

Kan Bilirubin Düzeyinin Fasya İyileşmesi Üzerine Etkileri

THE IMPACT OF HIGH BILIRUBIN LEVELS ON FASCIA HEALING

Dr. Tolga MÜFTÜOĞLU, Dr. Erhan BAKIRCIOĞLU, Dr. Abdullah SAĞLAM

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi AD, İstanbul

ÖZET

Amaç: Bu deneysel çalışmada, artan bilirubin düzeyi ile yara iyileşmesi arasındaki ilişkiyi, hem fasya dokusunda hidroksiprolin düzeyine bakarak hem de kopma direncini ölçerek ortaya koymaya çalıştık.

Durum Değerlendirmesi: Yüksek bilirubin düzeyinin yara iyileşmesini olumsuz etkilediği, daha önce yapılmış klinik ve hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Bilirubin prolil hidroksilaz enziminin aktivitesini azaltarak kolajene prolinin katılımını engelleyerek yara iyileşmesini geciktirir. Doku hidroksiprolin içeriği yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde objektif parametrelere biridir.

Yöntem: Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Komitesi izni alındıktan sonra, 60 adet albino Wistar tipi dişi sıçan randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

I. grup kontrol grubu, II., III. ve IV. gruplar sırası ile 7, 14 ve 21 gün süre ile koledokları bağlanarak tıkanma sarılığı oluşturulan gruplar olarak planlandı. Grupların çalışma süreleri sonunda sakrifiye edilerek kan bilirubin, fasya dokusunda hidroksiprolin düzeyi ve fasya kopma dirençleri belirlendi.

Çıkarımlar: Sonuçlar ANOVA testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Dört grubun, total bilirubin değerleri ($p<0.001$), fasya kopma dirençleri ($p<0.001$) ve fasya hidroksiprolin düzeyleri ($p<0.001$) arasında istatistiksel olarak bir fark olduğu bulundu.

Sonuçlar: Deneysel çalışmanın sonunda, tüm bu verileri değerlendirdiğimizde, artan bilirubin seviyesinin yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilediği sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: bilirubin, fasya iyileşmesi, hidroksiprolin, tıkanma sarılığı

SUMMARY

The aim of this experimental study is to check anastomotic disruption force, after common bile duct ligation and to asses impact of high bilirubin level on fascia healing process.

It has been shown that high bilirubin level has negative effect on fascial healing. Hydroxyproline level in the tissue is known as an indicator of tissue healing. High bilirubin level reduces prollyl hydrolylase enzyme activity and prevents incorporation of proline into collagen.

Sixty Wistar Albino type female rats were randomized into four groups. Group I was control group. Common bile ducts were ligated for 7, 14 and 21 days in group II, III and IV, respectively. Rats were sacrificed at the end of the study and total bilirubin level in blood, hydroxyproline level in fascia and fascial disruption force were determined.

ANOVA test was used for statistical analysis. Total bilirubin level ($p<0.001$), hydroxyproline level in fascia ($p<0.001$) and fascial disruption force ($p<0.001$) were found statistically different in four groups.

We concluded that higher bilirubin levels had negative impact on fascial healing process.

Key words: bilirubin, fascial healing, hydroxyproline, obstructive jaundice

Safra yollarının obstrüksiyonu, hepatobilier sistem hastalıklarında en çok karşılaşılan problemlerden biridir. Tıkanma sarılığının en sık nedenleri; kolesistol taşları, iyatrojenik ve travmatik safra yolları yaralanmaları ile oluşan safra yollarının benign striktürleri ve periampuller tümörlerdir. Tıkanma sarılığının, birçok sistem üzerinde olumsuz etkileri vardır.

Bilirubinün fasya dokusunda yara iyileşmesini olumsuz etkilemesi, daha önce yapılmış klinik ve hayvan deneylerinde gösterilmiştir.^[1-3] Bu etki, bilirubinün prolil hidroksilaz enziminin aktivitesini azaltarak kolajene prolinin katılımını engellemesi şeklindedir. Hidroksiprolin kolajene özel bir aminoasittir. Dokulardaki hidroksiprolin düzeyinin tayini yaranın kolajen miktarını yansıtır.^[4] Prolil hidroksilaz enzimi, hidroksiprolinin büyüyen peptit zincirine girmesi ve bu sayede kolajen üçlü heliks yapısının stabilizasyonunu sağlaması için gerekli olan hidroksilleyici bir enzimdir. Ferröz iyon, α -ketoasit ve askorbik asit yara iyileşmesinde yer alan diğer önemli kofaktörlerdir. Düşük hidroksiprolin seviyesi, baskılanmış kolajen sentezinin göstergesidir.^[5] İyileşmekte olan dokunun gerilim direnci ve dokudaki hidroksiprolin içeriği yara iyileşmesinin değerlendirilmesinde objektif parametrelerdendir. Fasyadaki kopma direnci yaranın ihtiva ettiği kolajen liflerine ve bu lifler arasındaki kovalent bağlanmaya bağlıdır. Bu çalışmamızda, artan bilirubin seviyesi ile fasya kopma direnci arasındaki ilişkiyi, bununla bağlantılı olarak hiperbilirubinemiadaki yara iyileşmesini gözlemledik. Yara iyileşmesinin kalitesini, deneklerin fasya dokusundaki hidroksiprolin düzeyini ölçerek belirledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Tıp ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışmada 190-270 gr ağırlığında 60 adet albino Wistar cinsi dişi sıçan kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce, her sıçan tek tek kafeslere yerleştirildi ve numaralandırıldı. Bütün sıçanlar standart diyet ve su ile beslendiler.

Deney hayvanları, her biri 15'er sıçandan oluşan aşağıdaki gruplara ayrıldı.

Grup I -Kontrol grubu

Grup II -7 gün süreyle tıkanma sarılığı oluşturulan grup.

Grup III -14 gün süreyle tıkanma sarılığı oluşturulan grup.

Grup IV -21 gün süreyle tıkanma sarılığı oluşturulan grup.

CERRAHİ TEKNİK

Bütün gruplardaki sıçanlara standart operatif prosedür uygulandı. Sıçanlar, eter kullanılarak sedatize edildikten sonra, ketamin (10 mg/kg, Ketal, Parke Davis, Morris Plains, NJ, ABD) subkütan yoldan uygulanarak genel anestezi uygulandı. Sıçanın karın ön duvarı traşlandıktan sonra povidon iyot ile temizlik ve steril örtümü takiben ksifoidden başlayan 2 cm'lik orta hat insizyonu ile batına girildi. Gerekli işlemler yapıldıktan sonra, karın ön duvarındaki kas tabakası ve cilt devamlı dikiş tekniği kullanılarak 4/0 polipropilen ile kapatıldı.

I. Grup (kontrol grubu): Sıçanlarda batın duvarı tam kat açıldıktan sonra karın ön duvarındaki kas tabakası ve cilt 4/0 polipropilen ile devamlı dikiş tekniği kullanılarak kapatıldı. Postoperatif 7. günde sıçanlardan bilirubin düzeyi için intrakardiyak kan alındı ve sıçanlar hemoraji ile sakrifiye edildi ve batın duvarı çıkarıldı.

Diğer fasya şeridi ortasında batın insizyon hattı olacak şekilde 1 cm eninde ve 1 cm uzunluğunda hazırlandı ve hidroksiprolin ölçümü için -45°C'de dondurularak saklandı.

II. Grup: Cerrahi teknikte tarif edildiği gibi batın açıldı. Ana hepatik kanal bulundu, 4/0 ipek ile bağlandı ve karın ön duvarındaki kas tabakası ve cilt 4/0 polipropilen ile devamlı dikiş tekniği kullanılarak tek kat üzerinden kapatılarak operasyon sonlandırıldı. Postoperatif 7. gün birinci laparotomi insizyonunun hemen altından başlayan 2 cm'lik insizyonla batın tekrar açıldı. Vena kavadan bilirubin düzeyi için 2 cc kan örneği alınarak sakrifiye edildi.

III. Grup: Yukarıda tarif edildiği gibi batın açıldı. Ana hepatik kanal bulundu, 4/0 ipek ile bağlanarak operasyon sonlandırıldı. Postoperatif 14. gün batın tekrar açıldı. Grup II'de tarif edilen prosedürler aynen bu gruba uygulandı.

IV. Grup: Yukarıda tarif edildiği gibi batın açıldı. Ana hepatik kanal bulundu, 4/0 ipek ile bağlanarak operasyon sonlandırıldı. Postoperatif 21. gün batın tekrar açıldı. Grup II'de tarif edilen prosedürler aynen bu gruba uygulandı.

Fasya Dokusunda Kopma Direnci Ölçümü:

Batın duvarı çıkarıldıktan sonra karın cildi fasyadan diseksiyonla ayrıldı. Fasya insizyonuna dik açı ile iki adet 1 cm eninde 2 cm uzunluğunda fasya şeridi, her şeridin ortasında batın insizyon hattı bulunacak şekilde kesilerek çıkarıldı. Bu şeritlerden muntazam olanında Crawford ve arkadaşlarının tanımladığı yöntemle fasyanın fiziksel sağlamlığına bakıldı [6]. Bu yöntemle fasyanın ağırlığa karşı kopma direnci ölçüldü. Ortasında insizyon hattı olan fasya şeridi üst ucundan sabit bir noktaya tespit edildi ve şeridin alt ucu ise bir balona bağlandı. Bu balon içine şerit insizyon hattından kopuncaya kadar saniyede 5 cc su akıtıldı ve fasya şeridini koparan ağırlık tespit edildi. Diğer fasya şeridi ortasında batın insizyon hattı olacak şekilde 1 cm eninde ve 1 cm uzunluğunda hazırlandı.

Dokudaki Hidroksiprolin Tayini:

Yukarda tarif edildiği gibi hazırlanan fasya şeridi, hidroksiprolin miktarının tespiti için -45°C'de dondurularak saklandı.[4,6] Dokudaki hidroksiprolin ölçüm yöntemi, iminoasitin pirol 2-karboksilik aside oksidasyonuna dayanır. Pirol toluen ile ekstrakte edilir, bu madde p-dimetilaminobenzaldehyd (Ehrlich's maddesi) ile renkli kromojen madde haline getirilebilir.[7]

İstatistiksel Analiz:

Bu çalışmada total bilirubin, fasya kopma direnci, fasya dokusundaki batın insizyon hattından elde edilen hidroksiprolin değerlerinin istatistiksel karşılaştırılmaları Kruskal-Wallis yöntemi kullanılarak yapılmış ve 0.05'den küçük olasılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bu deneysel çalışmada oluşturulan dört grupta, çalışma bitiminde sıçanlardan total bilirubin düzeyini belirlemek için vena kavadan 2'şer cc kan örneği alındı. Sıçanlarda tıkanma sarılığının oluşması; koledok bağlandıktan sonra oluşan proksimal koledokun genişlemesi, total bilirubin değerlerinin yükselmesi ve klinik olarak gözlenen sarılıkla teyit edildi. Bütün gruplarda fasya kopma direnci, fasya dokusunda hidroksiprolin düzeyi ölçüldü. Her grupta ratların total bilirubin düzeyleri, fasya kopma direnci ve fasya dokusunda hidroksiprolin değerleri, Tablo 1, 2, 3'te gösterilmiştir. Total bilirubin düzeyleri, kontrol grubunda ortalama 0.06±0.006 mg/dl, II. grupta 3.81±0.15 mg/dl, III. grupta 6.52±0.23mg/dl, IV. grupta 11.25±0.29 mg/dl olarak saptandı. Gruplar arasında total bilirubin değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0.0001). Fasya kopma direnci değerleri; kontrol grubunda 558±174 gr/1 cm, II. grupta 544±135 gr/1 cm, III. grupta 436±66 gr/1 cm ve IV. grupta 406±58 gr/1 cm olarak bulundu. Grupların fasya kopma direnci değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0.001). Deneklerin insizyon hattı fasya dokusundaki hidroksiprolin değerleri; I. grupta 10.3±3.8, II. grupta 6.35±1.7, III. grupta 5.95±2.2 ve IV. grupta 4.2±1.63 ng/gr doku olarak bulundu. Grupların fasya dokusu insizyon hattındaki hidroksiprolin değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0.001).

Koledokları bağlanan 3 sıçan kafeslerinde ölüm bulunmuş ve ölüm sebebi anlaşılammıştır. Yara yeri enfeksiyonu olan 4 sıçan da çalışma harici bı-

Tablo 1. Grupların total bilirubin, insizyon hattı fasya dokusu hidroksiprolin ve fasya kopma direnci değerleri

| | Total bilirubin | Fasya dokusunda HP* (µg/g doku) | Fasya kopma direnci (g/1 cm) |
|----------|-----------------|---------------------------------|------------------------------|
| Grup I | 0.06±0.006 | 10.30±3.8 | 558±174 |
| Grup II | 3.81±0.15 | 6.35±1.7 | 544±1.35 |
| Grup III | 6.52±0.23 | 5.95±2.2 | 436±66 |
| Grup IV | 11.25±0.2 | 4.27±1.6 | 406±58 |

* Hidroksiprolin

rakılmıştır. Toplam 7 sıçanın yerine yeni sıçanlar alınarak çalışmaya devam edilmiştir.

TARTIŞMA

Tıkanma sarılığı olan hastalarda ameliyat öncesi bilirubin değerlerinin morbidite ve mortalite üzerine önemli etkileri vardır. Tıkanma sarılığı, karaciğerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açarken, sistemik birçok etkileri de mevcuttur.^[8,9] Protein, fibrinojen, protrombin, haptoglobülin, transferrin, seruloplazmin ve pıhtılaşma faktörlerinden 2, 7, 9, 10'un sentezleri bozuktur.^[10,11] Hiperbilirubineminin sistemik etkileri arasında; sepsis, renal yetmezlik, pulmoner disfonksiyon, koagülasyon bozuklukları, yara iyileşmesinde gecikme, eviserasyon ve herniyasyon yer alır.^[12] Sarılıklı hastaların dokularında prolil hidroksilaz enziminin aktivitesi azalır. Prolil hidroksilaz enzimi kolajene prolinin katılımı için gereklidir. Bu nedenle kolajen yapımı azalır.^[7,8] Nedbe oluşumu, bazı istisnai durumlar dışında yara iyileşmesinin kaçınılmaz sonucudur. Nedbe oluşumunda fibroblastlar ana elemanlardır ve yumuşak doku zedelenmesinin iyileşmesinde temel ürün olan kolajeni oluşturarak yara direncinin artmasını sağlarlar.

Tıkanma sarılığı nedeni ile ameliyat olan hastalarda gecikmiş yara iyileşmesi, yüksek oranda yara ayrışması ve insizyonel herni gelişimi görülür.^[8] Tıkanma sarılığı olan hastalarda özellikle bu malign hastalıkla beraber olduğunda yara iyileşmesinin bozulduğu uzun süredir bilinmektedir. Bazı klinik çalışmalarda sarılıklı hastalarda yara iyileşmesinde herhangi bir değişiklik gösterilmezken diğer çalışmalarda hem yara ayrışması hem de insizyonel herni insidansında artış gösterilmiştir.^[2] Armstrong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada artmış plazma bilirubini yara ayrışması ve insizyonel herni için tek değişkenli analizde anlamlı olsa da çok değişkenli analizde yüksek bilirubin seviyesinin kötü beslenme durumu, malignite ve postoperatif sepsisten bağımsız bir faktör olmadığı gösterilmiştir.^[3] Tıkanma sarılığı olan hastalarda ciltte tutulan safra tuzlarının lokal bir etkisi olabilir. Askew ve arkadaşları tarafından, tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanlara oral safra tuzu olarak sodyum torokolat verilmiş ve yara iyileşmesini olumlu etkilediği ortaya koyulmuştur.

Yapılan deneysel çalışmalarda tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanların cildinde prolil hidroksilaz enziminin azalmış olduğunun gösterilmesi ve bu-

nun hayvanlardaki yaraların tensil kuvveti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.^[3,9] Yüksek bilirubin seviyesinin immün sistemi etkileyerek yara iyileşmesini bozduğu bilinmektedir.^[14]

Abdominal yara ayrışması tıkanma sarılığı olan hastalarda iktersiz hastalara göre daha fazla görülmüş ve bu komplikasyon düşük cilt prolil hidroksilaz enzim aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur.^[1] Grande ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada kolajen sentezinin bir indeksi olarak ciltte prolil hidroksilaz aktivitesi kullanılarak 95 tıkanma sarılıklı ve 123 sarılıksız hastada yara iyileşmesi incelenmiştir. Bu çalışmada, ameliyat öncesinde bilier yollarda benign ve malign lezyonlara bağlı tıkanma sarılığı olan hastalar arasında cilt prolil hidroksilaz aktivitesinde önemli azalmalar saptanmıştır. Benign lezyonlara bağlı tıkanma sarılığı olan hastalarda cilt prolil hidroksilaz aktivitesi ameliyat sonrası normale dönerken malign lezyonu olan hastalarda ameliyat öncesi döneme göre artmıştır. Malign lezyona bağlı tıkanma sarılığı olan hastalarda total protein ve albümin seviyeleri daha düşük olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır.^[13]

Bazı tıkanma sarılığı deneylerinde safra yolunun bağlandıktan sonra rekanalize olabildiği bildirilmekte ise de çalışmamızda böyle bir gözlemimiz olmamıştır. Sıçanların bilirubin düzeylerinin her hafta arttığını gözlemledik, halbuki bazı deneysel çalışmalarda rekanalizasyona bağlı olarak bilirubin düzeyinin normale dönebileceği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızın diğer çalışmalardan farklı tarafı, 3 hafta süre ile tıkanma sarılığı oluşturulması ve artan bilirubin seviyeleri ile fasya kopma direnci ve fasya hidroksiprolin düzeylerinin karşılaştırılmasıdır. Yüksek bilirubin düzeyleri ile fasya yara iyileşmesi olumsuz etkilenmektedir. Kolajen sentezinde prolinin hidroksilasyonu gerçekten çok önemlidir. Çünkü prolinin hidroksile olmaması halinde, çok anstabil olan intraselüler ya da ekstraselüler ortamda hızla dejenere olan bir kolajen ortaya çıkar. Bilirubin fasya dokusunda yara iyileşmesini olumsuz etkilemesi, daha önce yapılmış klinik ve deneysel çalışmaların gösterdiği gibi, prolil hidroksilaz enziminin aktivitesini azaltarak kolajene prolinin katılımını engellemesi ve bu nedenle kolajen yapımını azaltmasına bağlıdır. Bu deneysel çalışmalar ile sarılıklı hastaların klinik sonuçları paralellik göstermektedir. Sarılıklı hastalarda yara ayrışması %2-4, insizyonel herni %10-12.5 oranında görülmektedir.^[15] Benzer klinik ça-

İşma sonuçları da göz önüne alındığında, hiperbilirubinemili hastaların yara iyileşmelerinin normal bilirubin düzeyli kişilere göre daha yavaş ve kötü olduğu, bu tip hastaların yaralarının kapatılırken yüksek bilirubin seviyesinin fasya iyileşmesini negatif etkilediği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Askew AR, Bates GJ, Balderson G. Jaundice and the effect of sodium taurocholate taken orally upon abdominal wound healing. *Surg Gynecol Obstet* 1984; 159:207-209.
2. Irwin TT, Vassilakis JS, Chattopadhyay DK, Greaney MG. Abdominal wound healing in jaundiced patients. *Br J surg* 1978; 65:521-522.
3. Armstrong CP, Dixon JM, Duffy SW, Elton RA, Davies GC. Wound healing in obstructive jaundice. *Br J Surg* 1984; 71:267-270.
4. Sağlam A, Yeşilkaya A, Harmanda R, Yeşilkaya Y. Ceftazidimin fasya kolon anastomozlarının iyileşmesine etkisi. *Kolon Rektum Hastalıkları Dergisi* 1991; 1:41-44.
5. Than T, McGee JO, Blumgart LH. Prolylhydroxylase in the skin of patients with obstructive jaundice. *J Clin Pathology* 1977; 30:1044-1047.
6. Crawford DT, Bains JW, Ketcham AS. A standard model for tensiometric studies. *J Surg Res* 1965; 5: 265-269.
7. Switzer BR. Determination of hydroxyproline in tissue. *J Nutr Biochem* 1991; 2:229-230.
8. Nakeeb A, Pitt HA. Preoperative assessment and preparation for biliary tract surgery. In: Carter SD, Russell RC, Pitt HA eds. Atlas of General Surgery. 3rd ed. London, Chapman/Hall Medical: 1996; 395-396.
9. Carol EH, James BG. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Res* 1994; 57:316-336.
10. Benjamin IS, Gupta S. Biliary tract obstruction pathophysiology. In: Blumgart LH, Fong F eds. Surgery of the Liver and Biliary Tract. 3rd ed. London, WB Saunders; 2000:137-139.
11. Sherlock S, Dooley J. Cholestasis. In: Sherlock S, Dooley J, eds. Diseases of the Liver and Biliary System. London, Blackwell; 1985:214-235.
12. O'Connor MJ. Mechanical biliary obstruction. A review of the multisystemic consequences of obstructive jaundice and their impact on perioperative morbidity and mortality. *Am J Surg* 1985; 51:245-251.
13. Grande L, Garcia JC, Fuster J, et al. Obstructive jaundice and wound healing. *Br J Surg* 1990; 77:440-442.
14. Dawiskiba J, Kwiatkowska D, Zimecki M, Kornafel P, Tyran W, Czapińska E, Wozniak Z. The impairment of wound healing process is correlated with abnormalities of TNF-alpha production by peritoneal exudate cells in obstructive jaundiced rats. *HPB Surg* 2000; 11:311-318.
15. Cömert M, Taneri F, Tekin E, Ersoy E, Öktemer S, Onuk E, Düzgün E, Ayoğlu F. The Effect of Pentoxifylline on the Healing of Intestinal Anastomosis in Rats with Experimental Obstructive Jaundice. *Surg Today* 2000; 30:896-902.

KATKIDA BULUNANLAR

Çalışmanın değerlendirilmesi ve planlanması:

Dr. Tolga Müftüoğlu, Dr. Abdullah Sağlam

Verilerin elde edilmesi:

Dr. Erhan Bakırcıoğlu, Dr. Altan Yalçınler-Düzen Laboratuvarı, Dr. Tolga Müftüoğlu

Verilerin analizi ve yorumlanması:

Dr. Tolga Müftüoğlu, Dr. Abdullah Sağlam

Yazının kaleme alınması:

Dr. Tolga Müftüoğlu, Dr. Abdullah Sağlam, Dr. Erhan Bakırcıoğlu

İstatistik değerlendirme:

Dr. Tolga Müftüoğlu

YAZIŞMA ADRESİ

Op. Dr. Tolga Müftüoğlu
Mustafa Mazhar Bey Sok. Önanlar Ap.11/3
80300 Selamiçeşme, Kadıköy, İSTANBUL
Tel: 0 532 364 37 07
Faks: 0 216 330 70 51
e-posta: tmuftuoglu@ttnet.net.tr