseklıği bulunmuştur. Biyokimyasal parametre olarak doku hidroksiprolin duzeyi analiz edilmiş olup simvastatin uygulanan gruplarda anlamlı yuakseklıği bulunmuştur. Histopatolojik incelemede mukozal reepitelizasyon, neovaskularizasyon, fibroblast

sayısı, inflamatuvar hücre, fibrozis, iskemik nekroz, anastomoz yara iltihabi hücre infiltrasyonu parametreleri değerlendirilmiş, istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı fark görülmemiştir (14). Biz ise çalışmamızda statin grubunun bir diğer üyesi atorvastatini oral olarak değil, intraperitoneal olarak uyguladık. Anastomoz patlama basınçları açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlemedik ($p>0,05$). Biyokimyasal parametre olarak doku hidroksiprolin ve büyüme faktörlerinden FGF-2 düzeylerini analiz ettik. Hidroksiprolin düzeyini atorvastatin uygulanan grupta diğer tüm gruplara göre, FGF-2 düzeyini ise atorvastatin grubunda sadece primer onarım grubuna göre anlamlı yüksek bulduk. Neticede atorvastatin grubunda yara iyileşmesinin daha iyi olduğunu saptadık. Histopatolojik olarak inflamatuvar hücre, fibroblast sayısı, angiogenez ve kollajen miktarını değerlendirdik. Atorvastatin grubunda primer onarım grubuna göre istatistiksel olarak daha az inflamatuvar hücre skoru saptadık ($p< 0,05$).

Kliniğimizde edindiğimiz deneyimlerimiz ışığında gecikmiş kaçaklarda sütürle yaklaştırmanın faydalı olmadığı fakat erken dönemde sütürle kaçak onarımın yapılabileceğini düşünüyoruz. Yaptığımız çalışma da bunu destekler niteliktedir. Atorvastatin uyguladığımız grupta diğer gruplara göre oransal olarak olumlu sonuçlar görmüş olmamız aklımıza iki soruyu getirmektedir: Çalışma grupları daha fazla sayıda denekle oluşturulsa veya çalışmada atorvastatin uygulama seansı veya dozu arttırılrsa istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçlar elde eder miydik? Bu soruların cevaplarının yapılabilecek yeni çalışmalarla verilebileceğini belirtmek istiyoruz.

Anastomoz yapıldığı esnada uygulanan pek çok yöntem ve teknik mevcuttur. Bu konuyla ilgili sayısız literatür bulunmaktadır. Fakat anastomoz kaçağı yapıldıktan sonra yeniden onarım için uygulanan yöntem ve tekniklerle ilgili çalışma sayısı azdır. Ödemli dokularda ve inflame ortamda yapılan onarımların başarısızlık oranının yüksek olması , bu başarısızlıklar sonucu gelişen morbidite ve mortaliteler cerrahlar için büyük mesele olmaya devam etmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler neticesinde atorvastatin uygulamasının yara iyileşmesi ve anastomoz kaçağı onarımına olumlu katkı sağlayacağını düşünüyoruz. Atorvastatin veya anastomoz güvenliğine katkıda bulunabileceği düşünülen pleiotropik etkileri olan farklı ilaçlarla ilgili ileri çalışmalar yapılarak daha az maliyetle daha yüz güldürücü sonuçlar ortaya çıkabilecektir.

6.SONUÇ:

Anastomoz kaçağı ortamında mevcut inflamasyon ve barsak duvarındaki ödem yeniden onarımı güçleştirmektedir. Biz çalışmamızda deneysel anastomoz kaçağı oluşturulan ratlarda primer onarıma ilave olarak atorvastatin çözeltisi uyguladık. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da atorvastatin uyguladığımız grupta patlama basınçlarının daha yüksek olduğunu gördük. Biyokimyasal olarak doku hidroksiprolin düzeyi ve FGF-2 düzeyinin atorvastatin grubunda istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu, dolayısıyla atorvastatinin anastomoz yara iyileşmesine olumlu katkısı olduğunu saptadık. Histopatolojik olarak anlamlı fark elde edemedik. Bu sonuçlardan yola çıkarak atorvastatin ile yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla anastomoz kaçağı onarımında önemli bir adım atılabileceğini söyleyebiliriz.

7.KAYNAKLAR:

1. Hasanoğlu A, Erkan S, Temel S, ve ark. Sildenafil sitratın kolon anastomozundaki yara iyileşmesi üzerine etkisi. Turkish Medical Journal 2007, 1:66-75
2. Choy PY, Bissett IP, Docherty JG, Parry BR, Merrie AE. Stapled versus hand sewn methods for ileocolic anastomosis. Cochrane Database Syst Rev. 2011 Sep 7;(9):CD004320. doi: 10.1002/14651858.CD004320
3. Romeo G, Basile F. Use of fibrin sealant in manuel and stapled anastomosis. Am J Surg 1986; 6:152-4.
4. Saner H. Kolon ve rektum anastomoz kaçaklarında kollajen metabolizmasının rolü ve kaçakların önlenmesinde kollajenaz enzim inhibisyonunun etkisi. 1976 Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi İstanbul.
5. Hedberg SE, Welch CE. Complications following surgery of colon . Surg Clin North Am 1963; 43: 75-6.
6. Hawley PR, Hunt TK. Etiology of colonic anastomotic leaks. Proc R Soc Med 1970; 63: 28-30 53
7. Nicholson ML, Beard JD, Horrocks M. Intra-operative inflow resistance measurement: a predictor of steal syndromes following femoro-femoral bypass grafting. Br J Surg 1988; 75: 1064-6.
8. Vignali A, Fazio VW, Lavery IC, Milsom JW, et al. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1014 patients. J Am Coll Surg 1997; 185: 105-13.
9. Fielding LP, Stewart-Brown S, Bleosovski L, Kearney G. Anastomotic integrity after operations for large bowel cancer: A multicenter study. Br Med J 1980; 28: 411-4.
10. Bokey EL, Chapuis PH, Fung C, Hughes WJ, et al. Postoperative morbidity and mortality following resection of the colon and rectum for cancer. Dis Colon Rectum 1995; 38: 480-7.
11. McGinn FP, Gartell PC, Clifford PC, Brunton FJ. Staples or sutures for low colorectal anastomosis: A prospective randomized trial. Br J Surg 1985; 72: 603-5.52
12. Rullier E, Laurent C, Garrelon JL, Michel P, et al. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. Br J Surg 1998; 85: 355-8.

13. Deans GT, Krukowski ZH, Irwin ST. Malignant obstruction of the left colon. *Br J Surg* 1994; 81: 1270-6.

- 14.G. Karadeniz Cakmak& O. Irkorucu& B. H. Ucan & A. U. Emre & B. Bahadir& C. Demirtas& O. Tascilar& K. Karakaya & S. Acikgoz& G. Kertis& H. Ankarali& H. Pasaoglu& M. Comert, Simvastatin Improves Wound Strength after Intestinal Anastomosis in the Rat, *J Gastrointest Surg* (2009) 13:1707–1716 DOI 10.1007/s11605-009-0951-2

15. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *NatMed* 2000;6:1399–1402. doi:10.1038/82219.

- 16.Pruefer D, Makowski J, Schnell M, Buerke U, Dahm M, Oelert H, Sibelius U, Grandel U, Grimminger F, SeegerW, Meyer J, Darius H, Buerke M. Simvastatin inhibits inflammatory properties of Staphylococcus aureus alpha toxin. *Circulation* 2003;15:2104–2110.

17. Merx MW, Liehn EA, Graf J, van de Sandt A, Schaltenbrand M, Schrader J, Hanrath P, Weber C. Statin treatment after onset of sepsis in a murine model improves survival. *Circulation* 2005;112 (1):117–124. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.502195.

- 18.Yang YX, Hennessy S, Propert K, HwangWT, Sarkar M, Lewis JD. Chronic statin therapy and the risk of colorectal cancer. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2008;17(9):869–876. doi:10.1002/pds.1599.

19. Rugale C, Delbosc S, Mimran A, Jover B. Simvastatin reverses target organ damage and oxidative stress in angiotensin II hypertension: comparison with apocynin, tempol, and hydralazine.*J CardiovascPharmacol* 2007;50(3):293–298.

- 20.Laws PE, Spark JJ, Cowled PA, Fitridge RA. The role of statins in vascular disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;27(1):6–16. doi:10.1016/j.ejvs.2003.09.014.

21. Cary B. Aarons, MD, Philip A. Cohen, MD, Adam Gower, MS, Karen L. Reed, PhD, Susan E. Leeman, PhD,† Arthur F. Stucchi, PhD, and James M. Becker, MD, FACS Statins (HMG-CoA Reductase Inhibitors) Decrease Postoperative Adhesions by Increasing Peritoneal Fibrinolytic Activity (*Ann Surg* 2007;245: 176–184)

22. Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet.* 126 (4): 747 53, 1968

23. Graham MF, Dnicker DE, Diegelmann RE, Elson CO. Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. *Gastroenterology* 1987; 92(2):400-405.

24. Martens MF Huyben CM. Hendriks T. Collagen synthesis in fibroblast from human colon: Regulatory aspects differences with skin fibroblasts. 1992; Gut 33(12):16664-70
25. Kılıçoğlu B, Kılıçoğlu S, Eren V. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2005;12(1): 67-76
26. Thomson FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. Surg. Clin North Am 1997;77:549-573
- 27-Ayhan B. Anastomoz kaçaklarında fibrin yapıştırıcı ile adeziv film uygulamalarının karşılaştırılması (deneysel çalışma),Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2011 Konya
- 28-Güngör İG. Deneysel kolon anastomozunda siyanoakrilat kullanımının anastomoz sağlamlığı üzerine etkisi, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2009 İstanbul
29. Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomosis. J Surg Res 1990 May;48(5):504.
30. Brasken P. Healing of experimental colon anastomosis. Eur J Surg 1991 ;Suppl 566:8-51.
31. Adas G, Percem A, Adas M, Kemik O, Arikan S, Ustek D, Cakiris A, Abaci N, Kemik AS, Kamali G, Karahan S, Akcakaya A, Karatepe O. VEGF-A and FGF gene therapy accelerate healing of ischemic colonic anastomoses (experimental study). Int J Surg. 2011;9(6):467-71. doi: 10.1016/j.ijssu.2011.05.002.
32. A. Campos, K.A. Groth, B.A. Branco. Assessment and nutritional aspects of wound healing. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 11 (2008), pp. 281–288
33. Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM, Acute and Impaired Wound Healing: Pathophysiology and Current Methods for Drug Delivery, Part 2: Role of Growth Factors in Normal and Pathological Wound Healing: Therapeutic Potential and Methods of Delivery, Adv Skin Wound Care. 2012 August ; 25(8): 349–370. doi:10.1097/01.ASW.0000418541.31366.a3.
- 34.Hakkı SS, Nohutcu RM, Basic-Fibroblast Growth Factor (b-FGF) ve Dexamethasone (Dex)'un Pre-osteoblastların (MC3T3-E1) Proliferasyonu, Total Protein Miktarı ve Hücre Morfolojisi Üzerine Etkisi, Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi Cilt: 29, Sayı: 4, Sayfa: 42-50, 2005
- 35.Bikfalvi, A., Klein, S., Pintucci, G., Rifkin, D.B. Biological roles of fibroblast growth factor-2, Endocrine Rev., 18, 26-45 (1997).
36. Claus, P., Werner, S., Timmer, M., Grothe, C. Expression of the fibroblast growth factor-2 isoforms and the FGF receptor 1-4 transcripts in the rat model system of Parkinson's disease, Neurosci. Lett. 360(3),117-20 (2004).

37. Merrill T. Cerrahi komplikasyonlar. Townsend M, Beauchamp D, editörler. Sabiston Textbook of Surgery. 17th Edition, 2010; sf. 323-324
38. Kahya AS. Kolon obstrüksiyonu nedeniyle uygulanan rezeksiyon sonrası düşük molekül ağırlıklı heparin, papaverin ve pentoksifilin anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2001 İstanbul.
39. Yarımkaya A. İskemik kolon modelinde anastomoz iyileşmesine büyüme hormonu ve anabolik steroidlerin etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2000 İstanbul.
40. Giray S. Preoperatif radyoterapi uygulanmış sıçanlarda kolon anastomozuna hiperbarik oksijen ve pentoksifilin etkileri. Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2000 İstanbul.
41. Cakmak A, Yemişçi D, Koksoy C, Yazgan U et al. Statin Pre-Treatment Protects Brain Against Focal Cerebral Ischemia in Diabetic Mice. Journal of Surgical Research 2007; 138: 254-258.
42. Emet T, Bilsel Y, Tilki M, ve ark. Mikrobiyal DNA tayini ile kolorektal anastomoz kaçaklarının erken tanısı. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2005, 11 (3): 195-200
43. Phillips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW, Zeng H, Dindar H. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. Am J Surg 1992; 163(1): 71-7.
44. Bundy BD, Kauczor HU, Grenacher L. Diagnosis and definition of anastomotic leakage from the radiologist's perspective. Chirurg 2010 Oct 23; 82(1): 56-67.
45. Cipe G, Malya FU, Hasbahceci M, Atukeren P, Buyukpinarbasili N, Karatepe O, Muslumanoglu M. A novel sutureless colonic anastomosis with self-gripping mesh: an experimental model. Int J ClinExpMed. 2014 May 15;7(5):1255-61
46. Park JS, Choi GS, Kim SH, Kim HR, Kim NK, Lee KY, Kang SB, Kim JY, Lee KY, Kim BC, Bae BN, Son GM, Lee SI, Kang H. Multicenter analysis of risk factors for anastomotic leakage after laparoscopic rectal cancer excision: the Korean laparoscopic colorectal surgery study group. Ann Surg. 2013;257(4):665.
47. Mirnezami A, Mirnezami R, Chandrakumaran K, Sasapu K, Sagar P, Finan P. Increased local recurrence and reduced survival from colorectal cancer following anastomotic leak: systematic review and meta-analysis. Ann Surg. 2011;253(5):890.
48. Komen N, Klitsie P, Dijk W, Slieker J, et al. Calcium score: A new risk factor for colorectal anastomotic leakage. Am J of Surgery 2010 Sep 25, Epub ahead of print.

49. Sit M, Ilgun AS, Catal O, Koksoy FN, Aktas G, Cihan A. The Effects of Early Enteral Nutrition Products on the Healing of Colo-Colonic Anastomosis. *AdvClinExpMed*. 2015 May-Jun;24(3):463-7
50. Walker KG, Bell SW, Rickard MJ, Mehanna D, Dent OF, Chapuis PH, Bokey EL. Anastomotic leakage is predictive of diminished survival after potentially curative resection for colorectal cancer. *Ann Surg*. 2004;240(2):255.
51. Oncel M, Remzi FH. Perioperative complications in colorectal surgery. *Clin Colon & Rectal Surg* 2003;16:143-152
52. Lazovic RG, Barisic GI, Krivokapic ZV. Primary repair of colon injuries: Clinical study of nonselective approach. *BMC Gastroenterol*. 2010 Dec 2;10(1):141.
53. Kaiser A, Mensah J, Beart R. Kolon tümörleri. Zinner M, Ashley S, editörler. *Maingot Abdominal Operasyonlar* 11th edition. 2007; sf: 625-659.
54. Hoepfner J, Willa K, Timme S, Tittelbach-Helmrich D, et al. Reinforcement of colonic anastomoses with a collagenous double-layer matrix extracted from porcine dermis. *Euro. Surg. Res*. 2010 Aug 28; 45(2):68-76.
55. William H. Anastomotic leak in Colorectal Surgery: A Single Surgeon's Experience. *ANZ J. Surg*. 2001; 71, 516–4.
56. Ki-Beom B, Sun-Hee K, Soo-Jin J, Cyanoacrylate for colonic anastomosis; is it safe? *Int J Colorectal Dis*. 2010; 25: 601–606.
57. Ozmen MM, Ozalp N, Zulfikaroglu B, Abbasoglu L, ve ark. Histoacryl blue versus sutured left colonic anastomosis: Experimental study. *ANZ J Surg*. 2004;74:1107–1110
58. Akalın NB. Sıçanlarda oluşturulan deneysel peritonit modelinde etil pirüvatın barsak anastomzu üzerine etkisi, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2009 İstanbul
59. Erdi İ. Ratlarda deneysel çekum-assendan kolon volvulusunda detorsiyondan sonra iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde atorvastatin ve N-asetil sisteinin etkileri, Genel Cerrahi Uzmanlık Tezi 2015 Düzce



