



# İnce Barsak İskemi Reperfüzyonunda Reperfüzyon Süresinin Biyokimyasal Değişiklikler ve Anastomoz İyileşmesine Etkisi

Gülşen Ekingen\*, Canan Ceran\*, Arzu Demirtola\*, Billur Demiroğulları\*, Banu Sancak\*\*,  
Aylar Poyraz\*\*\*, Kaan Sönmez\*, A.Can Basaklar\*, Nuri Kale\*

\*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi AD. Ankara

\*\*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya AD. Ankara

\*\*\*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji AD. Ankara

**Amaç:** Bu çalışmada ince barsak dokusunda iskemi sonrası değişen reperfüzyon süresinin, biyokimyasal değişiklikler ve anastomoz iyileşmesine olan etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Geçici barsak iskemisi oluşturulan 36 adet Wistar-Albino rat altı gruba ayrıldı: Kontrol grubu (sadece laparotomi), grup I (40 dk. iskemiye takiben 20 dk. reperfüzyon), grup II (40 dk. iskemiye takiben 24 sa. reperfüzyon), kontrol-A (ince barsak anastomozu), grup I-A (40 dk. iskemi, 20 dk. reperfüzyon ve ince barsak anastomozu), grup II-A (40 dk. İskemi, 24 sa. Reperfüzyon ve ince barsak anastomozu). Kontrol grubu, grup I ve II de reperfüzyon süresi bitince histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler için ince barsak doku örnekleri alındı. Kontrol grubu, grup I ve grup II de dokuda Myeloperoksidaz ve Süperoksit Dismutaz enzim düzeyleri ölçüldü. Kontrol-A grubu, grup I-A ve II-A da ise ince barsak anastomozu oluşturuldu. Anastomoz iyileşmesi, 4. gün patlama basıncı ve kollojen içeriği ölçülerek değerlendirildi.

**Bulgular:** İnce barsak dokusunda myeloperoksidaz ve süperoksit dismutaz enzim düzeylerinin reperfüzyonun erken evrelerinde artarken 24. saatte azaldığı ( $p<0,05$ ) saptandı. Geç dönemde yapılan anastomozlarda patlama basınçları ve hidroksprolin içeriğinin erken dönemdekine kıyasla daha düşük olduğu saptandı ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** İskemi/Reperfüzyon hasarı geç dönemde ince barsak anastomozlarının güvenilirliğini azaltmaktadır. İnce barsak anastomozları yapılırken bu durumun göz önünde bulundurulması gerekir.

**Anahtar Kelimeler:** İskemi/Reperfüzyon hasarı, Myeloperoksidaz, Süperoksit dismutaz, Anastomoz iyileşmesi.

## The Effect of Reperfusion Duration in Intestinal Ischemia-Reperfusion on Biochemical Parameters and Small Intestinal Anastomosis Healing

**Aim:** The aim of this study was to determine biochemical changes and evaluate anastomotic healing of small bowel in the early and late phase of reperfusion after intestinal ischemia.

**Material and method:** Thirty-six Wistar albino rats were divided into 6 groups. Control group (Laparotomy only), group I (40 minutes intestinal ischemia followed by 20 minutes reperfusion), group II (40 minutes intestinal ischemia followed by 24 hours reperfusion), control-A group (Intestinal anastomosis creation), group I-A (40 minutes intestinal ischemia followed by 20 minutes reperfusion and intestinal anastomosis creation), and group II-A (40 minutes intestinal ischemia followed by 24 hours reperfusion and intestinal anastomosis creation). Small bowel samples were obtained in control group, group I and group II at the end of the reperfusion period for tissue myeloperoxidase and superoxide dismutase levels. After creation of small bowel anastomosis in the fourth day postoperatively, bursting pressure and hydroxyproline content were determined in control-A group, group I-A and group II-A.

**Results:** Tissue myeloperoxidase and superoxide dismutase levels were increased significantly after 20 minutes reperfusion and then decreased to subnormal levels with in 24 hours of reperfusion ( $p<0,05$ ). The bursting pressure and tissue hydroxyproline levels of the anastomosis created in the late reperfusion period (Group II-A) were found to be decreased in comparison with the Group I-A ( $p<0,05$ ).

**Conclusion:** Safety of small bowel anastomoses is reduced with prolonged reperfusion. This has to be kept in mind when constructing a small bowel anastomosis.

**Key Words:** Ischemia/Reperfusion injury, Myeloperoxidase, Superoxide dismutase, Anastomotic healing.

Nekrotizan enterokolit, inflamatuvar barsak hastalıkları, pull-through ameliyatları, serbest pediküllü barsak flebi kullanımı ve barsak transplantasyonu durumlarında iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı oluşabilmektedir. İskeminin dokulara ve yara iyileşmesine olumsuz etkileri iyi bilinmektedir. İnce barsaklarda 20 dakikadan kısa süren bir iskemi mukozada anlamlı bir değişiklik yapmazken iki saatten uzun süren bir iskemi transmural nekroza kadar giden kalıcı hasara neden olabilmektedir.<sup>1</sup> Reperfüzyonun dokular üzerinde, öncesindeki iskemiden daha fazla zararlı olduğunu ve bu zararların reperfüzyon süresi arttıkça arttığını bilmekteyiz.<sup>2</sup> Reperfüze olan barsakta açığa çıkan serbest oksijen radikalleri (SOR) zararlı etkilerden sorumludur. SOR'nin önemli bir kaynağı ksantin oksidaz enzimidir. Post-iskemik durumda polimorfonükleer lökositler (PMN) de içerdikleri myeloperoksidaz (MPO) enzimi ile İ/R hasarında rolü olan SOR'nin oluşumuna neden olurlar.<sup>3</sup> Grisham ve ark., kedi barsağında reperfüzyonun PMN birikimi ile mukozal MPO düzeylerinde 18 kat artışa neden olduğunu göstermişlerdir.

Barsaklarda İskemi/Reperfüzyon (İ/R) hasarının anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır.<sup>4,7</sup> Bu çalışmalarda da genellikle reperfüzyonun erken dönemlerinde oluşturulan anastomozların iyileşmesi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, iskemi sonrası reperfüzyonun erken ve geç döneminde ince barsaktaki biyokimyasal değişikliklerin saptanması ve ince barsak anastomoz iyileşmesi üzerine reperfüzyon süresinin etkisinin olup olmadığını saptamak amaçlandı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ağırlıkları 200 ile 240 gram arası değişen 36 adet Wistar-Albino rat 6 gruba ayrıldı. *Kontrol grubu:* yalnızca laparotomi yapıldı, *grup I:* 40 dk. iskemiye takiben 20 dk. reperfüzyon sağlandı, *grup II:* 40 dk. iskemiye takiben 24 sa. reperfüzyon sağlandı, *kontrol-A grubu:* yalnızca ince barsak anastomozu yapıldı, *grup I-A:* 40 dk. iskemi, 20 dk. reperfüzyon ve ince barsak anastomozu yapıldı, *grup II-A:* 40 dk. iskemi, 24 sa. reperfüzyon ve ince barsak anastomozu yapıldı.

Altı saatlik açlığı takiben ketamin hidroklorür (30mg/kg, Ketalar, Eczacıbaşı) anestezisi altında steril şartlarda, orta hat kesisi ile karna girildi. Superior mezenterik arterin sağ kolik dalı, kontrol grupları hariç diğer tüm gruplarda 40 dakika süre ile oklude edildi. İskemi sonrası grup I de 20 dakika süreyle,

grup II de 24 saat süreyle reperfüzyonu takiben Trietz ligamanının 10 cm distalinden, ileoçekal valvin 10 cm proksimaline kadar tüm ince barsak dokusu çıkartıldı. Alınan dokunun 5 cm'lik bir kısmı %10'luk formoline yerleştirildi. Kalanın 2/3'ü Myeloperoksidaz (MPO), geri kalan 1/3'ü ise Süperoksit dismutaz (SOD) enzim tayini için alüminyum folyolara sarılarak kodlandı ve sıvı nitrojende dondurularak -30 C°de saklandı. Kontrol I grubuna iskemi yapılmaksızın aynı işlemler uygulandı.

Grup I-A'da 20 dakika reperfüzyondan sonra, grup II-A'da ise 24 saat reperfüzyondan sonra ileoçekal valveden 15 cm proksimale 7/0 prolent dikiş ile, tek tek, 8-12 sütür konularak ince barsak anastomozu yapıldı. Kontrol-A grubuna ise İ/R yapılmaksızın anastomoz yapıldı. Postoperatif 5. günde tekrar laparotomi yapıldı. Anastomoz patlama basınçları tesbit edildi. Anastomoz hattı 0.5 cm distal ve proksimalden eksize edilerek horizontal planda ikiye bölündü. Dikişlerin alınmasını takiben dokunun yarısı %10'luk formoline kondu, diğer yarısı ise alüminyum folyolar içine sarılarak kollajen kontenti çalışılmak üzere sıvı nitrojende -30 derecede saklandı.

Denekler intrakardiyak hava uygulaması ile sakrifiye edildi.

**İntestinal İ/R hasarının ve Anastomoz bölgesinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi:** Patoloji örneklerinin parafin bloklarından hazırlanan kesitleri Hemotoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda bir patolog tarafından kör olarak değerlendirildi. İ/R hasarı Haglund'ın tanımladığı şekilde artan hasar Grade 0'dan Grade 8'e sınıflandırıldı.<sup>8</sup>

**Myeloperoksidaz tayini:** Enzim tayini için Grisham tarafından tariflenen yöntem kullanıldı.<sup>9</sup> Buna göre, 300 mg barsak mukozası 5 ml soğuk 0.02 M EDTA ile homojenize edildi. Homojenat 20000 devirde 15 dk, +4 C°de santrifüj edilerek süpernatanı atıldı. Pellet, eş hacim pH'sı 5.4 olan, % 0.5 hegzadesil trimetil amonyum bromid (HTAB) içeren 0.05 M potasyum fosfat tamponunda çözülüp yeniden santrifüj edildi. Süpernatanda 410 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak MPO tayini yapıldı. Sonuçlar gram doku başına ünite olarak değerlendirildi.

**Süperoksit dismutaz tayini:** SOD düzeylerini ölçmek için Yi Sun'un tarif ettiği yöntem kullanıldı.<sup>10</sup> Doku örnekleri potasyum fosfatla pH 7.4'te

homojenize edilerek 10000 devirde 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Ayrılan süpernatanın üzerine 3/5 (v/v) kloroform ve etanol eklenip 10000 devirde santrifüj edilerek SOD ve protein düzeyinin ayarlanması için kullanıldı. SOD aktivitesinin ölçümü nitroblue tetrazolium (NBT) redüksiyonunun inhibisyonu ile belirlendi. Yüzde 50 oranında NBT redüksiyonunu inhibe eden protein miktarı bir ünite SOD olarak tanımlandı. Protein düzeyleri ise Lowry ve ark. tarif ettiği şekilde ölçüldü.<sup>11</sup>

**Anastomoz patlama basıncının tayini:** Anastomoz yapılmasını takip eden 5. günde tekrar laparotomiye alınan ratların ince barsak lümenleri anastomoz hattının 10 cm distal ve proksimalinden 3/0 ipek dikiş ile oblitere edildi. Proksimale 18 G katater yerleştirilerek IVAC 770 infüzyon pompası (IVAC Corporation, ABD) kullanılarak, hızı 2ml/dak olacak şekilde lümen içersine serum fizyolojik verildi. Sütür hattından sızıntının başladığı an cihaz üzerindeki değer, patlama basıncı olarak kaydedildi.

**Anastomoz hattında hidroksiprolin kontentinin tayini:** Dondurulmuş dokular filtre kağıdıyla kurutulup tartıldı ve küçük parçalara ayrıldı. Biyokimyasal çalışma Jamall ve arkadaşlarının tariflediği yöntemle yapılarak nanomol cinsinden hidroksiprolin (HP) düzeyleri elde edildi.<sup>12</sup> Ortaya çıkan absöüt değerler doku ağırlığına oranlandı ve  $\mu\text{mol HP/gram doku}$  (yaş ağırlık) olarak HP kontenti hesaplandı.

Histopatolojik parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması yapılırken  $\chi^2$  testi, diğer parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması yapılırken ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.  $P<0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

## SONUÇLAR

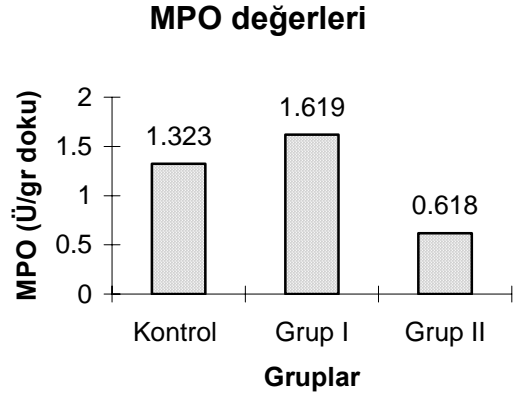
**İntestinal İ/R hasarının ve Anastomoz bölgesinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi:** Ortalama olarak kontrol I grubunda grade 0, grup I'de grade 4, grup II'de grade 0 hasar skoru hesaplandı. Grup II ile kontrol grubu arasında İ/R hasar skorları açısından anlamlı bir fark bulunmazken, grup I'in grup II ve kontrol grubundan anlamlı olarak farklı olduğu bulundu. ( $p<0.05$ )

Anastomoz yapılan gruplarda anastomoz bölgelerinin histopatolojik değerlendirmesi yapıldığında yara iyileşmesine ait non-spesifik bulgular saptandı.

**Myeloperoksidaz düzeyleri:** Ortalama MPO

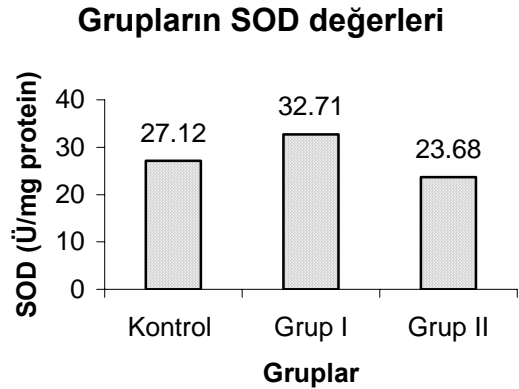
düeyleri kontrol I grubunda 1.323 Ü/gr doku, grup I'de 1.619 Ü/gr doku, grup II'de 0,618 Ü/gr doku olarak bulundu (Şekil 1). Tüm gruplar karşılaştırıldığında MPO değerleri açısından aralarındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p<0.05$ )

**Şekil 1.** Deneklerin ince barsak doku MPO değerlerinin ortalamaları.



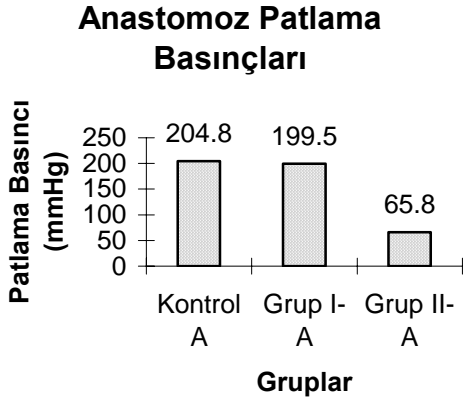
**Süperoksit dismutaz düzeyleri:** Ortalama SOD enzim düzeyleri kontrol I grubu için 27.11 Ü/mg protein, grup I için 32.71 Ü/mg protein, grup II için 23.68 Ü/mg protein olarak bulundu (Şekil 2). Grup I ve grup II'nin, kontrol grubu ile ve kendi aralarındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p<0.05$ )

**Şekil 2.** Deneklerin ince barsak dokusunda SOD değerleri.



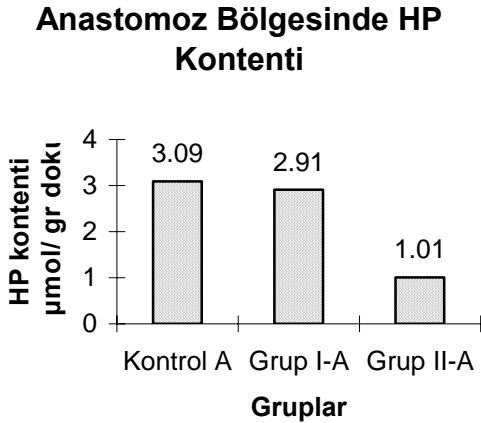
**Anastomoz patlama basınçları:** Ortalama patlama basıncı değerleri kontrol-A grubu için 204.8 mmHg, grup I-A için 199.5 mmHg, grup II-A için 65.8 mmHg bulundu (Şekil 3). Kontrol-A grubu ve grup I-A arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken grup II-A, hem kontrol-A grubu hem de grup I-A ile karşılaştırıldığında aralarındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

Şekil 3. Anastomoz yapılan gruplarda patlama basınçlarının ortalama değerleri



**Anastomoz hattında hidroksiprolin kontenti:** Ortalama hidroksiprolin kontenti kontrol-A grubu için 3.09  $\mu\text{mol}/\text{gr}$  doku, grup I-A için 2.91  $\mu\text{mol}/\text{gr}$  doku, grup II-A için 1.01  $\mu\text{mol}/\text{gr}$  doku olarak bulundu (Şekil 4). Kontrol-A grubu ve grup I-A arası anlamlı bir fark saptanmazken, grup II-A'da hidroksiprolin kontentinin kontrol-A grubu ve grup I-A'ya kıyasla anlamlı olarak azaldığı saptandı ( $p < 0.05$ ).

Şekil 4. Anastomoz bölgelerinden alınan doku örneklerinde hesaplanan HP kontentlerinin ortalama değerleri.



## TARTIŞMA

İ/R hasarı yara iyileşmesini ve anastomoz iyileşmesini olumsuz etkiler.<sup>5-7</sup> Anastomoz bölgesine reperfüzyon süresince PMN birikiminin bu durumla ilgili olduğu öne sürülmüştür.<sup>13</sup> Reoksjenasyon esnasında nötrofillerin ürettiği enzimlerin ve ksantin oksidazın etkisiyle açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) kollajenolize neden olduğu düşünülmektedir.<sup>3</sup> PMN tarafından salınan proteolitik

enzimler de anastomoz bölgesinde kollajenolize neden olabilir.<sup>3,14</sup> Hendriks ve arkadaşları reperfüze edilen barsakta anastomoz yapılmasını takiben artmış PMN miktarının anastomoz sahasında kollajen moleküllerinin yıkımı ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.<sup>15</sup> Ksantin oksidaz tarafından oluşturulan SOR'ler, ve nötrofillerden salınan lizozomal proteolitik enzimler anastomoz bölgesinde kollajenolizisin nedeni olabilir.<sup>16,17</sup>

Bu çalışmada SOR oluşumunun göstergesi olarak SOR nin tetiklemesiyle ortama gelen PMN lökositler tarafından salgılanan MPO düzeyleri ölçülmüştür. Gerek İ/R hasarı neticesinde oluşan SOR ve gerekse MPO'nun katalizlediği reaksiyonlar sonucu açığa çıkan radikaller hücre hasarına yol açarlar. Normal koşullarda oluşan SOR, süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi antioksidan enzimlerle hızla ortamdaki uzaklaştırılır. Dokuların anti-oksidan toleransı olarak adlandırılan bu enzimatik proseslerle dokuların hasardan korunması sağlanır. Bu çalışmada dokuların antioksidan aktivitesinin göstergesi olarak SOD düzeyleri ölçülmüştür.

Daha önce yapmış olduğumuz bir çalışmada İ/R hasarını takip eden farklı zamanlarda yapılan anastomozlarda reperfüzyon süresi uzadıkça anastomoz güvenilirliğinin azaldığını tesbit etmiştik.<sup>18</sup> Bu durumu barsakta villus düzeyinde İ/R hasarı gelişmesine rağmen reperfüzyon süresi uzadıkça hasara karşı submukozada devam eden anti-oksidan değişikliklerin submukozal kollajen yapımını azaltmış olmasına bağlamıştık.

Bu çalışmamızda İ/R hasarının gerçekleştirilen dokularda reperfüzyonun erken ve geç evrelerinde oluşan biyokimyasal değişikliklerin ve barsak duvarında hasara karşı oluşan antioksidan toleransın anastomoz iyileşmesi ile ilişkisini saptamaya çalıştık. Çalışmamızda, İ/R hasarının dokularda yol açtığı histopatolojik değişikliklere bakıldığında, erken reperfüzyon evresinde düşük derecelerde mukozal hasarlanmanın olduğu (Grup I), geç evrede ise mukozanın normale döndüğü gözlenmiştir (Grup II). Barsak dokusunda MPO enziminin reperfüzyonun erken evrelerinde kontrol grubuna oranla yaklaşık 1.2 kat arttığı (Grup I), geç dönemde ise kontrol grubunun altına düştüğü tesbit edilmiştir. Barsak duvarının İ/R hasarına karşı oluşturduğu antioksidan toleransın değerlendirilmesi amacı ile barsak duvarında bakılan SOD enzim düzeylerinin reperfüzyonun erken evresinde (Grup I) kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı ( $p < 0,05$ ) ancak reperfüzyonun 24. saatinde kontrol grubu

## İnce Barsak İskemi Reperfüzyonunda Reperfüzyon Süresinin Biyokimyasal Değişiklikler ve Anastomoz İyileşmesine Etkisi

değerlerinin altına düştüğü görülmüştür. Myeloperoksidaz düzeylerinin kontrol grubuna göre erken reperfüzyonun evresinde (Grup I) düşük tespit edilmesi hasarın erken evrelerde tamamlandığını düşündürmektedir. Ayrıca SOD düzeyinin geç evre reperfüzyonda kontrol grubunun altına düşmesi (Grup II) ve reperfüzyonun geç evrelerinde histopatolojik olarak hasar izlenmemesi (Grup II) hasara karşı oluşan anti-oksidan toleransın da İ/R hasarının erken evrelerinde tamamlandığı düşüncesini desteklemektedir.

Udassin ve arkadaşlarının ayrıca Park ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyumlu olarak bu çalışmada da İ/R hasarının erken evrelerinde mukozal hasarlanmanın fazla olduğu ve zaman içinde bu hasarlanmanın azalarak tama yakın olarak iyileştiği tesbit edilmiştir.<sup>11,19</sup>

Grisham ve arkadaşlarının çalışmasında mukozal MPO aktivitesinin 18 katlık artışına rağmen bu çalışmada bu artış 1.2 kat kadar bulunmuştur ancak enzim aktivitesinin erken evrede artışı (Grup I) dokudaki iskemik hasarın gösterilmesi açısından anlamlıdır.<sup>3,17</sup>

Barsak anastomozlarında iyileşme mekanik, biyokimyasal veya histopatolojik olarak değerlendirilebilir.<sup>20</sup> Mekanik değerlendirme anastomozun patlama veya kopma kuvvetine bakılarak yapılırken biyokimyasal değerlendirme anastomoz bölgesindeki kollajenin yapım hızına, miktarına ve özelliklerine bakılarak yapılır. Kollajen yapımı anastomoz bölgesinde 3. günden sonra lokalize olur ve barsak duvarında gelişen diğer olaylardan etkilenmeyen kollajen içeriği (yaş ağırlığına göre standart doku başına düşen hidroksi prolin miktarı) anastomozun biyokimyasal değerlendirilmesinde güvenilirdir.

Anastomoz ortalama patlama basınçları karşılaştırıldığında grup I-A'da değerler grup II-A'dan yaklaşık 3 kat yüksek bulunmuştur. Anastomoz hattında bakılan kollajen içeriği de grup II-A ile kıyaslandığında grup I-A'da 2.9 kat yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, ilk çalışmamızı da destekleyici olup, reperfüzyonun süresi uzadıkça anastomozdaki ortalama patlama basıncının ve kollajen içeriğinin reperfüzyon süresi ile ters orantılı olarak azaldığını göstermektedir.

Reperfüzyonun erken dönemlerinde histopatolojik olarak mukozada iskemik hasar görülmesine rağmen bu evrede yapılan anastomozların patlama basıncı

değerinin ve kollajen içeriğinin kontrol grubu ile benzer bulunması dikkat çekicidir. Aynı şekilde reperfüzyonun geç dönemlerinde histopatolojik olarak mukoza sağlam olsa da bu evrelerde yapılan anastomozların patlama basınçlarının ve kollajen içeriğini reperfüzyon süresi ile ters orantılı olarak azalmış bulunmuştur. Kollajen içeriğinde, reperfüzyonun geç evrelerinde görülen azalma İ/R hasarının kollajen yıkımı için uyarıcı olduğunu düşündürmektedir.

Barsakta iskemik hasara en duyarlı bölge barsağın mukozasıdır. Anti-oksidan tolerans ise esas olarak submukozada gelişmekte ve barsak epiteli olaya pasif olarak katılmaktadır. Barsaktaki İ/R hasarı villus düzeyinde geliştiği için submukozal kollajen yapımı engellenmemektedir. Ancak reperfüzyon süresi uzadıkça hasara karşı submukozada meydana gelen anti-oksidan değişikliklerden kollajen yapımının etkilendiği sonucuna varılmıştır.

İskemi/Reperfüzyon hasarı reperfüzyonun geç döneminde yapılan ince barsak anastomozlarının güvenilirliğini azaltmaktadır. Bu durum özellikle nekrotizan enterokolit, midgut volvulusu gibi rezeksiyon sınırlarının daha net değerlendirilmesi için ikinci bakı ameliyatları sırasında rezeksiyon anastomoz yapılması gereken hastalarda dikkate alınmalıdır.

## KAYNAKLAR

- 1 Park PO, Haglund U, Bulkley GB, Falt K. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion. *Surgery* 1990;107:574-80.
- 2 Ladipo JK, Seidel SA, Bradshaw LA, Halter S, Wikswo JP Jr, Richards WO. Histopathologic changes during mesenteric ischaemia and reperfusion. *West Afr J Med* 2003;22:59-62.
- 3 Grisham MB, Hernandez CA, Granger N. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol* 1986;251: 567-574
- 4 Tireli GA, Salman T, Ozbey H, Abbasoglu L, Tokar G, Celik A. The effect of pentoxifylline on intestinal anastomotic healing after ischemia. *Pediatr Surg Int* 2003;19:88-90.
- 5 Kologlu M, Yorganci K, Renda N, Sayek I. Effect of local and remote ischemia-reperfusion injury on healing of colonic anastomoses. *Surgery* 2000;128:99-104.
- 6 Kuzu MA, Tanik A, Kale IT, Aslar AK, Koksoy C, Terzi C. Effect of ischemia/reperfusion as a systemic phenomenon on anastomotic healing in the left colon. *World J Surg* 2000;24:990-4.
- 7 Kuzu MA, Koksoy C, Kale IT, Tanik A, Terzi C, Elhan AH. Reperfusion injury delays healing of intestinal anastomosis in a rat. *Am J Surg* 1998;176:348-51.
- 8 Haglund E, Haglund U, Lundgren O, Stenberg B. Mucosal lesions of the small intestine after intestinal vascular obstruction in the rat. *Acta Chir Scand* 1985;151:147-50.
- 9 Grisham MB, Everse J, Janssen HF. Endotoxemia and neutrophil activation in vivo. *Am J Physiol* 1988;254:H1017-22.
- 10 Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 1988;34:497-500.
- 11 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AJ, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951;193:265-66.
- 12 Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues. *Anal Biochem* 1981;112:70-5.
- 13 Shandall AA, Williams GT, Hallett MB, Young HL. Colonic healing: a role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production. *Br J Surg* 1986;73: 225-228.
- 14 Mc Govan SE, Murray JJ. Direct effect of neutrophil oxidants on elastase induced extracellular matrix proteolysis. *Am Rev Respir Dis* 1987;135: 1286-1293.
- 15 Hendriks THLB, Vereecken WLEM, Hesp PHM, Schillings PHM, De Boer HHM. Loss of collagen from experimental intestinal anastomoses: early events. *Exp Mol Pathol* 1985;42:411-418.
- 16 Mc Govan SE, Murray JJ. Direct effect of neutrophil oxidants on elastase induced

## Ekingen ve ark

- extracellular matrix proteolysis. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:1286-1293.
- 17 Grisham MB, Hernandez LA, Granger DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischemia. *Am J Physiol* 1986;251:G567-G574.
  - 18 Demirogullari B, Sonmez K, Turkyilmaz Z, Ekingen G, Dursun A, Bor V, Turkozkan N, Basaklar AC, Kale N. Comparison of consequent small bowel anastomoses after transient ischemia: an experimental study in rats. *J Pediatr Surg* 1998;33:91-3.
  - 19 Udassin R, Vromen A, Haskel Y. The time sequence of injury and recovery following transient reversible intestinal ischemia. *J Surg Res* 1994;56:221-225.
  - 20 Hendriks T, Mastboom WJB. Healing of experimental intestinal anastomoses. *Dis Colon Rectum* 1990; 33:891-901.

### Yazışma Adresi:

Doç.Dr.Billur Demiroğulları  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı  
Beşevler/ANKARA  
Tel : 312 202 6214