

ERİTROPOETİNİN KEMOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA KOLON ANASTOMOZLARININ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Tevfik KÜÇÜKKARTALLAR, Ahmet TEKİN, Metin BELVİRANLI, Faruk AKSOY, Celalettin VATANSEV

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, KONYA

ÖZET

Amaç: Eritropoetin barsak anastomozu yapılan ve kemoterapi uygulanan ratlarda anastomoz iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntem:** Çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (SÜDAM)'inde gerçekleştirildi. Ratlar 10'ar denekten oluşan 4 gruba ayrıldı. Bütün gruptaki denekler cerrahi işlem öncesi tartıldı ve orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. I. grup deneklere sigmoid kolon anastomozu yapıldıktan sonra standart besleme dışında bir işlem yapılmadı. II. gruba kolon anastomozu sonrası subkutan eritropoetin (EPO) enjeksiyonu yapıldı. III. gruba kolon anastomozu yapıldıktan sonra intraperitoneal 5-fluorourasil (5-FU) injekte edildi. IV. gruba kolon anastomozu sonrası intraperitoneal 5-fluorourasil ve subkutan eritropoetin enjeksiyonu yapıldı. Anastomozdan sonraki 7. günde ratlar tartıldı ve sakrifiye edildi. Gruplar arasındaki anastomoz patlama basıncı, anastomoz hattından alınan numunelerde hidroksprolin seviyesi ve histopatolojik olarak kollajen ve fibroblasttan zengin bağ dokusu oluşumu, anjiyojenezdeki artış, inflamasyondaki yoğunluk ve nekroz varlığı değerlendirildi. **Bulgular:** Eritropoetin uygulanan ratlarda diğer gruplara göre patlama basınçları, hidroksprolin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Histopatolojik incelemede eritropoetin grubunda anjiyojenez ve kollajenden zengin bağ dokusu oluşumunda artış, inflamasyon ve nekroz oluşumunda anlamlı şekilde azalma görüldü. Eritropoetin bu olumlu etkileri 5-fluorourasil uygulanan ratlarda da tespit edildi. **Sonuç:** Kolokolik anastomoz yapılan ratlarda eritropoetin inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma üzerine olan etkisiyle anjiyojenez olumlu etkiler yaptığı düşünülmüştür. Aynı olumlu etkiler 5-fluorourasil kullanılan ratlarda da gözlenmiştir. Bu nedenle eritropoetin kolokolik anastomozlardan sonra ve özellikle kemoterapi gibi anastomoz iyileşmesini olumsuz etkileyen durumlarda anastomoz kaçığı riskini azaltacağı beklenebilir.

Anahtar Kelimeler: Eritropoetin, 5- fluorourasil, kolon anastomozu.

Selçuk Tıp Derg 2007; 23: 131-138

SUMMARY

Influence of erythropoietin on healing of colonic anastomoses in rats treated with chemotherapy

Aim: We aimed to search the effects of erythropoietin on anastomoses recovery in the rats to which

Haberleşme Adresi : **Dr. Tevfik KÜÇÜKKARTALLAR**

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, 42080 Meram/KONYA

e-posta: **tevfikkk@hotmail.com**

Geliş Tarihi: **19.07.2006**

Yayına Kabul Tarihi: **24.01.2007**

chemotherapy was applied and intestine anastomosis was made. **Material and Method:** The study was carried out at Selçuk University Experimental Research Center (SUDAM). The rats were divided into 4 groups including 10 subjects. The subjects in all groups were weighed before the surgical operation and laparotomy was made with middle line cutting. Nothing but standard feeding was made to the subjects in the 1st group after making sigmoid colon anastomosis. Subcutaneous erythropoietin injection was administered to the 2nd group after colon anastomosis. The 3rd group was injected intraperitoneal 5- fluorouracil after colon anastomosis was made. The 4th group was made intraperitoneal 5- fluorouracil after colon anastomosis, and subcutaneous erythropoietin injection was administered. On the 7th day following the anastomosis, the rats were weighed and they were sacrificed. Anastomosis bursting pressure among the groups, hydroxyproline level in the samples taken from anastomosis line and collagen and rich bind tissue formation from the fibroblast histopathologically, the rise angiogenesis, intensity in inflammation and the existence of necrosis were evaluated. **Results:** In the rats to which erythropoietin was applied, the bursting pressures and hydroxyproline levels were significantly higher than those of the control group statistically. During the histopathological examination, it was seen that rich bind tissue formation from angiogenesis and collagen in the erythropoietin group rose while there was a significant reduction in the formation of inflammation and necrosis. These positive effects of erythropoietin was also established in the rats to which 5- fluorouracil was applied. **Conclusion:** In the rats to which colo-colic anastomosis was made, it was considered that erythropoietin inflammation had positive effects on angiogenesis with its influences on proliferation and restructuring. The same positive effects were observed in the rats which used 5-fluorouracil. Thus, it can be expected that erythropoietin can reduce the risk of anastomosis escape after colo-colic anastomosis and in conditions such as chemotherapy, which negatively affects the recovery of anastomosis.

Key Words: Erythropoietin, 5- fluorouracil, colon anastomosis.

Kolon cerrahisi halen genel cerrahların çalışmalarının büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Ancak yüksek bakteriyel içeriği ve kanlanma özellikleri nedeniyle kolon anastomozlarında ayrılma riski gastrointestinal sistemin diğer lokalizasyonlarına oranla daha yüksektir (1, 2). Kemoterapi alan hastalarda bu oran daha da yükselmektedir. Kolon anastomozlarını takiben hastaların yaklaşık % 4.5-50'sinde klinik olarak belirgin kaçak ve ayrılma oluşmaktadır (1, 3). Kolonda anastomoz kaçağı meydana geldiğinde postoperatif hastanede kalış süresi iki, mortalite oranı ise üç kat artmaktadır (1).

Kolon anastomozlarında kaçak ve ayrılmayı önlemek için sağlıklı barsak olması, anastomoz hattında gerginlik olmaması, kan akımının yeterli olması ve sütürlerin sıvı giriş-çıkışını önleyecek şekilde olması gibi teknik ayrıntılara dikkat edilmelidir. Bu teknik ayrıntılar dışında anastomoz iyileşmesini etkileyen birçok faktör vardır. Anastomozda iyileşme hemostaz ile başlar ve inflamatuvar cevap oluşur.

İnflamatuvar cevap, kollajen yapımını artıran mediyatörlerin salınımı ve mukozal reepitelizasyon şeklinde devam eder (4).

Anastomoz iyileşmesinin en iyi göstergelerinden birisi de anjiyojenezdeki artışın belirgin derecede olmasıdır. Kanlanmanın iyi olduğu bölgelerde yara iyileşmesi ve dolayısıyla anastomoz iyileşmesi istenilen düzeyde olacaktır (2, 3).

Dolaşımdaki eritropoetin (EPO), eritrositlerin üretimini düzenleyerek doku oksijenizasyonunun kontrolünde rol almakta ve kemik iliğinde eritrosit öncülü hücrelerin çoğalmasını ve eritroblastlara farklılaşmasını uyarmaktadır. EPO anjiyojenezi artırır ve ihtiva ettiği büyüme faktörleri ve sitokinlerle yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunur (5, 6). EPO'nin bu özelliklerinin kolokolik anastomoz iyileşmesine etkilerini araştırmak amacıyla bu çalışma planlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştır-

ma Merkezi (SÜDAM) Etik Kurulu tarafından onaylanmış (2005/06) olup aynı merkezde gerçekleştirilmiştir.

Selçuk Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilen ortalama 200-250 gr ağırlığında, 6-8 haftalık, sağlıklı Wistar tipi 40 adet erkek rat üzerinde çalışıldı. Ratlar + 25 °C'de ve 12 saat gündüz, 12 saat gece periyotlarıyla standart rat yemi ve normal içme suları ile 15 gün beslendi ve tüm ratlar cerrahi girişimden önce 12 saat aç bırakıldı.

CERRAHİ GİRİŞİMLER

Ratlar tartılarak işleme başlandı ve intramüsküler 10 mg/kg ketamin hidroklorid ile anestezi uygulandı. Karın tüyleri traşlandıktan sonra supine pozisyonunda ameliyat masasına tespit edildi. Cilt % 10'luk povidon-iodin solüsyonu ile temizlenerek tamamen steril koşullar altında ve orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. Sigmoid kolon ansı kanlanması bozulmaksızın kolon eksenine dik olacak şekilde tam kat kesildi. Daha sonra 6/0 prolene ile, tek tabaka ve tek tek sütürlerle, uç-uca kolokolik anastomoz yapıldı. Tüm anastomozlar tek cerrah tarafından yapıldı ve her anastomozda 8 sütür kondu. Fasya ve cilt 2/0 demamlı prolene sütür materyali ile kapatıldı.

Ratlar bu işlemten sonra, her grupta 10 rat olmak üzere, 4 gruba ayrıldı. I. Grup kontrol grubu olarak belirlendi ve deneklere kolon anastomozu yapıldıktan sonra standart besleme dışında bir işlem yapılmadı. II. Gruba kolon anastomozu sonrası, 500 IU/kg subkutan eritropoetin injeksiyonu yapıldı (7). III. Gruba kolon anastomozu yapıldıktan sonra 5 gün boyunca 20 mg/kg intraperitoneal 5-fluorourasil injekte edildi. IV. Gruba kolon anastomozu sonrası 5 gün boyunca 20 mg/kg int-

raperitoneal 5-fluorourasil ve 500 IU/kg subkutan eritropoetin injeksiyonu yapıldı.

Ratlar işlem öncesi ve postoperatif 7. günde grama duyarlı hassas terazi ile tartıldı ve ağırlıkları gram cinsinden kaydedildi.

Postoperatif dönemde 12. saatten sonra standart yiyecek ve suları verildi. Anastomozdan sonraki 7. günde tartıldı ve aynı doz ketamin hidroklorid anestezisi ile relaparotomi yapıldı.

Karın ve anastomoz eksplore edildi. Yapışıklıklara müdahale edilmeden anastomoz bölgelerini içeren barsak segmenti proksimal ve distal uçtan 4 cm mesafeden rezeke edildi. Bu barsak lümeni içerisine kateter yerleştirildikten sonra her iki uç 3/0 ipek sütür ile bağlanarak oblitere edildi ve barsak lümenine metilen mavisi verildi. Hazırlanan barsak segmenti, içi su dolu bir kaba konularak anastomozda kaçak olup olmadığı tespit edildi. Basınç ölçümü için manuel olarak çalışan bir sfigmomanometre katetere bağlandı. İçi sıvı dolu kaptaki intraluminal basınç hava ile artırıldı. Anastomoz hattından kaçakla beraber hava kabarcığının ve metilen mavisinin görüldüğü andaki değer mmHg cinsinden patlama basıncı olarak kaydedildi. Bütün gruplardaki patlama basınç ölçüm sonuçlarının ortalama değerleri ve standart sapmaları bulundu (Tablo 1).

Anastomoz hattını içeren dokularda biyokimyasal olarak ölçülen hidroksiprolin düzeyi çalışıldı. Daha önce -70 °C derin dondurucuda saklanmış olan kolon parçalarından kollajen miktarının göstergesi olan hidroksiprolin, Jammal IS' nin tarif etmiş olduğu yöntemle ölçüldü (8). Derin dondurucu da saklanan dokular filtre kağıdı ile nemi alındıktan sonra has-

Tablo 1: Gruplardaki ortalama patlama basıncı ve hidroksiprolin seviyeleri

| Grup (n=10) | Patlama basıncı ± SD | Hidroksiprolin ± SD |
|-------------|----------------------|---------------------|
| Kontrol | 195.50±15.54 | 10.96±5.95 |
| EPO | 270.00±29.81 | 18.20±4.95 |
| 5-FU | 186.60±15.77 | 9.79±4.94 |
| 5-FU+EPO | 214.00±16.47 | 11.08±5.08 |

Tablo 2: Gruplardaki patlama basıncı ve hidrokspirolinin ortalama Rank değerleri

| Grup (n=10) | Patlama basıncı | Hidrokspirolin |
|-------------|-----------------|----------------|
| Kontrol | 14.25 | 17.40 |
| EPO | 35.20 | 31.90 |
| 5-FU | 10.00 | 14.60 |
| 5-FU+EPO | 22.55 | 18.10 |

sas terazide tartıldı ve anastomoz hattından 0.2 gram barsak dokusu örneği alındı. Bu doku örneği pyrex tüplere aktarıldı ve üzerlerine 6 N Hidroklorik asit (HCl) ilave edilip 105 °C'de 18 saat boyunca hidrolize edildi. Hidrolizatlardan 25 µL alınan örnekler liyofilize edilip 1.2 ml % 50'lik (v/v) izopropil alkolde çözdürüldü. Bu örnekler Kloramin T solüsyonu eklenip 10 dakika bekletildi. Takiben birer ml Erlich reaktifi eklenip 50 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Oluşan renk 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Aynı şartlar altında 0.4, 0.6, 0.8, 1.2 ve 1.6 µg hidrokspirolin standartları da çalışıldı. Standart eğriden numune konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar µg hidrokspirolin/mg doku olarak verildi (8). Bütün gruplardaki hidrokspirolin ölçüm sonuçlarının ortalama değerleri ve standart sapmaları bulundu (Tablo 1).

Histopatolojik inceleme Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Anastomoz hattından alınan patoloji örnekleri; formolinle fikse edilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 µ'lık kesitler elde edildi. Kesitler Hemotoksilen-Eozin boyası ile boyandı. Histopatolojik incelemede kriter olarak fibroblast ve kollajenden zengin bağ dokusunun varlığı, anjiyojenizdeki artış, inflamasyon yoğunluğu ve nekroz varlığı değerlendirildi.

Anastomoz iyileşmesinin 7. gününe ait parametrik sonuçlar non-parametrik Kruskal-Wallis Testi ve Mann-Whitney Testi ile yapıldı. Tüm karşılaştırmalarda p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma esnasında kontrol grubunda ve erit-

ropoetin + 5-fluorourasil grubunda bir, 5-fluorourasil grubunda iki rat anastomoz kaçacağı nedeniyle öldü. Eritropoetin grubunda bütün ratlar yaşadı. Ölen ratlar çalışma dışında bırakıldı. Takip eden günlerde aynı koşullarda yeni çalışmalar yapıldı ve çalışılan rat sayısı her grupta 10'a çıkarıldı.

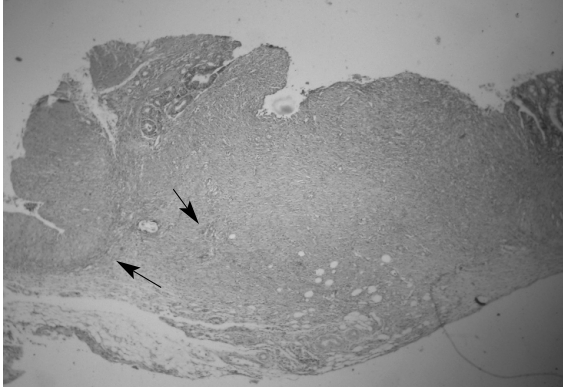
Anastomoz patlama basınçları ortalamaları ve standart sapmaları; grup I'de 195±15.54 mmHg, grup II'de 270.00±29.81 mmHg, grup III'de 186.60±15.77 mmHg ve grup IV'de 214.00± 16.47 mmHg şeklindeydi (Tablo 1).

Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında kontrol grubu ve eritropoetin grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.0001). Yine EPO ile 5-FU grubu arasında (p=0.0001) ve EPO ve 5-FU+EPO grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (0.0001).

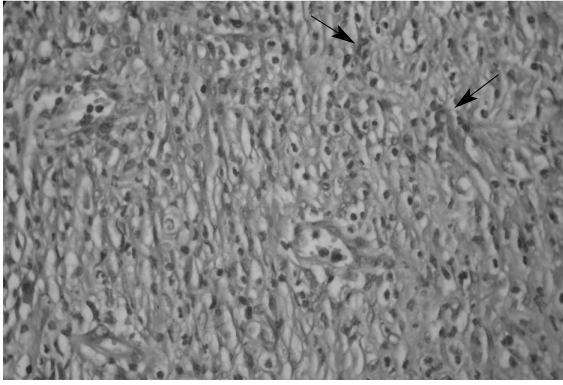
Kontrol grubuyla 5-FU grubunun patlama basınçları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (p=0.212). Fakat kontrol grubuyla 5-FU+EPO grubunun patlama basınçları arasında anlamlı bir farklılık bulundu (p=0.027). Yine 5-FU ile 5-FU+EPO grubu arasında anastomoz patlama basınçları arasındaki fark anlamlıydı (p=0.004).

Hidrokspirolin seviyelerinin ortalamaları ve standart sapmaları; grup I'de 10.96±5.95 µg hidrokspirolin/mg, grup II'de 18.20±4.95 µg hidrokspirolin/mg, grup III'de 9.79±4.94 µg hidrokspirolin/mg ve grup IV'de 11.08± 5.08 mmHg şeklindeydi (Tablo 1).

Eritropoetin uygulanan II. grupta anastomoz hattındaki ortalama hidrokspirolin seviyesi kontrol grubuna göre artmıştı ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.004). Kontrol



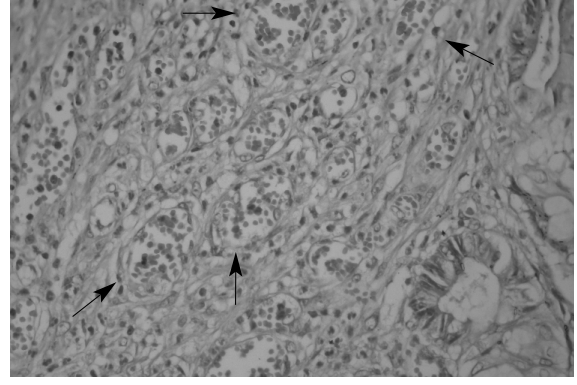
Şekil 1: Kontrol grubunda; yetersiz bağ dokusu ve anjiyojenез varlığı, belirgin nötrofil içeren iltihabi hücre içeren doku ve nekrozsuz anastomoz alanı (H-E x 4)



Şekil 2: Kontrol grubunda; belirgin nötrofil bulunan inflamasyonlu anastomoz hattı (H-E x 40)



Şekil 3: Eritropoetin grubunda; bağ dokusundaki belirgin artış (H-E x 4)



Şekil 4: Eritropoetin grubunda; belirgin anjiyojenез ve eozinofili varlığı (H-E x 40)

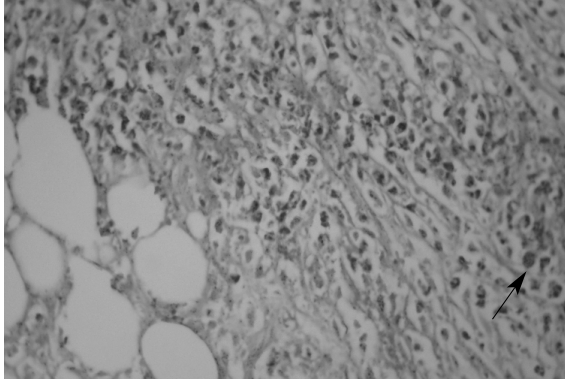
grubuyla; 5-FU grubunun arasında ($p=0.449$), 5-FU+EPO grubunda anlamlılık yoktu ($p=821$). Yine 5-FU ve 5-FU+EPO grupları arasında anlamlılık tespit edilmedi (0.597). Ancak EPO ile 5-FU ($p=0.001$) ve EPO ile 5-FU+EPO arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı görülmekteydi ($p=0.010$).

Histopatolojik incelemede kriter olarak kollajen ve fibroblasttan zengin bağ dokusu oluşumu, anjiyojenезde artış, inflamasyonda yoğunluk ve nekroz varlığı değerlendirildi. Grup I'de fibroblast, bağ dokusu ve anjiyojenез az miktarda mevcuttu (Şekil 1). İnflamasyonun bir göstergesi olan az miktarda nötrofil tespit edildi (Şekil 2). Diğer grupların histopatolojik değerlendirmeleri Grup I baz alınarak yapıldı. Grup II'de iltihabi hücre infiltrasyonu ve nötrofiller yok denecek derecede

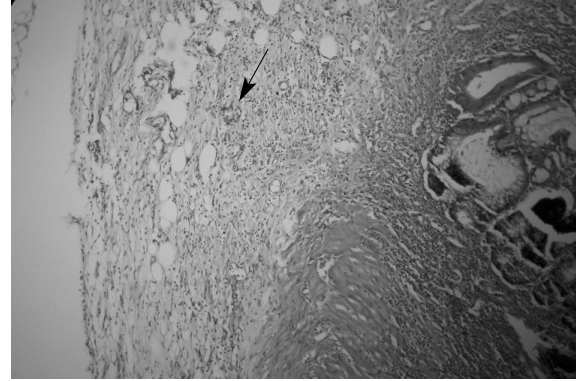
azdı. Fibroblast ve zengin kollajenden oluşan bağ dokusu vardı (Şekil 3). Yoğun kan damarları ve ayrıca belirgin eozinofil artışı tespit edildi (Şekil 4). Grup III'de fibroblast, kan damarları ve kollajen oldukça azalmıştı ve belirgin nekroz vardı. Yoğun nötrofil içeren belirgin inflamasyon izlendi (Şekil 5). Grup IV'de fibroblast, kollajen, anjiyojenез ve iltihabi hücre infiltrasyonunda belirgin olmayan bir artış ve belirgin eozinofili saptandı (Şekil 6).

TARTIŞMA

Kolon anastomozlarında morbidite ve mortalite oranları yüksektir (1). İyi bir kolon anastomozu için sağlıklı barsak, anastomoz hattında gerginlik olmaması, yeterli kan akımının olması ve sıvı giriş çıkışını önleyecek sütürlerin konması gibi teknik ayrıntılara dikkat edilme-lidir.



Şekil 5: 5-fluorourasil grubunda; bağ dokusu ve anjiyojenezdeki yetersizlik ve belirgin nekroz ve inflamasyon varlığı (H-E x 40)



Şekil 6: Eritropoetin + 5-fluorourasil grubunda; bağ dokusu ve anjiyojenezdeki minimal artış ve belirgin eozinofili (H-E x 40)

Anastomoz iyileşmesinin en iyi göstergelerinden birisi de anjiyojenezdeki artışın belirgin derecede olmasıdır. Kanlanmanın iyi olduğu bölgelerde yara iyileşmesi ve dolayısıyla anastomoz iyileşmesi istenilen düzeyde olacaktır (2, 9).

Büyüme faktörleri, sitokinler ve eritropoetinin fibroblast, düz kas hücresi proliferasyonu ve anjiyojenez artırıcı etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir (10-12). İlk kez hematopoetik büyüme faktörü olarak tanımlanan EPO'nin bir dizi hücresel tepkiyi (mitojenler, kemotaksi, anjiyojen, hücre içi kalsiyumun mobilizasyonu, apoptozin durdurulması da dahil) harekete geçirdiği belirtilmiştir (13). EPO'nin anjiyojen aktivitesi hem in vivo hem de in vitro rat aort modelinde gösterilmiştir (14). Biz bu çalışmada EPO'nin anjiyojenez üzerindeki etkisinin kolon anastomoz iyileşmesine etkisini göstermeyi amaçladık.

Eritropoetin barsaklarda submukozal kan akımının regülasyonundaki rolü ile mukozal bütünlüğün korunmasında önemlidir. Eritropoetinin anjiyojenez artırması, ihtiva ettiği büyüme faktörleri ve sitokinlerle kolon anastomoz iyileşmesine olumlu katkıda bulunacağı beklenir. Sitotoksik tedavi almakta olan hastalarda anastomoz komplikasyon oranları daha da yükselmektedir. Özellikle kolostomi kapatılmasının bu döneme rastlaması kolostomi kapatılmasında bir tereddüt oluşturmaktadır. Bu çalışmada 5-FU alan ratlarda EPO'nin

kolon anastomoz iyileşmesi üzerindeki etkisini inceledik.

Anastomoz iyileşmesinin niceliksel derecesini tayin etmek amacıyla histolojik, mekanik ve biyokimyasal parametreler kullanılmakla beraber her birinin değeri sınırlıdır. Mekanik parametreler anastomoz iyileşmesini en güvenilir şekilde yansıtan araçlardır (15). Bu amaçla, patlama basıncı ve gerilme kuvveti sıklıkla uygulanmaktadır.

Çalışmamızda anastomoz iyileşmesini değerlendirmek için mekanik parametrelerden patlama basıncı ölçümünü kullandık. Bu ölçümü de postoperatif 7. günde, yani anastomoz kaçağının en sık olduğu dönem içinde yaptık. EPO verilen tüm gruplarda kontrol grubuna göre ortalama anastomoz patlama basıncı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu EPO'nin anastomoz iyileşmesini iyi yönde etkilediğini göstermektedir.

Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal tayini kollajen içeriği ile sınırlıdır ve sadece kollajende bulunan hidroksiprolin içeriği ile temsil edilir (15). Kollajen konsantrasyonuna dayanan sonuçlar nonkollajenaz substratlardaki değişikliklerden etkilenebileceğinden, kollajen düzeyinin ölçülmesi, anastomoz kollajen içeriğini daha iyi yansıtmaktadır (15, 16). Bu nedenle çalışmamızda anastomoz hattında doku hidroksiprolin seviyesi ölçülmüştür.

Genel olarak düşük hidroksiprolin düzeyi ve

ya yetersiz sentezinin kötü yara iyileşmesi ile sonuçlanacağına inanılır. Fakat iyileşme düzeyinin belirlenmesi için hidroksprolin düzeyinin tek başına bir parametre olarak kullanılması bazen hatalı sonuçlar verebilmektedir (15, 16). İntestinal anastomozun gücünü belirleyen ana eleman, kollajen kütlesinin yanı sıra kollajen fibrillerinin kalitesidir (17). Kollajen fibrillerinin gerilim gücü ve mekanik stabilitesini sağlayan en önemli unsur, intermoleküler çapraz bağların yapılmasıdır. Bu oluşumu bozacak veya geciktirecek durumlarda anastomoz gerilim gücünde ciddi problemlerin meydana geleceği düşünülse de intestinal anastomoz kollajen çapraz bağlarının yapısal özellikleri ile ilgili çok az veri mevcuttur (15, 18). Anastomoz kollajen içeriği ve mekanik parametreler arasında çoğu zaman bir korelasyon olmadığı tespit edilmektedir. Bu durumun muhtemelen, araştırmaların kollajenin kalitesinden çok kollajenin kütlesi üzerinde odaklanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (15, 16). Hidroksprolin düzeyindeki değişiklikler, kollajen degradasyonu ve sentezi arasındaki dengeyi yansıtır. Bu parametre intestinal duvarın diğer içeriklerinin değişimlerinden bağımsızdır.

EPO verilen grup II'de hidroksprolin seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunması EPO'nin anastomoz iyileşmesi üzerine olumlu etkisini gösterir. Bu EPO'nin anjiojenezde sağladığı artışla izah edilebilir. Sadece 5-FU verilen grubun hidroksprolin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Ancak 5-FU+EPO uygulanan grupla kontrol grubu arasında hidroksprolin düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Bu sonuçlar 5-FU'nun hidroksprolin seviyesini azaltarak yara iyileşmesini kötü yönde etkilediğini ve bu gruptaki ratlara EPO injeksiyonu yapılmasıyla hidroksprolin seviyelerini EPO verilmeyen kontrol grubu deneklerin seviyesine getirebildiğini göstermektedir. 5-FU verilen ratlarda EPO dozu ayarlanarak belki daha iyi sonuçlara ulaşılabilir.

Histolojik çalışmalar doku düzeyinde iyileşme sürecinin tanımlanmasında oldukça faydalı bir çalışma olmasına rağmen farklı deneysel

anastomoz serilerinin niceliksel karşılaştırılmasında primer bir araç olarak değerlendirilememiştir (15, 16). Çalışmamızda EPO grubunda histopatolojik olarak kollajen ve fibroblasttan zengin bağ dokusu oluşumu, anjiojenezde artış, inflamasyonda azalma, nekrozun olmaması ve iltihabi hücre infiltrasyonu ve nötrofillerin azaldığı tespit edilmiştir. Bu histopatolojik görünüm EPO'nin kolon anastomoz iyileşmesini iyi yönde etkilediğini göstermektedir. 5-FU verilen grupta fibroblast, anjiojenez ve kollajende azalma, nekroz alanları ve inflamasyonda artış vardı. 5-FU+EPO grubunda bu parametreler kontrol grubu seviyesine gelmişti.

Kolokolik anastomoz yapılan ratlarda eritropoetin olumlu etkiler yapmıştır. Aynı olumlu etkiler 5-fluorourasil kullanılan ratlara eritropoetin uygulandığında da gözlenmiştir.

EPO uygulanan ratlarda kolon duvarının dayanıklılığı artmış ve anastomoz patlama basınçları belirgin şekilde yüksek olarak ölçülmüştür. Yine bu grupta dayanıklılığın bir göstergesi olan hidroksprolin seviyeleri yüksek bulunmuştur. Histopatolojik olarak EPO grubunda inflamasyonun oldukça azaldığı ve nötrofil sayılarının diğer gruplardan çok daha az olduğu gözlenmiştir. Ayrıca EPO grubunda fibroblast ve kollajenden zengin bağ dokusu oluşumu görülmüştür. Bunun yanı sıra EPO uygulanan tüm ratlarda eozinofil artışı dikkat çekmektedir.

Sonuç olarak; deneklerde kolon anastomoz patlama basıncı, hidroksprolin seviyeleri, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma üzerine EPO'nin olumlu etkisiyle anjiojenezin arttığı gözlenmiştir. Eritropoetin kolokolik anastomozlardan sonra ve özellikle kemoterapi gibi anastomoz iyileşmesini olumsuz etkileyen durumlarda anastomoz kaçacağı riskini azaltacağı beklenebilir. EPO'nin bu etkisini insanlarda da gösterecek daha birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Rolandelli RH, Koruda MJ, Settle RG, Rombeau JL. Effects of intraluminal infusion of short-chain fatty acids on the healing of colonic anastomosis in the rat. *Surgery* 1986; 100(2): 198-204.
2. Tekin F, Ersoy E, Kantarcı S. Hemostaz ve Kan Transfüzyonu Ankara; 2000; 86-8.
3. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surgery Clinics of North America* 1997; 3: 549-73.
4. Carrico TJ, Mehrhof AI Jr, Cohen IK. Biology of wound healing. *Surg Clin North America* 1984 64(4): 721-33.
5. Haundenschild CC, Schwartz SM. Endothelial regeneration, II; restitution of endothelial continuity. *Lab Invest* 1979; 41: 407-18.
6. Meurice T, Bauters C, Auffray JL, Vallet B, Hamon M, Vatero F, Belle EV, Lablanuhe JM, Bertrand ME. Basic fibroblast growth factor restores endothelium-dependent responses after balloon injury of rabbit arteries. *Circulation* 1996; 93: 18-22.
7. Fatouros M. S, Vekinis G, Bourantas K. L, Mylonakis E. P, Scopelitou A. S, Malamou-Mitsis V. D, et al. Influence of Growth Factors Erythropoietin and Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor on Mechanical Strength and Healing of Colonic Anastomoses in Rats. *Eur J Surg* 1999; 165: 986-92.
8. Graham MF, Willey A, Adams J, Yager D, Diegelmann RF. Role of ascorbic acid in procollagen expression and secretion by human intestinal smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 1995; 162(2): 225-33.
9. Hirata K, Konishi T, Ueda Y, Kurosaki S, Tomisaki I, Nasu K, Mitsuhashi K, Miyauchi D, Yamaguchi M, Itoh H. Healing in the intestinal anastomosis comparison of the Albert-Lembert and Gambee methods. *J UOEH* 2000; 1; 22(1): 1-6.
10. Schaffer M, Beiter T, Becker HD, Hunt TK. Neuropeptides: mediators of inflammation and tissue repair? *Arch Surg* 1998; 133(10): 1107-16.
11. Brain SD. Sensory neuropeptides: their role in inflammation and wound healing. *Immunopharmacology* 1997; 37(2-3): 133-52.
12. Mitsuhashi M, Payan DG. The mitogenic effects of vasoactive neuropeptides on cultured smooth muscle cell lines. *Life Sci* 1987; 40(9): 853-61.
13. Terence r. Lappin, a a. Peter maxwell, b patrick g. Johnstonc EPO's Alter Ego: Erythropoietin has multiple actions stem cells 2002; 20: 485-92.
14. Carlini RG, Alonzo EJ, Dominguez J et al. Effect of recombinant human erythropoietin on endothelial cell apoptosis. *Kidney Int* 1999; 55: 546-53.
15. Hendriks T, Walter J, Mastboom B. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990; 33(10): 891-901.
16. Bucknall TE. The effect of local infection upon wound healing: an experimental study. *Br J Surg* 1980; 67(12): 851-5.
17. Goligher JC, Graham NG, De Dombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg* 1970; 57(2): 109-18.
18. Engin A. Genel cerrahi tanı ve tedavi ilkeleri, Atlas Kitapçılık, Ankara 2000; s:131-44.