



**T.C**  
**MERSİN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**L-KARNİTİN'İN SIÇANLARDA DENEYSEL OLARAK  
LİPOLİSAKKARİT (LPS) İLE OLUŞTURULAN  
SEPSİS MODELİNDE KOLON ANASTOMOZUNUN  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. Hamdi AKÇA**  
**UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç.Dr. HAKAN CANBAZ**

**MERSİN – 2010**



**T.C**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**L-KARNİTİN'İN SIÇANLARDA DENEYSEL OLARAK  
LİPOPOLİSAKKARİT (LPS) İLE OLUŞTURULAN  
SEPSİS MODELİNDE KOLON ANASTOMOZUNUN  
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. Hamdi AKÇA  
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç.Dr. HAKAN CANBAZ**

**Bu tez, BAP-TF CTB (HA) 2010-1 TU kodlu proje olarak Mersin  
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
desteklenmiştir.**

**MERSİN – 2010**

## TEŞEKKÜR

Mersin Üniversitesi Rektörü ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam sayın Prof. Dr. Süha AYDIN başta olmak üzere, tezimin planlanması ve sürdürülmesinde tecrübelerinden ve bilgilerinden faydalandığım değerli hocam ve tez danışmanım sayın; Doç. Dr. Hakan CANBAZ'a, cerrahi eğitimim sürecinde her konuda yardım aldığım ve bana bu mesleği öğreten Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalının değerli öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Musa DİRLİK'e, Prof. Dr. Tahsin ÇOLAK'a, Doç. Dr. Ahmet Koray ÖCAL'a, Doç. Dr. Tamer AKÇA'ya, Yrd. Doç. Dr. Özgür TÜRKMENOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Ahmet DAĞ'a, Uzm. Dr. Okay KOÇ'a, Uzm. Dr. Alper SÖZÜTEK'e, Biyofizik Anabilim dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU'na, Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. E. Arzu KANIK'a, Dr. Gülhan OREKİCİ'ye Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Lülüfer Tamer GÜMÜŞ'e, Dr. Lokman AYZAZ'a, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Ebru SERİNSÖZ'e birlikte çalıştığım, yardımlarını esirgemeyen tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve kliniğimizin tüm hemşire ve personeline teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili eşim Belma ve oğlum Emre'ye, eğitimim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan aileme sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Hamdi AKÇA

Mersin - 2010

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
<b>ÖZET</b>	<b>5</b>
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b>	<b>6</b>
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>7</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>10</b>
<b>Sepsis</b>	<b>10</b>
<b>Yara İyileşmesi</b>	<b>12</b>
<b>Lipopolisakkarit Antijeni (LPS)</b>	<b>25</b>
<b>Karnitinin</b>	<b>27</b>
<b>Malondialdehit (MDA)</b>	<b>27</b>
<b>Miyeloperoksidaz (MPO)</b>	<b>28</b>
<b>Süperoksit Dismutaz (SOD)</b>	<b>28</b>
<b>Nitrit Oksid (NO)</b>	<b>28</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>	<b>30</b>
<b>BULGULAR</b>	<b>42</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>61</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>72</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>73</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>90</b>
<b>ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ</b>	<b>92</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>94</b>

## ÖZET

Sepsis kolon anastomoz kaçağı için risktir ve sepsiste amaç rezeksiyon sonrası primer anastomozu düşük kaçak oranı ile başarmaktır. Çalışmada L-Karnitin'in deneysel sepsis modelinde kolon anastomozu iyileşmesine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışma dört gruptan (10'ar rat) oluştu. Gruplardan KA'da kolon anastomozu (KA), LPS+KA'da LPS ortamında KA, KA+Karnitin'de KA'da L-Karnitin tedavisi ve LPS+KA+Karnitin'de KA'da LPS ve L-Karnitin tedavisi uygulandı. Sepsis oluşturmak için LPS (2 mg/kg, i.p.) KA'dan 18 saat önce uygulandı. L-Karnitin (2x100 mg/kg/gün, s.k.) tedavisi KA'dan 12 saat önce başladı ve 7 gün sürdü. KA'dan 7 gün sonra ratlar sakrifiye edildi. Değerlendirme parametreleri ağırlık değişimi, anastomoz çevresi yapışıklık, anastomoz patlama basıncı, biyokimyasal (kanda lökosit ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ]; anastomoz dokusunda miyeloperoksidaz [MPO], malondialdehit [MDA], süperoksit dismutaz [SOD], Nitrit-nitrat, Hidroksiprolin, TNF- $\alpha$ ) ve histopatolojik incelemeler (Hematoksilen-Eozin [H-E] ve immünohistokimyasal indüklenebilir nitrik oksit sentaz [iNOS]) idi.

LPS serum TNF- $\alpha$  ve anastomoz çevresi yapışıklığı anlamlı şekilde arttırdı, lökosit sayısı ve anastomoz patlama basıncını anlamlı şekilde azalttı. Karnitin serum TNF- $\alpha$ 'yı anlamlı şekilde arttırdı, lökosit sayısını anlamlı şekilde azalttı. LPS ile kıyaslandığında LPS ile oluşturulan sepsiste Karnitin tedavisi serum TNF- $\alpha$ 'yı anlamlı şekilde azalttı, lökosit sayısı ve anastomoz patlama basıncını ise anlamlı şekilde arttırdı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da sepsiste uygulanan Karnitin tedavisi LPS'nin arttırdığı MPO, MDA ve nitrit-nitrat düzeylerini azalttı, LPS'in azalttığı SOD ve hidroksiprolini arttırdı. LPS doku TNF- $\alpha$ 'yı azalttı, LPS ortamında Karnitin tedavisi doku TNF- $\alpha$ 'yı daha fazla azalttı. H-E boya skoru gruplarda farksızdı. LPS ve LPS ortamında Karnitin tedavisi anlamlı olmasa da iNOS boyanma skorunu arttırdı.

LPS ile oluşturulan sepsiste Karnitin tedavisinin sepsis nedeniyle bozulmuş olan kolon anastomozunda yara iyileşmesini olumlu etkilediğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Kolon anastomoz iyileşmesi, L-Karnitin, LPS, sepsis.

## ABSTRACT

### The Effects of L-Carnitine on The Healing of Colonic Anastomosis in An Experimental Sepsis Model Induced by Lps in Rats

Sepsis is a risk for colon anastomotic leakage and to achieve primary anastomosis with low leakage rate after resection is the aim in sepsis. The investigation of the effects of L-Carnitine on the healing of colonic anastomosis in an experimental sepsis model was aimed in the study.

The study consisted of 4 groups (10 rats in each). In group CA colonic anastomosis, in LPS+CA CA induced by LPS, in CA+Carnitine L-Carnitine treatment in CA, in LPS+CA+Carnitine L-Carnitine treatment and LPS in CA was performed. To induce sepsis LPS (2 mg/kg, i.p.) was administered 18 hours prior to CA and continued for 7 days. L-Carnitine (2x100 mg/kg/day, s.c.) treatment was initiated 12 hours prior to CA and went on for 7 days. Rats were sacrificed 7 days after CA. The evaluation parameters were weight change, perianastomotic adhesion, anastomotic bursting pressure, biochemical (leucocyte count and tumor necrosis factor- $\alpha$ [TNF- $\alpha$ ] in blood; myeloperoxidase [MPO], malondialdehyde[MDA], superoxide dismutase[SOD], Nitrite-Nitrate, hydroxyproline, TNF- $\alpha$  in anastomotic tissue) and histopathological investigations (Hematoxylin-Eosin[H-E] and immunohistochemical inducible nitric oxide synthase [iNOS]).

LPS increased serum TNF- $\alpha$  and perianastomotic adhesion, and decreased leucocyte count and anastomotic bursting pressure significantly. Carnitine increased serum TNF- $\alpha$  and decreased leucocyte count significantly. When compared to LPS, Carnitine treatment in LPS induced sepsis significantly decreased TNF- $\alpha$ , and increased leucocyte count and anastomotic bursting pressure. Although insignificant, Carnitine treatment in sepsis decreased MPO, MDA and nitrite-nitrate that was increased by LPS, and increased SOD and hydroxyproline which was decreased by LPS. LPS decreased tissue TNF- $\alpha$ , Carnitine treatment after LPS induction decreased tissue TNF- $\alpha$  more than that. H-E staining score of the groups were indifferent. Although insignificant, LPS and Carnitine treatment on LPS induction increased iNOS staining score.

We think that in sepsis induced by LPS Carnitine treatment positively affected the colon anastomotic healing that was negatively affected by sepsis.

**Key words:** colon anastomosis healing, L-Carnitine, LPS, sepsis.

## GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik çalışmalarda distal kolon anastomozlarında kaçak %1.8-17 arasında görülmektedir ve anastomoz kaçaklarının mortalitesi %6-50 arasında değişmektedir<sup>1-4</sup>. Divertikülit, intraabdominal septik durumlar kolon anastomoz kaçağı için risk oluşturmaktadır<sup>5</sup>. İntraabdominal enfeksiyon varlığında (divertikülit, jeneralize peritonit) altta yatan kolon hastalığının tedavisinde izlenecek yol halen tartışmalıdır<sup>6,7</sup>. Hastalıklı kolon segmentinin rezeksiyonu ve primer anastomoz, rezeksiyon ve Hartman prosedürü veya rezeksiyon + primer anastomoz + proksimal stoma uygulanabilecek tedavi seçenekleridir<sup>8</sup>.

Hartman prosedürü divertikülit ve intraabdominal enfeksiyon gibi yüksek riskli durumların halen en çok tercih edilen tedavi seçeneğidir<sup>9</sup>. Ancak bu işlem sonrası stomalar %20-50'si kapatılmamaktadır ve bu işlemin postoperatif komplikasyon oranı primer anastomozdan daha fazladır<sup>8</sup>.

Aşağı yerleşimli rektum anastomozlarında koruyucu stoma yapılması mortalitede değişikliğe neden olmazken anastomoz kaçak riskini azaltmaktadır. Bu da anastomoz kaçaklarının neden olduğu artmış reoperasyon ihtiyacını dolaylı olarak azaltmaktadır<sup>10</sup>. Öte yandan koruyucu amaçlı stomaların kapatılması da bazı sorunları ortaya çıkarmaktadır; bu işlemin %0.4 mortalitesi ve %17 morbiditesi bulunmaktadır<sup>11</sup>. Mevcut sorunlar değerlendirildiğinde, kolon rezeksiyonu gereken sepsisli hastalarda ilave cerrahi girişim gerektirmeyecek primer anastomozu düşük anastomoz kaçağı riski ile başarabilmek amaçlanmaktadır.

Son zamanlarda, eldeki bilgiler göz önünde bulundurulduğunda anastomoz yönünden çok yüksek risk oluşturmayan uygun hastalarda tedavi tercihinin rezeksiyon ve primer anastomoz yapılması yönünde olduğu görülmektedir. Ancak yüksek riskli hastalarda bu yöntem güvenliliği halen tartışmalıdır<sup>11</sup>. Anastomoz iyileşmesini olumlu etkileyecek yeni ilaçların tanımlanması ve kullanılması önemli klinik katkılar sağlayacaktır. Özellikle yüksek riskli hastalarda koloanal anastomoz, ileal poş veya Hartman prosedürlerindeki geleneksel saptırıcı stomalardan kaçınmak ve primer anastomoz yapmak mümkün olacaktır.

Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarda sepsis ve intraabdominal enfeksiyon varlığında kolon anastomozlarının iyileşmesinin olumsuz etkilendiği gösterilmiştir<sup>12-14</sup>. Endotoksinlerin neden olduğu inflamatuvar ortamda anastomozlarda kolajen sentezi ve dolayısıyla anastomozdaki mekanik gerilime dayanma gücü azalmaktadır; bu da iyileşme kriterlerinden biri olan anastomoz patlama basıncında düşmeyle kendini göstermektedir<sup>12-14</sup>. Sepsis ortamında proinflamatuvar bir sitokin olan TNF-'nın arttığı ayrıca anastomoz bölgesinde iNOS'un arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte artmış olan TNF-'nın ve iNOS'un kolon anastomozlarında iyileşmeyi olumsuz etkilediği de gösterilmiştir. Lipopolisakkarit (LPS) de endotoksemiye indükleyerek TNF-, iNOS ve kolon anastomoz iyileşmesi üzerinde aynı etkileri göstermektedir<sup>12,15,16</sup>.

Karnitin mitokondriyal enerji metabolizmasında yağ asitlerinin oksidasyonunda görevi olan endojen bir madde olup deneysel çalışmalarda dışardan verildiğinde immün fonksiyonları desteklediği, TNF- ve iNOS'u azaltıp yara iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir<sup>17-20</sup>.

Literatürde sepsis ortamında yapılan kolon anastomozunda kullanılan farklı ilaçlarla oluşturulmuş çalışmalar bulunmaktadır<sup>12,13</sup>. Ancak L-Karnitin'in kullanıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Mevcut bilgiler ışığında LPS'nin TNF- ve iNOS'u arttırarak olumsuz etkilediği kolon anastomoz iyileşmesini ekzojen L-Karnitin'in yara iyileşmesine olan olumlu katkısı, TNF- ve iNOS'u azaltmasıyla olumlu etkileyeceği hipotezini ne sürdük. Mitokondriyal enerji metabolizmasında yağ asitlerinin oksidasyonunda görev olan endojen bir madde olan L-Karnitin'in sıçanlarda deneysel olarak LPS ile oluşturulan sepsis modelinde kolon anastomozunun iyileşmesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Deneyin sonucunda vücutta endojen olarak da üretilen ve günümüzde karnitin eksikliği, beslenme bozukluğu ve özellikle kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda güvenle kullanılmakta olan Karnitinin sepsis ortamında yapılan kolon anastomozlarında olumlu etkisi saptanırsa, kolon rezeksiyonu yapılan sepsisteki kritik hastalara sadece primer anastomoz yapılarak uygulanan cerrahi tedavi yönteminin kullanılması mümkün olabilecek. Böylece stoma oluşturulması nlenmiş ve stomanın ve stoma kapatmanın ortaya çıkarabileceği potansiyel komplikasyonlar engellenmiş olacak. Öte



yandan diğer cerrahi tedavi seçeneklerine de ilaçla yeni bir tedavi katkısı ve ilaç için de yeni bir kullanım alanı ortaya konmuş olacaktır.

## GENEL BİLGİLER

### Sepsis

Sepsis, enfeksiyona sistemik inflamatuvar cevaptır<sup>21</sup>. Sepsis ve onun sekeli ilerleyici evreler içerir; endojen mediatörlerle oluşturulmuş enfeksiyona sistemik cevap organlarda genel inflamatuvar reaksiyona neden olabilir ve uç-organ disfonksiyonu veya yetmezliğine yol açabilir<sup>22</sup>. Sepsis önemli ve hayati tehdit eden bir problemdir. Sepsis yoğun bakım ünitelerinde ölümlerin en sık nedenidir<sup>23</sup>. Hastalığın ileri evrelerindeki hastaların artan agresif tedavisi nedeniyle, hastanede yatan hastalarda sepsis insidansı ve mortalitesi yüksektir<sup>22-26</sup>.

Sepsis ve organ yetmezliği ile ilgili olarak bir tanımlar grubu önerilmiştir; biteriyemi, sepsis, ciddi sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliği<sup>26</sup>. Sistemik İnflamatuvar Cevap Sendromu (SIRS), sepsis, ciddi sepsis ve septik şok klinik ve patofizyolojik şiddete göre bir sıralamadır. Buna göre:

Bakteriemi: Kan dolaşımında bakterinin bulunmasına denir.

Sepsis: Bakteri veya diğer patojenlerin kan dolaşımına geçmesi sonucu gelişen sistemik bir cevaptır. Enfeksiyon etkeninin kan kültürü ile kanıtlanmış olması gerekir. Sepsiste, enfeksiyonun klinik belirtisi ile birlikte enfeksiyona karşı sistemik cevabın belirtisi olan aşağıdakilerin hepsinin olması gerekir.

-Vücut ısısı > 38 0C veya <36 0C

-Kalp hızı >90/dak

-Solunum hızı >20/dak veya PaCO<sub>2</sub> <32 mmHg

-Beyaz küre >12.000 , <4.000 veya >%10 genç (çomak) hücrelerin olması.

Sepsis sendromu: Hipertermi veya hipotermi, taşikardi, takipne ile birlikte yetersiz organ perfüzyonu belirtilerinden olan aşağıdaki belirtilerden bir veya daha fazlasının bulunmasıdır.

- Hipoksemi (PaO<sub>2</sub> <75 torr),

- Serum Laktat yüksekliği,

- Oligüri <30 ml/1 saat,

-Mental değişiklikler

Ağır sepsis: Sepsis ile birlikte aşağıdakilerden birisinin olmasıdır.

-Organ fonksiyon bozuklukları

-Hipoperfüzyon bulguları (Laktik asidoz, oligüri, akut mental değişiklikler)

-Hipotansiyon

Septik Şok: Sepsis sendromuna sahip olan ve yeterli sıvı perfüzyonuna (en az 500 ml serum fizyolojik) rağmen, hipotansiyonun diğer nedenleri olmaksızın, sistolik kan basıncının <90 mmHg veya önceki düzeyden 40 mmHg dan fazla düşmesi ile ortaya çıkan tabloya septik şok denir.

Dirençli septik şok: Sıvı tedavisi veya vazopressör tedaviye cevap vermeyen ve 1 saatten daha fazla süren septik şoktur.

Sistemik İnflamatuvar Cevap Sendromu: Sepsis veya sepsis sendromu gibi enfeksiyöz olabilen klinik durumlardan başka, ateş ve organ perfüzyon yetersizliğinin olduğu pankreatit, yanık, iskemi ve doku zedelenmesi gibi enfeksiyöz olmayan nedenleri de içine alan geniş kapsamlı bir klinik durumdur. Bu durumda aşağıdakilerden iki yada daha fazlasının bulunması gerekir, ancak kan kültürü pozitifliği şart değildir. Çünkü enfeksiyöz olmayan durumlar da söz konusudur.

- Vücut ısısı > 38 0C veya <36 0C

- Kalp hızı >90/dak

- Solunum hızı >20/dak

- Beyaz küre >12.000 , <4.000 veya > %10 genç (çomak) hücrelerin olması.

### **Sepsiste Klinik**

Sepsis sendromuna neden olan Gram (+) ve (-) sistemik bakteriyel enfeksiyonun en yaygın belirti ve bulguları şunlardır:

- Ateş

- Titreme

- Hipotermi

- Hiperventilasyon

- Deri lezyonları

- Mental durumda değişiklik

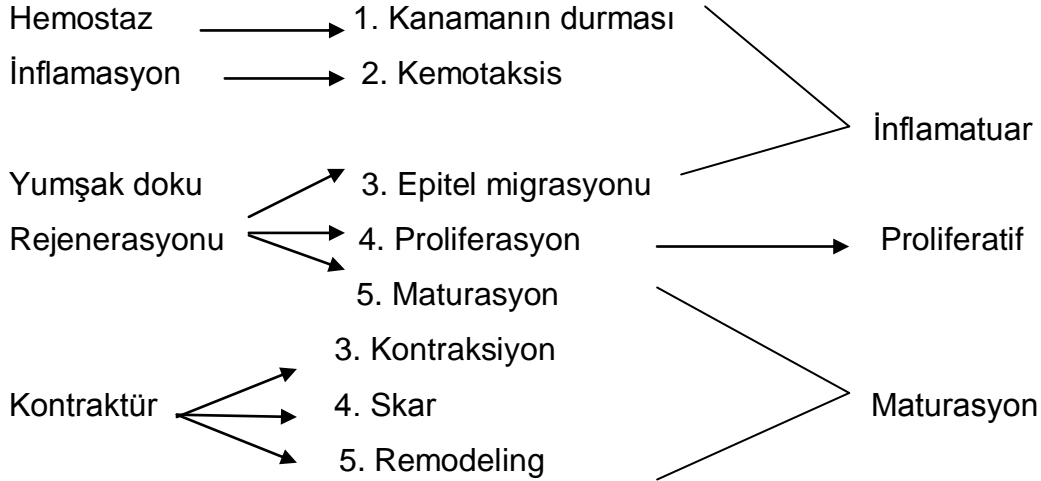
Septik hastalıklar bütün yoğun bakım hastalarının %50'sinden fazlasını etkileyen yoğun bakım ünitelerindeki yaygın komplikasyonları temsil etmektedir<sup>27-29</sup>. Klinik çalışmalarda sepsis ve septik şoktaki hastaları %70-80'inde belirgin şekilde artmış plazma endotoksin seviyeleri tespit edilmiştir<sup>30-32</sup>.

Sepsis ve İntraabdominal sepsis kolon anastomozu iyileşmesini olumsuz yönde etkilemekte ve anastomoz kaçağı için risk oluşturmaktadır<sup>33,34</sup>. Sepsisin bu etkisini açıklayabilmek için çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Septik koşullarda kollajen metabolizması yıkım yönünde bozulmaktadır ve septik koşullarda yapılan bağırsak anastomozu iyileşmesinin en başından beri olumsuz yönde etkilendiği ve bunun da anastomoz kaçağı için risk oluşturduğu ileri sürülmüştür<sup>35,36</sup>. Bir başka deyişle bakterilerin salgıladıkları kollajenolitik enzimler de kollajen yıkımını arttırmaktadır<sup>37</sup>. Ayrıca inflamatuvar yanıtta oluşan nötrofil, serin proteaz ve serbest oksijen radikalleri kolon anastomozu iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir<sup>38</sup>.

### Yara İyileşmesi

Yara, canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel devamlılığının bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise, travma ile başlatılan hücresel ve biyokimyasal olayların yeni doku teşekkülü ile sonuçlanmasıdır.

Yaralanmaya organizmanın verdiği ilk yanıt koagülasyondur. Koagülasyon stabil fibrin oluşumu ile sonuçlanan reaksiyonlar zincirinden oluşmaktadır. Yara iyileşmesinde 3 evre belirlenmiştir. 1.İnflamatuvar evre, 2.Proliferatif evre (Fibroblastik evre), 3.Maturasyon evresi (Remodeling evresi).



**Şekil 1.** Yara iyileşmesi süreklilik diyagramı<sup>39</sup>.

## 1. İnflamatuvar Evre

Yara iyileşmesinin başlangıç basamağı olan akut inflamasyon, hemostazın sağlanması, immun sistem komponentlerinin göçü, mekanik, bakteriyel ve kimyasal etkilere karşı cevabın oluşmasını sağlar<sup>40</sup>. Bu evrede, trombositler başlangıç trombüsünü oluşturup, mediatörler ve growth faktörleri salgırlarlar. Bu mediatörler nötrofil ve makrofajlar için kemotraktan görevi görürler. Yara alanına gelen nötrofil ve makrofajlar nekrotik doku, debris ve bakterilerin ortamdandan uzaklaştırılmasını sağlarlar<sup>41</sup>. İnflamatuvar evrede, yara oluşumu ile başlayan uyarıya karşı vasküler ve hücresele yanıt oluşur<sup>42</sup>.

**Vasküler Yanıt:** Doku travması ile görülen kanamaya ilk vasküler yanıt, 5-10 dakika süren geçici vazokonstrüksiyondur<sup>40</sup>. Bu süre içinde hemostaz sağlanır<sup>42</sup>. Yaralanma ile koagülasyon mekanizması aktive olur, trombosit adezyonu ve agregasyonu sonucu pıhtı meydana gelir. Agregate olan trombositlerin, granüllerindeki içerik boşalarak, kemotaktik, vazoaktif mediatörler ortama salınır<sup>40</sup>.

Trombositlerin alfa granüllerinden:

- Fibrinojen
- Fibronektin
- Platellet faktör 4
- TGF- $\beta$
- PDGF
- Tx A2
- Biojenik aminler
- Prostaglandinler salınır.

Geçici vazokonstrüksiyonu takiben aktif vazodilatasyon fazı görülür; böylece kapiller permeabilite artar. Bazı aktif substanslar; mast hücrelerinden salınan histamin, serotonin, bradikinin ve prostaglandinler, mikrosirkülasyonda permeabiliteyi arttırırlar ve venüllerin dilate olmasını sağlarlar<sup>40</sup>. Erken permeabilite değişiklikleri ve vazodilatasyonda asıl etken maddenin histamin olduğu düşünölmektedir<sup>42</sup>.

Vazodilatasyon 72 saat boyunca sürmektedir. Permeabilite artışı ile inflamasyon bulguları görülür. Plazma ve hücre göçünden dolayı bölgede ödem ve bunun sonucunda oluşan doku basıncı artışından dolayı da ağrı olur<sup>40</sup>.

Aktif trombositler, kinin ve kompleman sistemi komponentleri, prostoglandinlerden salgılanan hemostatik faktörler, hücrel kontrol sinyallerini oluştururlar<sup>42</sup>. Bu hücreler tarafından salgılanan mediatörlerin etkisiyle inflamatuvar hücre göçü başlar<sup>42,43</sup>.

**Hücrel Yanıt:** İnflamatuvar evrede hücrel yanıt, vasküler değişikliklerin görülmesinden sonra kısa bir süre içinde başlar. Yaralanmadan birkaç saat sonra, nötrofiller damar duvarlarından diapedesis yolu ile ilerleyerek yara alanına doğru göç ederler<sup>40</sup>.

Nötrofil veya polimorfonükleer lökositler (PMNL) ve mononükleer (MNL) hücrelerin yara yerine göçü dolaşımdaki sayıları ile doğru orantılı olarak gerçekleşir<sup>42</sup>. Nötrofil sadece birkaç saat inflamasyon sahasında kalır. Görevleri yabancı cisim ve bakteri fagositozudur<sup>43</sup>. Yeterli oksijen desteği ile lizis fonksiyonlarını yerine getirirler. Bu işlemlerin sonucunda inflamasyon sahasında oksijen radikalleri meydana gelir<sup>43</sup>. Yara bölgesinde yabancı cisim ve enfeksiyon olmadığı takdirde, nötrofil sayısı hızla azalır, hidrolitik enzimleri hücre dışına yayılır. Eğer ortamda bakteri ve yabancı cisimler varsa inflamatuvar proses devam edecektir<sup>40</sup>. Bakteri ve nekrotik dokuları dijesyonundan sonra parçalanan nötrofilden, hidrolitik enzimler açığa salınır, yara yerinde eksudasyon meydana gelir<sup>43</sup>.

Yara yerine ilk göç eden PMNL'in sayısı başta MNL'den daha fazladır; inflamasyon uzadıkça hayat süreleri kısa olan PMNL'lerin yerini MNL'ler alır ve dominant hale geçerler<sup>42</sup>. Nötrofilden sonra yara yerine lenfositlerin göçü olur. Lenfositler lenfokinleri salgırlar. Lenfokinlerin yara yerindeki endotel hücreleri ve hücrelerin kemotaksisi üzerinde etkileri vardır. Yapılan çalışmalar sonucunda, yara yerine göç eden lenfositlerin iki farklı sınıf olduğu gösterilmiştir. İlk sınıfta all-T-cell marker (OKT-1) taşıyan T hücre grubudur; başarılı yara iyileşmesi için gerekli olduğu gösterilmiştir ki eksikliğinde yara iyileşmesinde bozulmalar saptanmıştır. İkinci sınıf T sitotoksik ve supressör grubudur. Bu grup yara iyileşmesinde düzenleyici rol oynar ve eksikliğinde yara gerilme direnci azalır<sup>43</sup>.

Makrofajların yara yerine göçü ve yara alanındaki sayılarının artışı başlar. Makrofajların önceden sadece fagositik fonksiyonları olduğu düşünülürken bugün yara iyileşmesinde merkezi bir hücre rolü oynadıkları

gösterilmiştir. Bu role sahip olmasının en önemli nedeni salgıladığı growth faktörlerdir<sup>43</sup>. Aktif makrofajlarda salınan growth faktörler:

- TGF $\beta$  - Transforming growth faktör beta
- PDGF -Platellet derivated growth faktör
- IL-1 - İntelökin 1
- PAF - Platellet activated growth faktör
- TGF $\alpha$  -Transforming growth faktör alfa
- TNF - Tümör nekroz faktörü
- FGF - Fibroblast growth faktör
- EGF - Epidermal growth faktör

Makrofaj, bu özellikleriyle yara iyileşmesinin inflamatuvar evresinin orkestra şefi görevini görür. Fibroblast ve diğer mezenkimal hücreler için growth faktör kaynağıdır, neovaskülarizasyon için anjiogenik faktörlerin kaynağıdır, konnektif doku matriks proteinlerinin üretimine yardımcı olur<sup>41,43</sup>.

## **2.Proliferatif (Fibroblastik) Evre**

Yaralanmadan sonraki iki ile üçüncü gün arasında başlayarak, ortalama olarak 3 haftada sonlanır<sup>40-42</sup>. 72. saatte makrofajlardan salgılanan TGF- $\beta$ , fibroblastları yaraya doğru harekete geçirir ve proliferatif evrenin başlangıç sinyalini oluşturur. Makrofajlardan salgılanan diğer growth faktörler ve sitokinler bu evrede anjiogenezi stimüle ederler.

Proliferasyon evresini iki alt başlıkta inceleyebiliriz<sup>43</sup>.

- 1.Fibroblast proliferasyonu
2. Angiogenezis.

### **Fibroblastik Proliferasyonu**

Fibroblastlar, makrofajlar tarafından salgılanan bir kemoatraktan olan TGF- $\beta$  etkisi ile yara alanına göç etmeye başlarlar<sup>41</sup>. Fibroblast, yara yakınındaki konnektif doku hücrelerinden köken alır. Birinci haftanın sonunda, yara yerindeki predominant hücre olur. Fibroblastların yara yerine göç etmesi ve fonksiyonlarını yerine getirmesi yeterli oksijen seviyeleri ile ilişkilidir<sup>43</sup>. Fibroblast, yara iyileşmesi için gerekli maddeleri üretir, bunlar: glikozaminoglikanlar ve kollojen lifleridir.

## **Glikozaminoglikanlar(GAG)**

Tekrarlayan disakkarit ünitelerinden oluşan protein çekirdektir. İlk sentez edilen GAG hyaluronik asittir; bunu kondroidin-4-sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat izler<sup>42</sup>. Fibroblastlar ve diğer mezenkimal hücrelerden salgılanan GAG, proteoglikan ve mukoproteinler tarafından, amorföz jel karakterli ground substance oluşumu sağlanır. Yara yerinde oluşan bu madde kollajen liflerinin agregasyonunda görevlidir<sup>42,43</sup>. Yeni kollojen lifleri ve hücrelerin organizasyonunun sağlanmasında destek görevi görür; kollajen liflerinin oryantasyonu ve boyutlarının kontrolü ile ilişkilidir<sup>43</sup>.

## **Kollajen Sentezi**

Skar dokusunun major komponenti kollajendir. Yetersiz skar oluşumu yapısal bütünlüğün kaybından dolayı, morbidite ve mortalitenin artışı ile sonuçlanabilir. Tersine aşırı skar oluşumu ise görünüş ve fonksiyonellik açısından istenmeyen sonuçlar doğurur<sup>41</sup>. 18 adet gen ürününün düzenlemesi sonucunda 3 halkalı polipeptit yapısından oluşan yaklaşık 13 çeşit kollajen tanımlanmıştır<sup>44</sup>.

Kollajen molekülü pek çok hücreden sentez edilebilir, fakat en önemli kaynak fibroblasttır. Aktif kollajen üretimi fibroblastların endoplazmik retikulumunda başlar, hücre içinde işlem gördükten sonra prolin ve lizin ile hidroksile olmuş prokollajen halinde salınır. Hidroksilasyon, oksijen, C vitamini, demir ve  $\alpha$  ketoglutarat gerektiren kollajen sentezindeki önemli bir basamaktır<sup>43</sup>. Prokollajen polimerizasyona uğrayarak, tropokollojen formunu oluşturur. Tropokollajen birimlerinin amino ve karboksi terminallerine peptit dizeleri eklenerek kollajen lifleri meydana gelir<sup>42,43</sup>. Kollajen sentezi 2. haftada hızlanır, birikimi 2. ve 3. haftalarda en yüksek seviyededir, 3. hafta sonunda sentez ve yıkımı dengededir, 4. haftadan sonra sentezi azalır<sup>41,43</sup>.

Normal deri %80 Tip I kollajen, %20 Tip III kollajen içerir<sup>44</sup>. Yara iyileşme sürecinde biriken kollajen tipleri farklılıklar göstermektedir. Yaralanmadan sonraki ilk saatlerde Tip IV-V kollajen dominant, 24. saatte Tip III kollajen, 60. saatte Tip I kollajen dominant olmak üzere Tip III-IV kollajen birikimi olur<sup>43</sup>.

## **Anjiogenezis**

Yara yüzeyi rölatif olarak iskemiktir, oksijen ve besin transferi olmadan iyileşme gerçekleşemez. Anjiogenez yaralanmadan sonraki 4. günde başlar.



Makrofajlar tarafından salınan, endotel ve mezotel hücreleri için kemoatraktan moleküller olan, angiogenik faktörlerin stimülasyonu ile tetiklenir. Endotel hücrelerinin proliferasyonu ile yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluşur. Bu tomurcuklar ilerleyip, diğerleriyle aralarında yeni bağlantılar oluşturarak, yeni kapiller ağları ve kapiller yatakları inşa ederler. Yaranın metabolik ihtiyaçlarına bağlı olarak, yeni kapillerlerde remodeling ve regresyon olur, bu oluşum skar dokusunun eriteminin azalması şeklinde gözlenir<sup>43</sup>.

### **3.Maturasyon ( Remodeling ) Evresi**

Yaralanmadan sonraki iki-üçüncü hafta arasında başlar, ortalama bir yıl kadar devam eder<sup>40</sup>. Maturasyon evresinde kollajen sentezi devam etmekle birlikte yıkımı da başladığı için net kollajen miktarında artış olmaz<sup>43</sup>. Başlangıçta rastgele dizilmiş olan kollajen lifleri, kademeli olarak mekanik güçlerin etkisiyle organize olurlar<sup>42</sup>. Kollajen lifleri, mekanik kuvvetlerin yarattığı stres hattı boyunca dizilime uğrar ve yarada daha fazla gerilim kuvveti meydana gelir. Yaranın gerilme kuvveti kollajen miktarından öte, dizilimine bağlı olarak artar<sup>40</sup>. Yaranın gerilme kuvveti hiçbir zaman normal düzeye gelmez, yaralanma öncesi gerilme kuvvetinin ancak %80 ine ulaşabilir.

Kollajen yıkımı kollajenaz enzimi tarafından yapılır. Kollajenaz çinko içeren metalloproteaz bir enzimdir; matur kollajenin  $\alpha$  heliks zincirleri arasına girerek yıkımı gerçekleştirir. Diğer proteazlar da kollajen yıkımında görev alırken, Tip I, II, III kollajeni yıkan major enzim kollajenazdır<sup>43</sup>.

Maturasyon evresinde depolanan yeni kollajen lifleri stabil çapraz bağlar kurarak kalıcı hale gelirler. Kollajen çapraz bağları yaraya direnç ve bütünlük kazandırır. Komşu kollajen lifleri arasında da çapraz bağlar oluşur ve 3 boyutlu triple heliks yapısını kazanır<sup>40</sup>.

Maturasyon evresinde diğer değişiklikler, interselüler matriks moleküllerinde olur. Hyaluronik asit, kondroidin-4-sülfat gibi GAG'ların ve proteoglikanların miktarı dermiste bulunan normal düzeylerine iner, dokuların su içeriği kademeli olarak azalır normale döner<sup>42</sup>. Kollajen kalınlaşır ve yoğunlaşır, kan damarları giderek konstrükte olup kaybolur<sup>40</sup>.

### **Yara Direnci**

Yaraya direnç kazandıran ana madde kollajendir. Yaranın erken evrelerinde direnç kazanma özelliği fibrin pıhtı sayesinde oluşur. İlk 24 saatte

yanarın ölçülebilir miktarda gerilim direnci kazandığı, sonuç olarak bu direnci epitelizasyon ve fibrin pıhtı sayesinde kazandığı gösterilmiştir. PMNL'in kollajen formasyonunda yeri olmadığından, inflamasyon evresinde kollajen depozisyonu çok azdır<sup>40</sup>. Ancak makrofajlardan salınan growth faktörler kollajen formasyonunu etkileyerek, indirek yoldan yara direncine katkıda buldukları gösterilmiştir<sup>41</sup>. Çalışmalar sonucunda, yara yerindeki makrofajların sayısının azalması ile kollajen depozisyonunun azaldığı belirlenmiştir<sup>40</sup>. Prostaglandinlerin bu mekanizmada önemli rol oynadığı gösterilmiştir bu nedenle inflamasyonun kontrolünde prostoglandin inhibitörlerinin kullanılması önerilmiştir<sup>40</sup>.

Yara direncinin anlaşılmasında iki önemli birim ifade edilmiştir<sup>43</sup>.

-Gerilim Direnci (Tensile Strength)

-Açılma Direnci (Breaking Strength)

**Açılma Direnci:** Yara kenarlarının ayrılmasına neden olan güç birimidir<sup>43</sup>.

**Gerilim Direnci:** Yara bölgesinin her bir ünitesine uygulanan yüke karşı koyabilen direnç kapasitesidir<sup>42,43</sup>. (kg/mm<sup>2</sup>). Yara oluşumundan sonraki ilk üç günde yara kavitesini dolduran fibrin pıhtı ve epitelizasyon sayesinde kazanılan gerilim direnci 3-30 gün arası kollajen sentezi artışı ile korele olarak artar. Yara yeri 2. haftada, sağlam deri direncinin %10'unu kazanmıştır. Bu oran 3-4. haftalarda %25 olup, 8. haftada en yüksek düzeydedir<sup>42,43</sup>. Yara iyileşmesi tamamlandıktan sonra, yara bölgesi hiçbir zaman sağlam deri gerilim direncinin tamamını kazanamaz. Aylar sonra ölçülen değerlere göre optimal şartlarda dahi gerilim direnci %70-80 düzeyine ulaşır. Ancak bireyler arası farklılıklara, yanarın oluştuğu dokunun özelliğine ve diğer etkenlere bağlı olarak kazanılan gerilim direnci düzeyi değişebilir<sup>42</sup>.

### **Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Yara iyileşme hızı her evresinde farklı etkenler tarafından düzenlenir. Sistemik, lokal veya çevresel faktörlerin yara iyileşmesine olumlu veya olumsuz yönde etkileri gösterilmiştir<sup>42</sup>. Bu faktörlerden en önemli ve sıklıkla karşılaşılanları:

- Hasta yaşı
- Hastanın beslenme durumu

- Çevre sıcaklığı
- Sigara kullanımı
- Yaranın oksijenizasyonu
- Hemoglobin–hemotokrit seviyesi
- İmmünoşüpresyon
- Kortikosteroid
- Mekanik stres
- Enfeksiyon
- Radyoterapi
- Herediter hastalıklar
- Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar
- Vitaminler (A, C, E)
- Mineraller ve aminoasitler (Çinko, Bakır, Arginin)
- Serbest oksijen radikalleri
- Growth Faktörler (TGF- $\beta$ , TGF- $\alpha$ , PDGF, EGF )

**Hastanın Beslenme Durumu:** Yara hızlı metabolizmasından dolayı yüksek miktarda besin öğelerine ihtiyaç duyar. Malnutrisyon herhangi bir besin öğesinin eksikliği veya ciddi stres katabolik bir süreç yaratır ve yara iyileşmesini negatif yönde etkiler. Yara iyileşmesinde özellikle karbonhidrat ve yağların görevleri iyi bilinmektedir. Glukoz lökositlerin enerji kaynağıdır ve yağlar yeni hücrelerin sentezi için gereklidir. Serum protein düzeyi 2 gramın altında olan kişilerde inflammatuar evre uzamış ve fibroplazi azalmıştır. Esansiyel aminoasitler inflamasyon ve fibroblast ürünlerinin üretimini artırılması için gereklidir. Vücut ağırlığının %10'unun veya daha fazlasının kaybı yara komplikasyonlarını artırır.

**İmmünoşüpresyon:** Sıklıkla kemoterapatik ajanların kullanımı nedeniyle oluşan, immünoşüpresyon nedeniyle nötrofil fonksiyonları bozulur. Dolaşımda seviyesi düşen nötrofilin yara yerine ulaşan sayıları azalır. Yara enfeksiyon olasılığı artar, yara iyileşmesi yavaşlar. Yapılan çalışmalar sonucunda kemoterapatik ajanın kullanımından 2-3 hafta geçtikten sonra oluşan yaralarda iyileşmesinde bir gerileme olmadığı görülmüştür.

**Enfeksiyon:** Enfeksiyon olduğunu söyleyebilmek için, patojen bakteri miktarının her gram doku ünitesine düşen miktarı  $10^5$  'in üzerinde olmalıdır. Ancak beta-hemolitik streptokoklarda daha az sayı ile enfeksiyon oluşabilir.

Enfeksiyon, yara iyileşmesinde bozulmalara yol açar. Doku oksijen basıncını düşürür, kollajenolizi artırır ve inflamatuvar evrenin uzamasına neden olur. Bakteriyel kolonizasyon epitelizasyon ve anjiogenezisi azaltır. Bakteri metabolit ve toksinleri epitel migrasyonunu bozar, dermisteki polisakkarit ve protein yapıları etkiler. Enfekte yaralarda granülasyon dokusu daha ödematöz, hemorojik ve frajildir. Bakteriyel kontaminasyon ile artan kollajenolitik aktivite sonucunda yara gerilim direnci düşer ve yara kontraksiyonu azalır.

### **Aminoasitler**

**Arjinin:** Esansiyel bir aminoasit olan arjinin, kollajen depozisyonunu arttırarak yara gerilim direncine katkıda bulunur. Arjinin, kollajen üretimi için gerekli olan prolin ve hidroksprolinin metabolik prekürsörü ornitinin bir ürünüdür. Arjinin growth hormon salınımını stimüle eder ve yara iyileşmesini hızlandırır.

**Serbest Oksijen Radikalleri:** Oksijenin redüksiyonu sonucunda yüksek reaktif ve sitotoksik serbest radikaller meydana gelir. İnflamasyon, iskemi, radyasyon ve kimyasal ajanlar serbest oksijen radikalleri oluşumuna neden olurlar. Ekstraselüler matrikse salgılanan bu radikaller hücreye zarar verirler. Radikaller hyaluronik asit ve kollajeni, hücre membranlarını yıkar, organel membranlarını parçalayıp, önemli enzim sistemlerinin işlevini bozarlar. İntraselüler serbest radikallerin artışı; yaşlanma, hiperoksijenasyon sendromu, iskemi-reperfüzyon sendromu, kimyasal ajanlarla olan doku yaralanmaları, ilaca bağlı hemolitik anemi ve vitamin A ve E eksikliklerinde görülür.

### **Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi**

Gastrointestinal sistem yara iyileşmesinde de yine lokal ve sistemik faktörler etkilidir. Anastomoz iyileşmesi de vücudun herhangi bir yerindeki yara iyileşmesine benzer fazlardan oluşmaktadır<sup>45-47</sup>.

**Faz I. İnflamatuvar Faz (0-3 gün):** Yarada hemostaz lokal vazokontrüksiyon ile başlar. Sonrasında trombosit tıkaç oluşur. Ortaya çıkan vazoaktif maddeler vazodilatasyon ve kapiller permabilitede artışa yol açar. Yaralanma alanında plazma sızıntısı ve ödem oluşur. Yaraya göç eden polimorflökositler (PMNL)in ilk 48 saat sayıları giderek artar. Lökositler lizise uğrayarak stoplazmik granüllerini boşaltırlar. Bu nekrotik dokunun enzimatik olarak parçalanıp makrofajlarca fagositozunu kolaylaştırır. İlk 24 saatten sonra

monositlerin sayısı artmaya başlar ve 48 saat sonunda PMNL ile sayıları eşitlenir. Yara yakınındaki konnektif doku hücrelerinden köken alan fibroblastlar ortaya çıkar<sup>45-47</sup>.

**Faz II. Proliferatif Faz (3-14 gün):** Fibroblast, yara iyileşmesi için gerekli maddeleri üretir, bunlar: glikozaminoglikanlar ve kollojen lifleridir. Makrofajlardan salınan sitokinler angiogenezi başlatır. 5-20. günlerde yara gerilme kuvveti hızla artar<sup>45-47</sup>.

**Faz III. Maturasyon (Remodeling) Fazı (14-180 gün) :** Yaradaki hücre sayısı azalır. Organize olan kollojen fibrilleri avasküler skar dokusuna dönüşür. Yara gerilim kuvveti artmaya devam eder ama hiçbir zaman normal seviyeye ulaşmaz<sup>45-47</sup>.

### **Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesinin Mikroskopik Bulguları**

Gastrointestinal sistemin her kısmında yara iyileşmesi kendine özgü farklılık gösterir. Mide ve ince barsakların kanlanması çok iyi olup bakteri içeriği de azdır. Bu nedenle bu organların rezeksiyonu ve primer anastomoz sonucu kaçak çok az görülmekte ve bir hafta içinde anastomoz yeterli sağlamlığa ulaşmaktadır.

Kolonik anastomoz iyileşmesi daha yavaştır. Anastomoz iyileşmesi başka bir yerdeki yara iyileşmesi gibi inflamasyonla başlar. Anastomozdan 3 saat sonra granülositler bölgede belirir ve ilk 24 saat dolduğunda maksimum düzeye ulaşır. 24-48 saat sonunda yerini monosit ve makrofajlara bırakır. İntestinal anastomozlarda PMNL bir haftada kaybolurken kolon anastomozlarında bulunmaya devam ederler<sup>45,48</sup>.

Postoperatif birinci haftada lokal vasküler cevap nedeniyle anastomoz alanında intestinal duvar ödemi oluşur. Hem intestinal hem de kolonik anastomoz da 2-3 gün içinde yeni kapillerler ve arterioller oluşur. Postoperatif 3-5. günlerde kolonik anastomozdaki vaskülarizasyon intestinal anastomozlara göre daha azdır<sup>45,47</sup>.

Mukozal tamir ince barsakta kolondan daha hızlıdır. İntestinal anastomozda mukozal defekt bir haftada tamamen iyileşirken kolonik anastomozda daha yavaş iyileşir. Mukozal tamir yara kenarından başlar. Mukozal kriptlerden hücre migrasyonu ve epitelyal hiperplazi ile tamir oluşur.

Submukoza intestinal traktın gerilme direncini sağlar. Anastomoz yapılmış barsakta uçları tutan sütürleri sağlamlaştır<sup>45,49,50</sup>.

Kolonda üç düz kas tabakası vardır. Muskularis mukoza , sirküler ve longitudinal kas tabakaları. Düz kasların kısmen rejenerasyon kabiliyetleri vardır. Sirküler ve longitudinal kas tabakalarında başlangıçta oluşan skar formasyonu takip eden haftalar ve aylar içinde yerini düz kas hücrelerine bırakır. Muskularis mukoza ise farklılaşmamış hücre göçü ile düz kas hücresi oluşturularak tamir edilir. Göç eden düz kas hücrelerinin in vitro olarak kontraktıl ve sentetik hücrelere farklılaşma kabiliyeti gösterilmiştir<sup>45,48</sup>.

Seroza, muskularis externayı örten konnektif dokudur. İyi bir serozal oppozisyon sızıntı riskini minimize etmek için gereklidir. Ve inverting sütür tekniğinin kullanılması ile bu başarı ile sağlanabilir. Bu nedenle serozası olmayan retroperitoneal segmentlerde ve serozasız intestinal organ anastomozlarında yüksek komplikasyon riski vardır<sup>45,49,50</sup>.

### **Anastomoz İyileşmesinde Kollajen Metabolizması**

Hidroksiprolin düzeyi kolonun farklı kısımlarında farklı konsantrasyonlarda bulunur. Ratlarda çekum ve distal kolonda yüksek bulunmuştur. Kolona anastomoz yapılması, anastomoz hattının 2.5 cm proksimalinde ve 0.5 cm distalinde postoperatif ilk 3 günde kollajeni %20-40 azaltır. Hidroksiprolin konsantrasyonu 3. günde artmaya başlar ve 10. günde preoperatif değerine ulaşır<sup>51</sup>. 3. günde başlayan artış 7. günde maksimum değere ulaşır<sup>52</sup>.

Kolon anastomozlarından sonra ilk hafta boyunca kolonun tün kısımlarında kollajen sentezi artar<sup>51,53</sup>. Cerrahiden sonra 3-4. günde anastomoz alanında kollojen sentezi artar<sup>53</sup>. 7. günde daha aktif olarak (6-10 kat) sentez gözlenir. Aynı anda anastomoz hattının 0.5-1.5 cm proksimalinde 5 kat, 0.5-1.5 cm distalinde 3 kat yüksek aktivite vardır<sup>53</sup>.

Gastrointestinal anastomoz iyileşmesi sırasında kollajen sentezi ve kollajenolizis beraberdir. Ekstrasellüler matriksteki komponentlerin parçalanmasında 2 grup enzim önemlidir. Metalloproteazlar (kollajenaz, gelatinaz, stromelisin) ve plazminojen aktivatör-plazmin görev alır. Proteolitik aktivite geçicidir. Enzimlerin aktivasyonları ve inhibisyonları arasında feedback kontrolü vardır. Kolon anastomozundan sonraki 3. günde kollajenolitik aktivite

%145 oranında artar<sup>45,54-57</sup>. İmmünolojik çalışmalar anastomoz hattının birkaç milimetre uzağında kollagenaz ve inhibitörlerini göstermiştir<sup>58</sup>.

Kolon anastomozlarından sonra kollajen özellikle anastomoz hattı, submukoza, serozal yüzeyde birikir. Submukoza, anastomoz hattı ve düz kas hücreleri bazal laminasında biriken fibronektin iyileşmenin inflamatuvar döneminde azalırken, ilk haftada artmaya başlar. Submukoza ve anastomoz hattında 7. günde maksimum düzeye ulaşır. Normal kolon güçlü aerobik ve anaerobik metabolizmaya sahiptir. Kolonik anastomozda tüm enerji aktiviteleri anastomoz alanında azalır. Bu değişiklikler özellikle mukoza ve müsküler tabakada belirgindir. Fakat submukozal enerji metabolizması bozulmaz.

Anastomoz direncinin belirlenmesi 2 şekilde olmaktadır:

1. Patlama basıncı
2. Gerilme direnci

Patlama basıncı anastomozdan 2-3 gün sonra azalır<sup>52,59</sup>. İnce barsak anastomozlarında patlama basıncı %50, kolon anastomozlarında %35-75 azalmıştır. Bir hafta içinde patlama basıncı preoperatif değere eşitlenir<sup>51,58</sup>. Anastomoz patlaması postoperatif 7. günde sıklıkla anastomoz dışı bölgeden olur<sup>48,51,59</sup>. Kolonik duvarda patlama basıncı ve kollajen içeriği arasında ilişki yoktur<sup>59</sup>.

Gerilme kuvveti postoperatif ilk 4 hafta boyunca anastomoz alanında oluşur<sup>59</sup>. Gerilme kuvveti yeni oluşan kollajen ile ilişkilidir<sup>59</sup>. Tüm gastrointestinal anastomozlarda cerrahi sonrası ilk 3 gün orjinal gerilim azalır. Gerilme kuvvetindeki azalma; özefagusta %4, midede %60, gastroduodenostomide %64, duodenumda %80, ince barsakda %70-80, ileokolostomide %80, kolonda ise %72-95 dir. Gerilme kuvveti patlama basıncından daha geç normale döner. Gerilme kuvveti 10. günde %50 oranında eski değerine ulaşır<sup>59</sup>.

### **Kolon Anastomozu İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Genel olarak yara iyileşmesini etkileyen tüm faktörler kolon anastomozu iyileşmesini de etkiler. Ek olarak ;

1. Cerrahi teknik
2. Ameliyat öncesi barsak hazırlığı
3. Anastomoz kanlanması
4. Lokal enfeksiyon

## 5. Hastanın mevcut hastalığı

**1. Cerrahi teknik:** Uygun olmayan cerrahi teknik erken dönemde anastomoz kaçağına neden olmaktadır. Postoperatif 1-3. günler arası anastomoz sağlamlığını sağlayan en önemli etken sütürlerdir. Kollagen konsantrasyonu çift kat sütürlerde tek kat sütürlere göre daha belirgin azalır<sup>47</sup>. Patlama basıncı her iki sütür tekniğinde de aynıdır. İnverting teknik everting tekniğe göre daha üstün bulunmuştur<sup>47</sup>. Anastomozlarda kullanılan tüm sütür materyalleri yabancı cisim reaksiyonu ile inflamasyona neden olur. İnflamasyon; stapler ve monofilament sentetik sütür materyali kullanıldığında en azdır. İnflamatuvar reaksiyon sentetik materyale göre katgüt ve ipek kullanımında oldukça fazladır<sup>45</sup>. Polyglycolic asit dışındaki multiflament sütür materyalleri monofilamentlere göre daha fazla yara yeri enfeksiyonuna neden olur<sup>45</sup>.

**2. Ameliyat öncesi barsak hazırlığı:** Elektif kolon cerrahisi öncesi kolon hazırlığı rutin olarak yapılmaktadır. Acil şartlarda kolon hazırlığı olmadan yapılan anastomozlarda kaçak sıklığı artmaktadır.

**3. Anastomoz kanlanması:** Normal anastomoz iyileşmesi için kanlanma ve oksijenizasyonun iyi olması gerekir. Eğer  $PO_2$  25mmHg altında ise fibroblast proliferasyonu durur. 20 mmHg altında ise enerji metabolizması bozulur<sup>45</sup>. Moleküler oksijen; intramoleküler çapraz bağlar ve molekülün son şekli için gerekli olan kollajendeki lizin ve prolin hidrosilasyonunda çok önemlidir<sup>45,47</sup>. Kollajen sentezi kanın oksijen taşıma kapasitesinden ziyade  $PO_2$  ile ilişkilidir. Çünkü orta derece normovolemik anemide dokuya oksijen sunumu ve yara iyileşmesi bozulmaz. Hipovolemi yaraya oksijen sunumunu azaltır ve iyileşmeyi geciktirir<sup>45</sup>. İntraoperatif dolaşan kan volümünün %10'luk kaybı postoperatif 3. günde kolonik ve ileokolik anastomozda anlamlı derecede kollajen azalmasına neden olmuştur<sup>60</sup>.

**4. Lokal enfeksiyon:** Enfekte gastrointestinal anastomozda kollajen birikimi bakteriyel kollajenazlar nedeniyle azalır<sup>35,45</sup>. Preoperatif ve postoperatif antibiyotik tedavisi ve mekanik temizlik histolojik iyileşmeye ve kolonda anastomoz gerilim kuvvetine olumlu olarak etki eder<sup>45,61</sup>.

**5. Hastanın mevcut hastalığı:** Yara iyileşmesini bozduğu bilinen diabetes mellitus gibi sistemik hastalık varlığı, hasta tarafından kullanılan steroid, immünosüpresifler anastomoz iyileşmesini bozar. Ayrıca ileri yaş,



beslenme durumunun bozuk olması, malignite varlığı, radyoterapi veya kemoterapi kullanımı anastomoz iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir.

### **Lipopolisakkarit Antijeni (LPS)**

Bakteriye ait LPS Gram-negatif bakterilerin (örnek: E. Koli, salmonella enterika) hemen hepsinde bulunur ve en önemli dış yüzey membran bileşenidir. LPS'nin kimyasal yapısında polisakkarit ve fosfolipit olmak üzere iki alan bulunmaktadır. Polisakkarit alan O-spesifik halka ve çekirdek bölgeden oluşmaktadır. Fosfolipit alan ise lipit A'dan oluşup LPS'nin bakteri duvarına sıkıca bağlanmasını sağlamaktadır ve toplam membran yüzeyinin %75'ini oluşturmaktadır<sup>62-64</sup>. Lipit A bölgesi, memeli türlerindeki endotoksisiteyi belirleyen LPS'nin asıl immünstimülatör merkezini temsil etmektedir<sup>65-67</sup>.

LPS insanın da dahil olduğu farklı ökaryotik türlerde doğuştan gelen veya doğal immünitenin çok güçlü uyarıcıları olarak etki etmektedir. Memeli immün sistemindeki myeloid nesil hücreler LPS'nin asıl hücre sel algılayıcılarıdır. Bu hücreler doğuştan veya doğal immünite fagositleri olan periferel monositler, doku makrofajları, nötrofiller ve dentritik hücrelerdir. Endotoksin, hepatositlerde üretilen moleküler ağırlığı 58 kilodalton olan lipoprotein bağlayıcı protein (LBP) ile birleşir<sup>68,69</sup>. LBP, bir akut faz cevap proteindir<sup>70</sup>. Bu yapı, monosit, makrofaj, lenfosit gibi hücrelerin yüzeyinde bulunan molekül ağırlığı 53 kilodalton olan CD14 molekülü ile birleşir<sup>71,72,73</sup>. Konakçı hücrelerdeki CD14 molekülü glikozilfosfoinozitol yapısında bir reseptördür<sup>73,74,75</sup>. Bu birleşme sonucu, hücre içinde bir sinyal yapımı ortaya çıkar, nükleustaki NF-κB aktive olur. TNF-α, IL-8 ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu artar. Oluşan hücre içi sinyalin şiddeti yüksek olup, ortalama 1-20 dakika sürmektedir<sup>76,77,78</sup>.

LPS fagositleri, kompleman sistemi gibi humoral serum proteaz kaskadını aktive eder, T ve B lenfositleri uyararak spesifik antikor oluşumuna neden olur. Aktive olan makrofajlardan lipid mediatörler (platelet aktive edici faktör, lökotrien C4, tromboksan A2 ve prostoglandin E2), reaktif oksijen türleri (süperoksit-anyon, hidroksil radikali ve nitrik oksit) ve sitokin/kemokinler (TNF-α, IL-1β, IL-12, IL-18, GM-CSF, IL-10) salgılanmaktadır<sup>79</sup>. Bu salgılanan mediatörler dengeli fizyolojik düzeylerde olursa fizyolojik etkiler (orta derece ateş, mikroorganizmaların öldürülmesi, antiviral immünstimülasyon ve antitümöral immün aktivasyon), kontrolsüz patolojik düzeyde olursa patolojik

sonuçlar (titremeli yüksek ateş, hipotansiyon, yaygın damar içi koagülasyon, tromboz, multiorgan disfonksiyonu, multiorgan yetmezliği ve ölümcül şok) ortaya çıkar<sup>79</sup>. Sitokinlerin etkisi ile septik şokun klinik belirtileri ortaya çıkmaktadır. Hayvan ve insanlarda LPS enjeksiyonunu takiben bütün bu klinik belirtilerin ortaya çıkması, sepsis sendromunda LPS'nin önemini gösteren ciddi bir kanıttır<sup>75,76,80-82</sup>. Bu etkiler haricinde LPS vasküler endotel hücreleri, düz kas hücreleri, epitel hücreleri ve fibroblastları da aktive eder<sup>83-85</sup>.

Endotoksin, intrinsek ve ekstrinsek pıhtılaşma yollarını harekete geçirerek, PAF ile trombositleri etkin hale getirerek ve prostaglandin salınımını sağlayarak intravasküler koagülasyona neden olmaktadır. Karaciğer, böbrek, gastrointestinal sistem, akciğer gibi hayati organlarda hücresel düzeyde olumsuz etkiler yapmaktadır. Karaciğerde hepatosellüler nekroz odaklarına, trombozise, hidropik ve vaküoler dejenerasyonlara, sinüzoidal ve portal inflamasyonlara yol açmaktadır<sup>86-95</sup>. Endotoksemiden 6 saat sonra pulmoner makroskopik hemorajiler görülür. Ayrıca pulmoner damarlarda mikrotrombüsler, lenfosit, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu endotoksine bağlı olarak saptanan diğer histolojik bulgulardır<sup>96</sup>. Ratlara parenteral endotoksin uygulanırsa, gastrik erozyonlar ve submukozal hemorajiler ortaya çıkar<sup>89</sup>. Endotoksin kökenli gastrik erozyonların histolojik incelemelerinde, mukozal damarlarda mikrovasküler fibrinöz mikrotrombüsler gözlenir<sup>91,97</sup>. Endotoksinin etkilediği bir diğer organda böbreklerdir. Endotoksin böbreklerde vazokonstrüksiyon yapar, kan akımını korteksten medullaya doğru kaydırır, intravasküler trombozise neden olup peritübüler fibrin depolanmasına yol açar<sup>78,92,95-99</sup>.

LPS uygulama yoluna ve dozuna bağlı olarak mikrobiyal ve viral enfeksiyonlara, neoplastik hastalıklara karşı genel immün direnci artırabilmekte, antijene spesifik immün yanıtı güçlendirmekte veya Gram-negatif bakteriyemi ve endotoksemiye bağlı sepsisin ciddi patolojik semptomlarını ortaya çıkarabilmektedir<sup>27-29,100</sup>. LPS Gram-negatif bakteri enfeksiyonları için mükemmel bir model maddedir ve bakteriyel enfeksiyonları taklit etmek ve onların immün uyarıcı fonksiyonlarını değerlendirmek için kullanılmaktadır<sup>101</sup>. LPS uygulaması ile septik peritonit, sepsis ve septik şok oluşturulabilmekte, sistemik inflamatuvar yanıt, multiorgan disfonksiyonu ve ölüm oluşabilmektedir<sup>101</sup>.

## **L-Karnitin**

L-Karnitin dietle alınır ve organik katyon taşıyıcısı(OCTN2) ile lümenenden absorbe edilir<sup>102,103</sup>. L-Karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin hücre sitoplazmasından  $\beta$ -oksidasyonun gerçekleştiği mitokondriye transportunda esansiyel endojen faktördür<sup>104</sup>. Beta( $\beta$ ) oksidasyon yoluyla adenzintrifosfat(ATP) üretimini düzenleyerek hücre metabolizmasında anahtar rol oynar<sup>105-107</sup>.İnsanlarda karnitinin %90'dan fazlası iskelet kasında bulunur. Karnitin yetişkinler için esansiyel olmadığı düşünülmektedir. Kırmızı et ve süt ürünlerinde karnitin yüksek oranda bulunur<sup>108</sup>.

L-Karnitin süperoksit temizleyici, antioksidan ve DNA bölünme koruyucusudur<sup>109</sup>. Anti-iskemik etkisi ve hücre membranlarını stabilize edici etkisi bulunmaktadır<sup>110</sup>. L-Karnitin'in karaciğer, kalp, böbrek iskelet kası, spinal kord ve cilt flepleri ile ilgili yapılan deneysel iskemi ve reperfüzyon modellerinde iskemik hasarı azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir<sup>104,110-114</sup>.

Karnitin intestinal inflamasyonu azaltıcı etkiye sahiptir<sup>115</sup>. L-Karnitinin kolonositlerdeki fizyolojik bütirat  $\beta$  oksidasyonun devamı için hız sınırlayıcı bir faktördür ve deneysel kolitte karnitinle dolu lipozamları intrarektal verilmesi koruyucu etki göstermiştir<sup>116</sup>. Bununla beraber, kolonik fonksiyondaki lokal rolüne rağmen, sistemik L-karnitin, kaşeksi ve septik şok sırasında murine sağkalımını geliştirerek ve LPS indükleri sitokin üretimini baskılayarak immünsüpresif etki gösterir<sup>117</sup>. İnsan polimorfonükler lökositler(PMNL) stafhilokok aerous stimülasyonlu TNF- $\alpha$  üretimini de baskılamaktadır<sup>118</sup>. Karnitin aynı zamanda mitokondri içi açılkoenzim A/koenzim A oranının modülasyonunda rol oynamaktadır<sup>119</sup>. Glukoz kullanımında karnitin, açılkoenzim A/koenzim A oran pirüvat dehidrogenazın regülatörü olduğundan rol oynar<sup>120</sup>. Karnitin indirekt olarak glikolitik yolağı aktive eder ve mitokondriyel enerji üretimini artırır<sup>114</sup>. Karnitin yara iyileşmesini başarılı bir şekilde artırır. Ayrıca, karnitin iskemik kartilaj dokuda ve sekonder yara iyileşmesindeki yararlı etkisi Koybasi<sup>121</sup> ve Pata<sup>122</sup> tarafından gösterilmiştir.

## **Malondialdehit (MDA)**

Hidroksil radikalleri hücre ve organel membranlarındaki lipidler ile çift bağ yapar ve oluşan lipid-radikal etkileşimi ile bir dizi reaksiyon gelişir. Bunun sonucunda malondialdehit, dien konjugatları gibi birçok lipid peroksidasyon

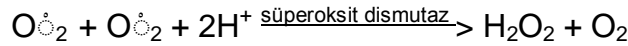
ürünü oluştur<sup>123</sup>. MDA lipid peroksidasyonun son ürünüdür ve oksidatif hasarın bir indikatörüdür. MDA oluşum yerinden kolayca diffüze olarak membran yapısındaki lipid ve proteinlere çapraz bağlanarak membran bütünlüğünü bozar, bu da membran permeabilitesinin bozulmasına neden olur. Birçok değişik organ sistemleri üzerinde iskemi/reperfüzyon modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda MDA düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir<sup>124-126</sup>.TBA reaktivitesi ile MDA ölçümü lipid peroksidasyonun değerlendirilmesi için en sık kullanılan yöntemdir<sup>125</sup>.

### **Miyeloperoksidaz (MPO)**

MPO polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonunun indeksi olduğu bilinmektedir. PMNL'ler potansiyel serbest oksijen radikalleri (SOR) kaynağı olup oksidatif stres hasarının gelişmesinde majör bir rol oynarlar. Deneysel çalışmalarda MPO düzeylerinin İ/R hasarı, yanık ve sepsis gibi değişik inflamatuvar süreçlerde arttığı gösterilmiştir<sup>128</sup>.

### **Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD, bir oksidan olan süperoksit radikalinin hidrojenperoksite dönüşümünü hızlandırarak, süperoksit radikalini ortadan kaldırır<sup>129</sup>.



SOD hücrelerde iki şekilde bulunur; birisi primer olarak sitoplazmada bulunur bakır ve çinko ihtiva eder, diğeri de manganez içeren mitokondriyal SOD'dır<sup>130</sup>. SOD, süperoksit anyonların hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizler. Hidrojen peroksit de, glutatyon peroksidaz ve katalaz ile metabolize edilir. Glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz tarafından katalizlenip oluşan indirgenmiş glutatyonu, okside glutatyon haline dönüştürür<sup>131</sup>. SOD antioksidan etkiye sahiptir.

### **Nitrik Oksit (NO)**

NO renksiz bir gazdır, kısa ömürlüdür ve hücrel üretim yerinin direkt olarak österilmesi mümkün değildir<sup>132,133</sup>. Geniş biyolojik, kardiyovasküler, nörolojik ve immun fizyolojik etkisi olan bir serbest radikaldır<sup>135,135</sup>. NO'nun oksijenasyonu, nitrit ve nitrat stabil metabolitler oluşması ile sonuçlanır<sup>136</sup>. Nitrik oksit sentaz (NOS)'un üç izoenzimi tarafından üretilir, iki tipten oluşur; kasiyum

bağımlı tip(endotelyal ve nöral, ikisi bir cNOS'dur) diğeri de kalsiyum bağımsız tiptir ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olarak bilinir<sup>137</sup>. İNOS oluşumu proinflamatuvar sitokinlere ve çeşitli hücrelerden (nötrofiller, monositler, makrofajlar, T lenfositleri, vasküler düz kas hücreleri ve lenfositler) bazı bakteriyel ürünlerin salınımı ile oluşur. Ancak, insan inflamatuvar hücrelerinden NO salınımı için ihtiyaç duyulan şeyler halen tartışmalıdır<sup>138</sup>. LPS ile indüklenen sepsis dahil immun veya inflamatuvar değişiklikler İNOS'u bağırsakta indükler<sup>139</sup>. İNOS, cNOS'tan daha büyük miktarlarda nitrik oksit salar<sup>140</sup>. NO sepsis esnasında veya mukozal enfamasyon esnasında sitotoksik düzeye ulaşır<sup>141</sup>. NO fibroblast fonksiyonunda ve kütanöz yara kollejeni sentezinde önemli ancak tam olarak anlaşılmamış bir rol almaktadır. İNOS gene ekspresyonu kolon yara iyileşmesinde uyarılmaktadır ve iyileşmenin bütün fazlarında bulunmaktadır, iNOS aktivitesi optimal iyileşme için gerekmektedir<sup>142</sup>. İNOS kolon anastomozu iyileşmesinde etkilidir; sepsiste İNOS artar ve sonucunda da anastomozda iyileşme azalır<sup>143</sup>.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneysel çalışma protokolü Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nda onaylandıktan (15.01.2010 tarih 2010/06 sayı) sonra deney hayvanları üzerindeki çalışmalar Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmada kullanılan Wistar Albino tipi ratlar MEÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Üretim Birimi'nden temin edildi. Çalışmada ağırlıkları 143–250 gr arasında değişen 40 adet erkek rat kullanıldı. Çalışma süresince ratlar 24°C oda ısısında ve 12/12 saatlik gece gündüz siklusunda tutuldu ve kısıtlama yapılmadan standart rat yemi ve su ile beslendi.

### **Sepsis modeli**

Sepsis modeli Diller<sup>15,144</sup> ve arkadaşlarının uyguladığı şekilde 2 mg/kg LPS'nin kolon anastomozundan 18 saat önce intraperitoneal olarak verilmesiyle oluşturulmaya çalışıldı.

### **Deney Grupları**

**Kolon Anastomozu (KA) Grubu, (rat sayısı:10):** Ratlara laparotomiden 18 saat önce LPS gruplarına verilecek LPS hacmi kadar miktarda serum fizyolojik (2.27 ml/kg) intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. Yine LPS gruplarına sıvı resusitasyonu amacıyla verilecek hacimde (5 ml/kg) serum fizyolojik subkutan (s.k.) olarak deneyin başlangıcında bir kere verildi. Daha sonra ratlara Karnitin kullanılan gruptaki Karnitin hacminin ilk dozu kadar miktarda (0.5ml/kg) serum fizyolojik s.k. olarak laparotomiden 12 saat önce ve laparotomiden hemen önce verildi. Ratlara cerrahi işlem olarak kolon anastomozu yapıldı. Cerrahi işlemden sonra da 12 saatte bir 0.5 ml/kg serum fizyolojik 7 gün boyunca s.k. olarak ratlara sakrifiye edilene dek verilmeye devam edildi. Bu grup KA'da ortaya çıkan değişiklikleri göstermek için oluşturuldu.

**Lipopolisakkarit + Kolon Anastomozu (LPS + KA) Grubu, (rat sayısı: 10):** Ratlara laparotomiden 18 saat önce 2 mg/kg LPS (E. Coli 055:B5 serotip SİGMA I–2880; toz halinde temin edilen LPS 8,8 mg/10 ml olacak şekilde serum fizyolojik ile sulandırılarak enjeksiyon için hazırlandı) 2,27 ml/kg olacak şekilde i.p. olarak verildi. Sıvı resusitasyonu amacıyla 5 ml/kg serum fizyolojik s.k. olarak deneyin başlangıcında bir kere verildi. Daha sonra ratlara Karnitin

kullanılan gruptaki Karnitin hacminin ilk dozu kadar miktarda (0,5 ml/kg) serum fizyolojik s.k. olarak laparotomiden 12 saat önce ve laparotomiden hemen önce verildi. Ratlara cerrahi işlem olarak kolon anastomozu yapıldı. Cerrahi işlemden sonra da 12 saatte bir 0,5 ml/kg serum fizyolojik 7 gün boyunca s.k. olarak ratlara sakrifiye edilene dek verilmeye devam edildi. Bu grup LPS ortamında yapılan KA'da ortaya çıkan değişiklikleri göstermek için oluşturuldu.

**Kolon Anastomozu + Karnitin (KA + Karnitin) Grubu, (rat sayısı: 10):**

Ratlara laparotomiden 18 saat önce LPS gruplarına verilecek LPS hacmi kadar miktarda serum fizyolojik (2,27 ml/kg) i.p. olarak verildi. Yine LPS gruplarına sıvı resusitasyonu amacıyla verilecek hacimde (5 ml/kg) serum fizyolojik s.k. olarak deneyin başlangıcında bir kere verildi. Daha sonra ratlara 100 mg/kg (0,5 ml/kg) L-Karnitin (Carnitene [L-carnitine], Santa Farma İlaç Sanayii. A.Ş. İstanbul, Turkey) s.k. olarak laparotomiden 12 saat önce ve laparotomiden hemen önce verildi. Ratlara cerrahi işlem olarak kolon anastomozu yapıldı. Cerrahi işlemden sonra da 12 saatte bir 100 mg/kg (0,5 ml/kg) Karnitin 7 gün boyunca s.k. olarak ratlara sakrifiye edilene dek verilmeye devam edildi. Bu grup Karnitin tedavisi ile KA'da ortaya çıkan değişiklikleri göstermek için oluşturuldu.

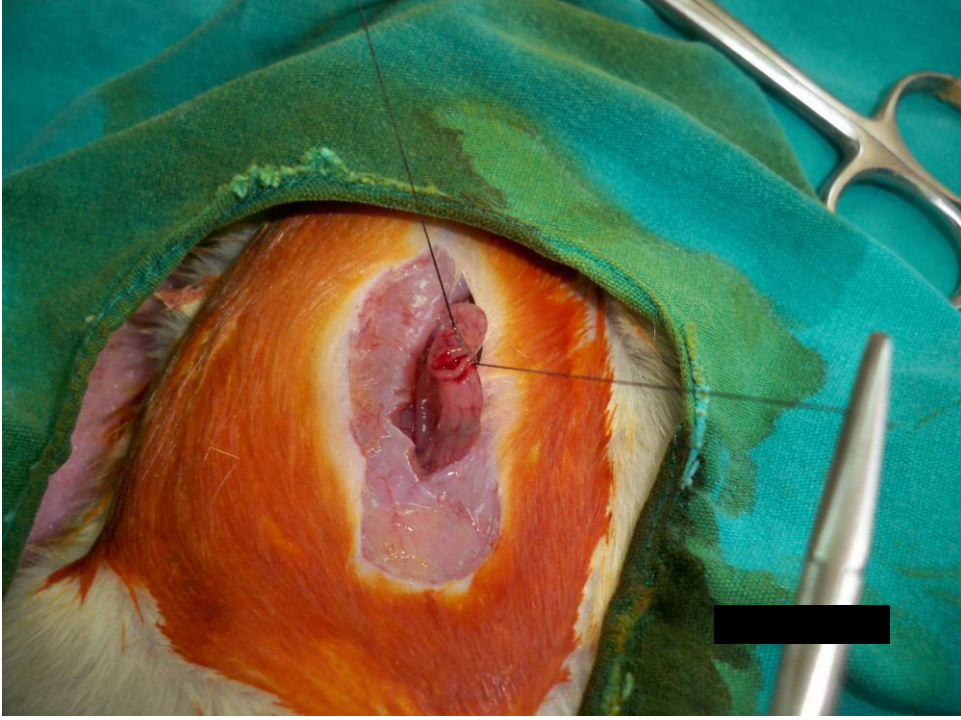
**LPS + Kolon Anastomozu + Karnitin (LPS + KA + Karnitin) Grubu,**

**(rat sayısı: 10):** Ratlara laparotomiden 18 saat önce 2 mg/kg LPS 2,27 ml/kg olacak şekilde i.p. olarak verildi. Sıvı resusitasyonu amacıyla 5 ml/kg serum fizyolojik s.k. olarak deneyin başlangıcında bir kere verildi. Daha sonra ratlara 100 mg/kg (0,5 ml/kg) Karnitin s.k. olarak laparotomiden 12 saat önce ve laparotomiden hemen önce verildi. Ratlara cerrahi işlem olarak kolon anastomozu yapıldı. Cerrahi işlemden sonra da 12 saatte bir 100 mg/kg (0,5 ml/kg) Karnitin 7 gün boyunca s.k. olarak ratlara sakrifiye edilene dek verilmeye devam edildi. Bu grup LPS ortamında yapılan KA'da Karnitin tedavisinin ortaya çıkardığı değişiklikleri göstermek için oluşturuldu.

**Cerrahi Model**

Ratlar yapılacak cerrahi operasyondan 12 saat önce aç bırakıldı; bu süre içinde yalnız sıvı alımına izin verildi. Cerrahi operasyondan sonra ratların beslenmesi serbest bırakıldı. İntramusküler (i.m.) Ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı Warner Lambert İlaç AS, İstanbul, Turkey) (50 mg/kg) ve Ksilazin 10mg/kg ile

indüksiyonun ardından ratların karın bölgesi %1 povidon–iodin ile temizlendikten sonra steril örtünmeyi takiben karına orta hat laparotomi yapıldı. Laparotomi sonrası, kolon anastomozundan hemen önce ratların vena kavasından serumda TNF- $\alpha$  düzeyi bakmak için 1 ml kan alındı. Bütün ratlara peritoneal refleksiyonun 3 cm üzerinden lümeni çepeçevre içeren kolotomi ve aynı yerden Gambee suture tekniği ile uç-uca anastomoz işlemi yapıldı (Resim 1). Cerrahi sonrası ratların karnı 4/0 ipek suturelerle kapatıldı. Cerrahi işlemden hemen sonra cerrahi işlem sırasındaki sıvı kayıplarını yerine koymak amacıyla 5 ml/100gr serum fizyolojik s.k. olarak verildi. Cerrahi işlemler sırasında ratlar lamba ile ısıtıldı. Cerrahi sonrası analjezi amacıyla 2,5 mg/kg flunixin i.m. yapıldı.



**Resim 1.**İnen kolona kesi sonrası anastomoz

Kolon anastomozundan 168 saat (7 gün) sonra 50 mg/kg Ketamin i.m. ve 10 mg/kg Ksilazin i.m. ile indüksiyonun ardından ratların toraks ve karın bölgesi %1 povidon–iodin ile temizlendikten sonra steril örtünmeyi takiben torakotomi ve laparotomi yapılarak kan ve doku örnekleri alındı. Toraks açılarak biyokimyasal analizler için intrakardiyak ponksiyonla kan alındı; servikal dislokasyonla ratlara sakrifikasyon yapıldı. Kolon anastomozu çevresi



yapışıklık, abse, anastomoz yetmezliği ve kaçak yönünden makroskopik olarak değerlendirildi. Daha sonra kolon anastomozunu içeren 5 cm'lik kolon segmenti rezeke edildi ve anastomoz patlama basıncı ölçüldü. Çıkarılan kolon segmentinin yarısı biyokimyasal analiz, diğer yarısı histopatolojik inceleme için ayrıldı.

### **Doku ve Kan Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması**

Patlama basıncı ölçüldükten sonra anastomozu içeren kolon segmenti anastomoz hattına dikey olacak şekilde ikiye bölündü. Bir parça histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehitte tespit edildi. Diğer parça dokuda yapılacak biyokimyasal değerlendirmeler için alüminyum folyoya sarılarak sıvı nitrojende donduruldu ve ölçüm gününe kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Deneklerden intrakardiyak kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri hemogram ve biyokimya tüplerine bölüştürüldü. Biyokimya tüpüne alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 10 dakika santrafüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Serum örnekleri ölçüm yapılmaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### **Değerlendirmede Kullanılan Grup Karşılaştırmaları**

LPS'in KA'da ortaya çıkardığı farkı saptamak için KA - LPS + KA karşılaştırması yapıldı. Karnitin'in KA'da ortaya çıkardığı farkı saptamak için KA - KA + Karnitin karşılaştırması yapıldı. LPS ve Karnitin arasındaki farkı saptamak için LPS + KA - KA + Karnitin karşılaştırması yapıldı. Karnitin'in LPS ortamında ortaya çıkardığı farkı saptamak için LPS + KA - LPS + KA + Karnitin karşılaştırması yapıldı.

### **Değerlendirme Parametreleri**

#### **Ratların Ağırlık Değişimi**

Deneyin başlangıcından itibaren düzenli olarak her gün sabah ratların ağırlıkları hassas tartı aleti ile tartıldı ve ağırlık değişimleri belirlendi.

#### **Kolon Anastomoz Çevresi Değerlendirilmesi**

Kolon anastomozundan sonra 7. gün deneyin sonunda laparotomi yapıldığında ratların kolon anastomozu çevresi yapışıklık, abse, anastomoz yetmezliği ve kaçak yönünden makroskopik olarak değerlendirildi.

Yapışıklığı derecelendirme tekniği: Yapışıklıklar derecelendirilirken deney ile ilişkisi olmayan iki hekime konsulte edildi. Hangi grupları değerlendirdiklerini bilmeden Leach<sup>145</sup> ve arkadaşlarının derecelendirme sistemine göre (Tablo 1)

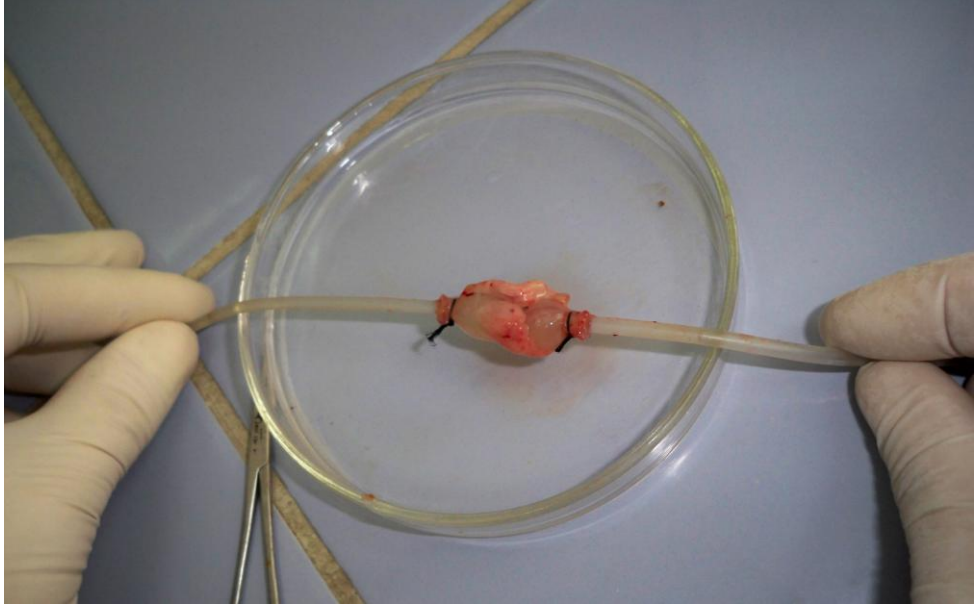
yapışıklıkları derecelendirmeleri istendi. Daha sonra iki ayrı değerin ortalaması alındı.

**Tablo 1.** Leach ve arkadaşlarının<sup>145</sup> yapışıklık skorlama sistemi.

Skor	Tip	Direnç	Yaygınlık(%)
1	Yapışıklık yok	-	-
2	İnce yapışıklıklar	Kolay ayrılan	1-25
3	Sert yapışıklıklar	Traksiyon gerektiren	26-50
4	Keskin diseksiyon gerektiren	Sert diseksiyon gerektiren	51-75
5	Daha ileri derecede yapışıklık	Daha ileri derecede yapışıklık	76-100

#### **Anastomoz patlama basıncı**

Patlama Basıncının Ölçülme Tekniği: Yedinci günde yapılan laparotomi sırasında sol kolondan 5 cm'lik segment (anastomozun proksimal ve distalinden 2.5 cm) rezeke edildi. Çıkarılan segmentin distali 2/0 ipek suturele bağlandı. Sekiz ayar silikon katater proksimal uçtan geçirilip 2/0 ipek ile bağlandı (Resim 2). Silikon kataterin diğer ucu basınç transducer'ına bağlandı. Patlama basıncı ölçümü için şırınga pompasıyla (62-HF-0267-00, Abbott, Chicago, USA) 2 ml/dk'dan serum fizyolojik infüzyonu yapıldı. Basınç disposable basınç transducer'ı ile monitorize edilip Hewlett-Packard recorder (Biopac MP-100 Acquisition System, Version 3.5.7 Santa Barbara, USA) ile kaydedildi (Resim 3). Kaçağın oluştuğunu gösteren pik basınç (mmHg); patlama basıncı olarak değerlendirildi.



**Resim 2.** Anastomoz patlama basıncı ölçüm tekniği.



**Resim 3.** Patlama basıncı ölçüm düzeneği.

### **Biyokimyasal incelemeler**

Biyokimyasal incelemeler kan ve doku örnekleri üzerinde yapıldı. Kanda hemogram ile lökosit sayımı yapıldı. Ayrıca serum TNF- $\alpha$  düzeyi cerrahi işlemde hemen önce ve deney sonunda alınan kan örneklerinde çalışıldı. Anastomozu içeren kolon dokusunda malondialdehit (MDA), miyeloperoksidaz (MPO), süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, nitrit, nitrat, hidroksiprolin, TNF- $\alpha$  düzeyi çalışıldı.

**Kanda hemogram ölçümü:** Tam kan sayımı, Sysmex XT 2000İ cihazı ile bakıldı. Lökosit sayısı 1000/ $\mu$ L olarak verildi.

**Doku MPO ölçümü:** Tüm dokular tartıldı. 300 mg dokuya 5 ml. 0.02 M EDTA (pH:7.4) hesabıyla doku miktarına göre EDTA konularak 60 saniye homojenize edildi. Homojenatın 1.5 ml'si 20.000 devirde (15 dakika +4°C'de) santrafüje edildi, süpernatant atıldı. 0.05 M KPO<sub>4</sub> (pH:6) tamponu içinde %0.5 HETAAB (Hekza Adezil Trimetil Amonyum Bromid) hazırlandı. Pellet 1,5 ml HETAAB ile yeniden homojenize edildi. Homojenat 20.000 devirde tekrar (15 dakika +4°C'de) santrafüje edildi, süpernatant çalışma için alındı.

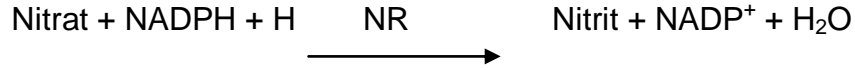
Doku örneklerindeki MPO düzeyleri Golowich<sup>146</sup> ve ark.'nın geliştirdikleri yöntemle göre saptandı. Yöntem hidrojen peroksitin homojenat ve serumdaki MPO tarafından oksitlenerek o-dianozidini redüklemesi ve redükte o-ianozidinin 410 nm'de ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Bulunan sonuçlar U/gr olarak verildi.

**Doku MDA ölçümü:** Tüm dokular tartıldı. Doku ağırlıkları 50 mg. dokuya 500  $\mu$ L 0.15 M KCl eklenerek homojenize edildi. Doku örneklerindeki MDA düzeyleri Yagi.<sup>127</sup> ve ark.'nın geliştirdikleri yöntemle göre saptandı. Aerobik şartlarda homojenatın pH:3.4'de tiyobarbitürik asit ile 95°C'de inkübasyonu sonucu eğer lipid peroksidasyonu var ise bunun sekonder bir ürünü olan malondialdehit oluşur. Oluşan MDA tiyobarbitürik asit ile pembe renkli bir kompleks oluşturur. Bu renk şiddetinin 532 nm.'de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipid peroksidasyonu saptanır. Bulunan sonuçlar nmol/gr olarak değerlendirildi.

**Doku SOD aktivitesi ölçümü:** 100 mg doku 1ml serum fizyolojikte homojenize edilerek hazırlandı ve homojenat SOD düzeyleri Durak<sup>147</sup> ve ark.'nın geliştirdiği yöntemle göre çalışıldı. Bu yöntemle göre, Ksantin- ksantin oksidaz sistemi ile süperoksit radikali üretilir. Ortamda yüksek süperoksit radikali NBT'yi (nitroblue tetrazoluim) redükler ve mavi renk oluşur. Ortamdaki SOD miktarına göre süperoksit radikalin ortamdaki kalkması ve NBT redüksiyonunun inhibe olması mavi rengin şiddetinde azalmaya neden olur. Yöntem bu prensibe dayanmaktadır. Sonuçlar U/mg t.protein olarak değerlendirildi.

**Doku Nitrit-Nitrat ölçümü:** 100 mg doku 1ml fosfat buffer (ph: 7) ie homojenize edildi ve elde edilen homojenat çalışma için kullanıldı. Bu çalışmada nitrit ve nitrat ölçümleri nitrit-nitrat kolorimetrik assay kiti (Nitrite / Nitrate colorimetric method, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) kullanılarak yapıldı.

Nitrojen monoksit biyolojik sıvılarda nitrit olarak tespit edilmektedir. Örnekte mevcut olan nitrat ise NADPH varlığında nitrat redüktaz (NR) enzimiyle nitrite redüklenir.



Oluşan nitrit ise sülfanilamid ve N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorid ile reaksiyona girerek kırmızı viole diazo boyası meydana getirir. Oluşan bu rengin şiddeti ise spektrofotometrik olarak, 540 nm dalga boyunda ölçülür.

Koenzim tabletlerinin hazırlanması: Her birinde 0,5 mg NADPH ve 0,01 mg FAD içeren tabletler potasyum fosfat tamponu ile steril bir düz biyokimya tüpü içerisinde çözüldü. 1 adet tablet için 3 ml tampon kullanılacak şekilde bu miktar örnek sayısına göre ayarlandı. Bu işlem çalışmadan hemen önce yapıldı.

Nitrat redüktaz hazırlanması: 4 ünite liyofilize enzim içeren bir şişe 0,7 ml redistile su ile çözüldü. Enzim çözünmüş şekli ile +4°C'de 2 hafta dayanabilmektedir.

Sülfanilamid ve N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorid boya ile potasyum fosfat tamponu kit içinde hazır olarak bulunmakta idi.

Yöntem:

Nitrit ölçümü için tüm örnekler ve standartlar aynı yöntemle çalışıldı. Tüplere 500 µl serum örneği ve üzerine 270 µl distile su eklendi. Ayrıca çalışma körü hazırlamak için örnek yerine aynı miktarda distile su konuldu. Tüpler iyice karıştırıldı, oda ısısında 30 dakika inkübe edildikten sonra enzim linked immunoassay (ELISA) okuyucusunda (Organon Teknika microwell system reader 230 S) 540 nm dalga boyunda çalışma körüne karşı örneklerin absorbansları okundu. Bu işlem ile örnek körünün absorbans değerleri tespit edilmiş oldu (A1). Daha sonra kör ve örnek tüplerine önce 250 µl sülfanilamid içeren boya reaktifi, ardından 250 µl N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorid içeren boya reaktifi eklendi. Tüm tüpler yine oda ısısında ve karanlıkta 15

dakika inkübasyona bırakıldı. Aynı dalga boyunda tekrar ölçüm yapıldı (A2). İkinci absorbans değerinden (A2) birinci değer (A1) çıkarılarak örnekte başlangıçta bulunan nitrit absorbansı tespit edilmiş oldu.

**Nitrit-nitrat ölçümü:** Çalışmanın bu kısmının amacı örneklerin içerisinde mevcut olan nitratların nitrit haline çevrilmesidir. Tüm tüplere 500 µl serum pipetlendi ve üzerine 250 µl daha önce hazırlanan koenzim ve 20 µl yine daha önce hazırlanan enzim solüsyonları eklendi. Ayrıca çalışma körü hazırlamak için örnek yerine aynı miktarda distile su konularak üzerine koenzim ve enzim solüsyonları eklendi. Tüpler iyice karıştırıldı, oda ısısında 30 dakika inkübe edildikten sonra ELISA okuyucusunda 540 nm dalga boyunda çalışma körüne karşı örneklerin absorbansları okundu. Bu işlem ile örnek körünün absorbans değerleri tespit edilmiş oldu (A1). Daha sonra kör ve örnek tüplerine önce 250 µl sülfanilamid içeren boya reaktifi, ardından 250 µl N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorid içeren boya reaktifi eklendi. Tüm tüpler yine oda ısısında ve karanlıkta 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Aynı dalga boyunda tekrar ölçüm yapıldı (A2). İkinci absorbans değerinden (A2) birinci değer (A1) çıkarılarak, başlangıçta örnek içinde varolan ve inkubasyon sırasında nitratlardan redüklenen total nitrit absorbansları tespit edilmiş oldu.

Total nitrit absorbans değerlerinden nitrit absorbansları çıkartılarak örneklerdeki nitrat absorbans değerleri elde edilmiş oldu. Absorbansların tespitinin ardından nitrit ve nitrat için ayrı ayrı hazırlanmış olan standart eğriler yardımıyla örnek konsantrasyonları hesaplandı. Nitrit ve nitrat konsantrasyonları toplanarak sonuçlar total nitrit+nitrat konsantrasyonu olarak mg/gr doku cinsinden verildi.

**Doku ve serum TNF-α ölçümü:** Doku TNF-α düzeyi için 100mg doku 500 uL doku lizis buffer ile homojenize edildi ve elde edilen doku homojenatında 100ul alınarak TNF-α düzeyleri çalışıldı.

Serum ve doku homojenat TNF-α düzeyi ölçümü solid faz ELISA prensibine dayanan Raybitech firmasının Rat TNF-α (Norcross, USA) hazır ölçüm kiti kullanılarak yapıldı. TNF-α ve düzeylerinin ölçümü amacıyla -20°C 'de muhafaza edilen deney ve kontrol grubunun serumları oda ısısında çözündürüldükten sonra hazır ölçüm kiti kullanılarak yapıldı.

Bunun için ELISA pleytinin standart kuyucuklarına 100 µl standart dilüsyonu ve blank kuyucuğuna 100 µl sadece standart dilüsyonundan, numune kuyucuklarına ise 100 µl serum, konuldu. 2,5 saat oda ısısında bekletildi. Daha sonra dört kez yıkama solüsyonu ile yıkandı ve her bir kuyucuğa 100 µl biotinylated anti-TNF-α konjugat solüsyonu eklenerek oda ısısında Reaksiyonun oluşması için 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Sürenin sonunda her bir kuyucuk 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı, iyice aspire edildi. Daha sonra 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonundan her bir kuyucuğa eklenip 45 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µl stabilize kromojen TMB substrat reagent eklendi ve rengin maviye döndüğü gözlemlendiğinde 30 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edildi. Sürenin sonunda 100 µl stop solüsyonundan her bir kuyucuğa eklendi hafif çalkalayarak rengin sarıya döndüğü gözlemlendi ve TNF-α düzeyleri ELİSA cihazında 450nm 'de okundu ve ölçümler ng/ml olarak verildi.

**Doku hidrokspirolin ölçümü:** Doku hidrokspirolin düzeyleri Far Diagnostik (Italy) ticari kit ile belirlendi. Bu kitin çalışma protokolüne göre çalışıldı. Tartılan doku örnekleri vidalı teflon kapaklı hidroliz tüplere konduktan sonra hidroklorik asit eklenerek 102 °C 'de 16 saat hidrolize edildi. Hidrolizat soğutulduktan sonra sodyum hidrokisit ile nötralize edildi. Nötralize örnek filtre edildi. Bu filtrat kit protokolüne belirli kimyasallar eklenerek elde edilen renk spektrofotometrede 560 nm de optik dansitede okundu. Bulunan mg/L hidrokspirolin düzeylerinden mg /yaş ağırlık olarak hesaplandı.

### **Histopatolojik değerlendirme**

Anastomoz bölgesine ait kolon doku örnekleri bekletilmeden % 10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu ve bu solüsyonda 24 saat süre tespit edildi. Tespit aşamasından sonra üzerine numara yazılmış olan kasetlere yerleştirildi. Değişen derecelerdeki alkol ve ksilollerden geçirilen dokular 56 °C 'ye kadar ısıtılmış parafinde bekletildi. Parafine gömülmüş dokulardan hazırlanan bloklardan mikrotom yardımıyla 5µ kalınlığında kesitler elde edilerek lamların üzerine alındı. Hazırlanan lamlar deparafinize edilip Hematoksilen-eozin (H-E) boyası ile boyanarak preparatlar hazırlandı. Preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskobunda hangi gruplara ait örnekler olduğunu bilmeyen patolog tarafından değerlendirildi.

Barsak anastomoz iyileşmesini evrelemek için Ehrlich/Hunt<sup>148</sup> 'un yara iyileşmesi evreleme sistemi kullanıldı. Bu evreleme sistemine göre anastomoz çevresinde inflamatuvar hücre infiltrasyonu, damar proliferasyonu, fibroblastik proliferasyon ve kollajen birikimi değerlendirildi.

Evreleme sistemi:

0-Hiç bir parametrenin görülmediği olgular.

1-Seyrek inflamatuvar hücre infiltrasyonu içeren olgular.

2-Dağınık inflamatuvar hücre infiltrasyonu, minimal damarlanma artışı ve fibroblastik proliferasyon içeren olgular.

3-Belirgin derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu yoğun damarlanma artışı ve fibroblastik proliferasyon içeren olgular.

4-İnflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damar proliferasyonunda azalmayla birlikte yoğun fibroblastik proliferasyon ve kollajen birikimi içeren olgular.

**İmmünohistokimyasal (İNOS) değerlendirme:** Anastomoz bölgesine ait kolon doku örnekleri bekletilmeden % 10'luk formaldehit solüsyonuna konuldu ve bu solüsyonda 24 saat süre tespit edildi. Tespit aşamasından sonra üzerine numara yazılmış olan kasetlere yerleştirildi. Kesitler 58 °C'de bir gece bekletildi. Daha sonra hidrojen peroksitte 5-7 dakika bekletilip ve distile suyla yıkandı. Ardından Sitrat-Tampon içinde 5x2=10 dakika mikrodalga fırında kaynatıldı. Mikrodalga fırından çıkarılıp 30 dakika soğumaya bırakıldı. Distile suda iki kez yıkayıp, Fosfat tampon çözeltisinde (Phosphat Buffered Solue [PBS]) beş dakika bekletildi. UV blok damlatılıp, 10 dakika bekletildi. Sonra primer antikor (İNOS) damaltılıp 1 saat bekletildi. Tekrar PBS ile yıkanıp, arkasından sarı solüsyon damlatılıp 15 dakika bekletildi ve tekrar PBS ile yıkandı. Pembe solüsyon damaltılıp 5 dakika bekletildi. PBS ile yıkandı. Ardından AEC kromojen (1000 mikrona bir damla) damlatılıp 5-10 dakika bekletildi. Tekrar PBS ile yıkandı. Daha sonra distile su ile yıkandı. Sonra çeşme suyu ile yıkandı. Kurut ve immün kapama maddesiyle kapatıldı. Hazırlanan lamalar deparafinize edilip İNOS boyası ile boyanarak preparatlar hazırlandı. Preparatlar Olympus BX50 ışık mikroskopunda örneklerin hangi gruplara ait olduğunu bilmeyen patolog tarafından değerlendirildi.

Hazırlanan preparatlar Leonard<sup>149</sup> ve ark.'nın kullandığı skorlama sistemine göre değerlendirildi. İNOS immün boyanma skoru boyanma yaygınlığı



ve boyanma şiddetinin skorlarının toplanması ile elde edildi. İNOS skoru inflamasyon mevcudiyet ve derecesini göstermektedir ve artan İNOS skoru inflamasyonun şiddetini yansıtmaktadır. Bu skorlamaya göre:

Boyanma yaygınlığının değerlendirilmesi:

- 0- Boyanma yok
- 1- Fokal boyanma var
- 2- Yaygın boyanma var

Boyanma şiddetinin değerlendirilmesi:

- 0- Boyanma yok
- 1- Soluk boyanma var
- 2- Yoğun, şiddetli boyanma var.

### **İstatistiksel Analiz**

Bütün parametreler için normallik testleri Shapiro-Wilk testi ile test edildi ve parametrelerin normal dağılım gösterdiği gözlemlendi. Normal dağılan parametrelerin tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart sapmaları, normal dağılmayan parametreler için ise medyan ve quartileri verildi. Normal dağılan parametrelere ilişkin Error Bar grafikleri, normal dağılmayan parametreler için Box Plot grafikleri verilmiştir. Tüm parametrelerin önce sonra karşılaştırmaları Paired Sample T testi ile test edildi. Ayrıca tüm normal dağılan parametreler için gruplar arasındaki farklılıklar One-Way ANOVA ile normal dağılmayan parametreler için ise Kruskal Wallis testi ile test edildi. Gruplar arasındaki farklılıklara ait ikili karşılaştırmalar Tukey HSD testi, LSD ve Dunn testi ile test edildi. İstatistik anlamlılık seviyesi olarak  $p < 0.05$  alındı. Analizler SPSS 11.5, Statistica 6.0, MedCalc® 11.0.1 istatistik paket programlarında yapıldı.

## BULGULAR

### Ratların Ağırlık Değişimi

Hayvanlara ait başlangıç (0. gün), 1. gün (KA'dan hemen önce), 8. gün (deney sonu, KA'dan sonraki 7. gün sonu) ağırlıkları ve başlangıca göre 1. ve 8. gündeki ağırlık değişimlerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 2'de verildi. Ayrıca ratların başlangıca göre 1. ve 8. gündeki ağırlık değişimlerinin yüzdesinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 2'de verildi. Ağırlık değişimi değerlendirmesinin daha doğru bir şekilde yapılabilmesi için ağırlık ile ilgili kıyaslamalarda başlangıç günündeki ağırlığa göre değişimin yüzdesi esas alındı.

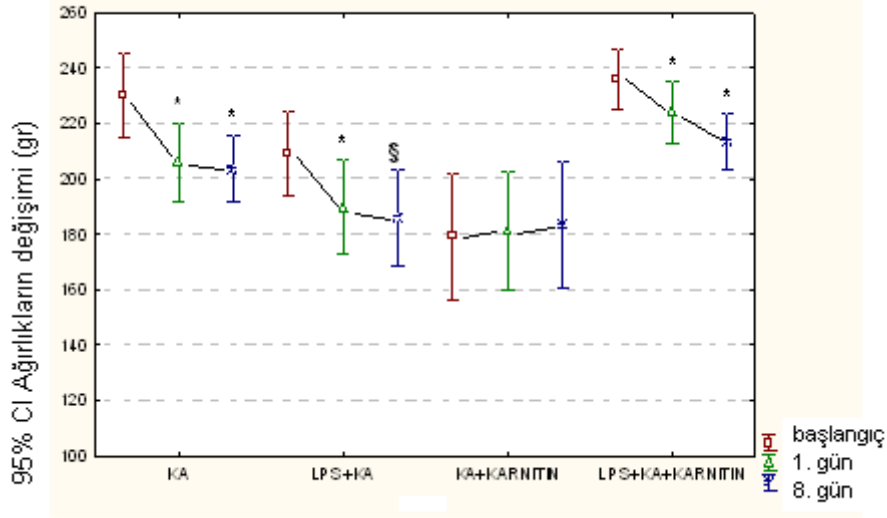
**Tablo 2.** Ratlara ait ağırlık değerleri (gr) ve değişim %'si.

Günler	Gruplar			
	KA	LPS +KA	KA + Karnitin	LPS + Karnitin + KA
Başlangıç (0. gün)	230.33 ± 19.72	209.10 ± 21.67	179.33 ± 29.74	235.67 ± 14.17
1. Gün	206.11 ± 18.43	189.70 ± 23.63	181.22 ± 27.55	224.11 ± 14.45
8. Gün	203.56 ± 15.58	186.00 ± 24.62	183.44 ± 29.10	213.56 ± 13.15
0-1. gün farkı	24.22 ± 4.02	19.40 ± 8.72	-1.89 ± 6.64	11.56 ± 5.53
0-8. gün farkı	26.78 ± 6.73	23.10 ± 14.24	-4.11 ± 7.00	22.11 ± 10.53
0-1. gün farkı %'si	10.52 ± 1.55	9.39 ± 4.53	-1.37 ± 4.16	4.90 ± 2.39
0-8. gün farkı %'si	11.55 ± 2.26	11.10 ± 6.96	-2.43 ± 4.12	9.30 ± 4.41

Gruplardaki ratların deneye başlangıçtaki ağırlık ortalamaları benzer değildi; KA + Karnitin grubunun ağırlık ortalamaları KA ve LPS + KA gruplarından daha azdı (sırasıyla  $p < 0.001$  ve  $p = 0.029$ )(Tablo 2).

Kolon anastomozu yapılması ratlarda ağırlık azalmasına neden oldu ( $p < 0.001$ ). KA + Karnitin grubunda 0-1. gün ve 0-8. günler arasında ağırlık artışı oldu, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p = 0.418$  ve  $p = 0.116$ ); diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı ağırlık azalması oluştu ( $p < 0.001$  ve  $p = 0.001$ ) (Şekil 2). KA için ratların aç bırakılması anlamlı oranda ağırlık

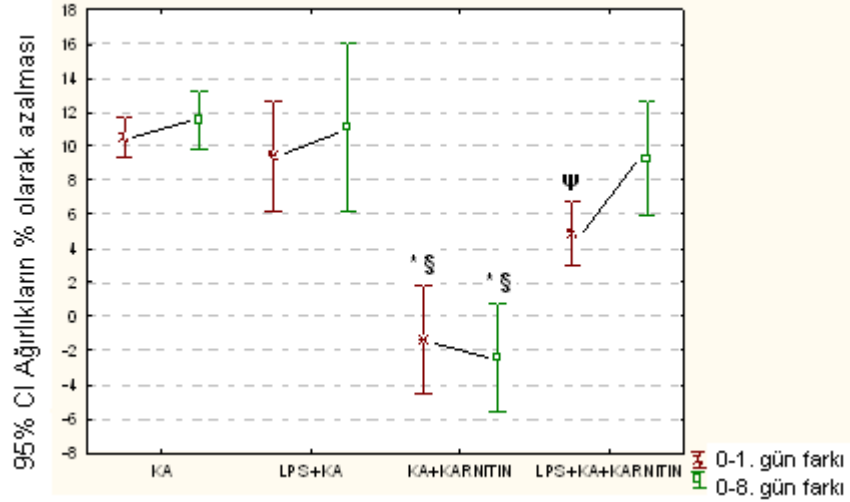
azalmasına neden oldu. KA yapılması için gerekli olan ön hazırlık (aç bırakma) ve anastomoz iyileşmesi süreci ratlarda anlamlı ağırlık azalmasına neden oldu. Kolon anastomozu ve LPS ortamında KA yapılan gruplarda deneyin sonuna kadar ağırlık azalması devam etti. Sadece Karnitin uygulanan ratlarda kolon anastomozu ağırlık azalmasına neden olmadı; bu gruptaki ratların ağırlığı deney sonuna kadar artış gösterdi. Her grup için deney başlangıcındaki ağırlığa kıyasla \* $p < 0.001$  ve § $p = 0.001$  (Şekil 2).



**Şekil 2.** Ratların deney sürecindeki ağırlık değişimleri.

KA'ya kıyasla LPS uygulaması ratlarda 1. ve 8. günlerde istatistiksel olarak anlamlı oranda ağırlık azalmasına (% olarak) neden olmadı (sırasıyla  $p = 0.889$  ve  $p = 0.997$ ), Karnitin uygulaması ise ratlarda anlamlı ağırlık artışına neden oldu (her iki gün için de  $p < 0.001$ ). LPS'ye kıyasla Karnitin ratlarda 1. ve 8. günlerde istatistiksel olarak anlamlı oranda ağırlık artışına neden oldu ( $p < 0.001$ ). LPS'ye kıyasla LPS ortamında uygulanan Karnitin ağırlık azalmasını 1. günde (KA'dan önce) engellerken ( $p = 0.036$ ), 8. günde engellemedi ( $p = 0.848$ ) (Şekil 3). LPS uygulaması ile kolon anastomozunda anlamlı ağırlık değişikliği oluşmadı; Karnitin ağırlık azalmasını anlamlı oranda önledi. LPS'ye kıyasla Karnitin anlamlı oranda ağırlık artışına neden oldu. LPS ortamında uygulanan Karnitin KA'dan önce (1. günde) ağırlık azalmasını engellerken KA'dan sonra ağırlık azalmasını engelleyemedi. KA grubuna kıyasla 0-1 ve 0-8. gün farkı

karşılaştırmaları için  $p < 0.001$ . LPS+ KA grubuna kıyasla 0-1 ve 0-8. gün farkı karşılaştırmaları için  $p < 0.001$ . LPS + KA grubuna kıyasla  $p = 0.036$  (şekil 3).



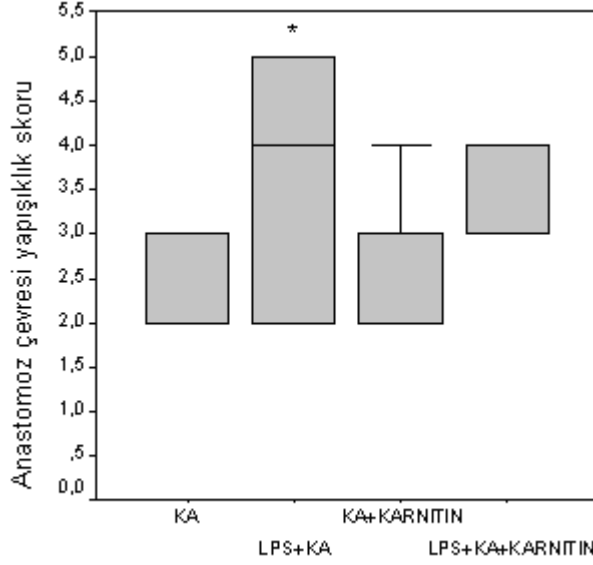
**Şekil 3.** Ratların deney sürecindeki ağırlık azalmasının yüzdeleri

### Kolon Anastomoz Çevresi Değerlendirilmesi

Deney gruplarının hiçbirinde karın içi veya anastomoz çevresi abse saptanmadı; hiçbir grupta anastomoz yetmezliği veya makroskopik kaçak gözlenmedi.

Yapışıklık skora göre KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarının yapışıklık skoru ortanca ile [%25-%75] aralığı sırasıyla 2 [2-3], 4 [2-5], 2 [2-3] ve 4[3-4] idi (Şekil 4).

LPS + KA grubundaki yapışıklık skoru KA ve KA + Karnitin grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti (her iki karşılaştırma için  $p < 0.05$ ). LPS kolon anastomozu çevresinde fazla yapışıklığa neden olurken Karnitin LPS'e göre daha az yapışıklığa neden oldu. LPS ortamında Karnitin kullanılması kolon anastomozu çevresinde oluşan yapışıklığı azaltmadı. KA ve KA + Karnitin ile karşılaştırıldığında  $*p < 0.05$ (şekil 4).

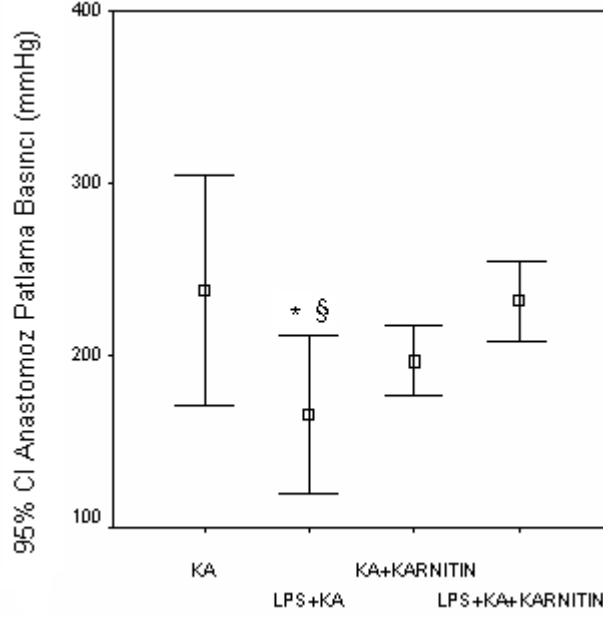


**Şekil 4.** Gruplardaki yapışıklık skorları.

#### **Anastomoz patlama basıncı**

Anastomoz patlama basıncı ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $237.75 \pm 86.73$ ,  $165.66 \pm 64.14$ ,  $197.10 \pm 24.03$ ,  $232.33 \pm 30.70$  mmHg olarak ölçüldü.

LPS + KA grubundaki patlama basıncı KA grubundan ve LPS + KA + Karnitin grubundan anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla  $p= 0.011$  ve  $p= 0.018$ ) (Şekil 5). LPS ortamında yapılan kolon anastomozunun patlama basıncında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı; Karnitin verildiğinde azalmış olan LPS ortamındaki kolon anastomozu patlama basıncında istatistiksel olarak anlamlı artış ortaya çıktı. KA ile karşılaştırıldığında  $*p= 0.011$ , LPS + KA + Karnitin ile karşılaştırıldığında  $§p= 0.018$  (şekil 5).



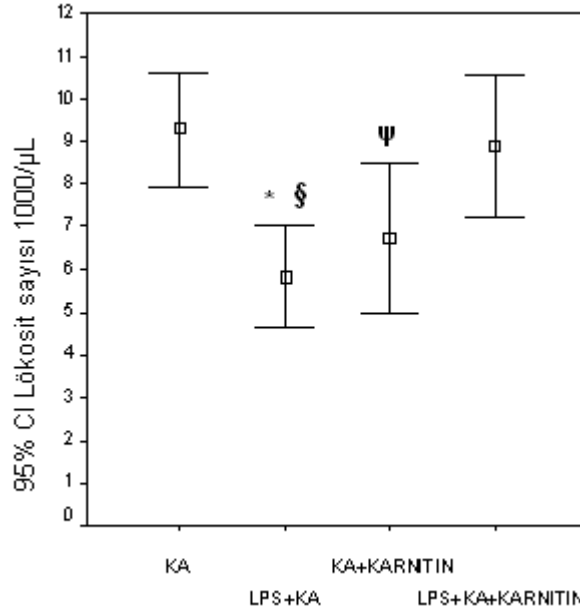
**Şekil 5.** Kolon anastomoz patlama basıncı ile ilgili grafik.

### **Biyokimyasal incelemeler**

#### **Hemogram (Lökosit sayısı):**

KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarındaki lökosit sayımı ortalama ve standart sapma sonuçları sırasıyla  $9.282 \pm 1.742$ ,  $5.823 \pm 1.654$ ,  $6.730 \pm 2.279$  ve  $8.890 \pm 2.169/\mu\text{L}$  idi (Şekil 6).

LPS + KA ve KA + Karnitin gruplarındaki lökosit sayısı KA grubundakinden istatistiksel olarak anlamlı düşüktü (sırasıyla  $p= 0.003$  ve  $p=0.045$ ). LPS + KA + Karnitin grubundaki lökosit sayısı ise LPS + KA grubundakinden istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ( $p= 0.009$ ). LPS ve Karnitin uygulamaları lökosit sayımında anlamlı azalmaya neden oldu. Karnitin uygulaması ile LPS ortamındaki kolon anastomozuda lökosit sayısında anlamlı artış sağlandı. KA ile karşılaştırıldığında  $*p=0.003$ ,  $\psi p= 0.045$ ; LPS + KA + Karnitin ile karşılaştırıldığında  $\xi p= 0.009$  (şekil 6).

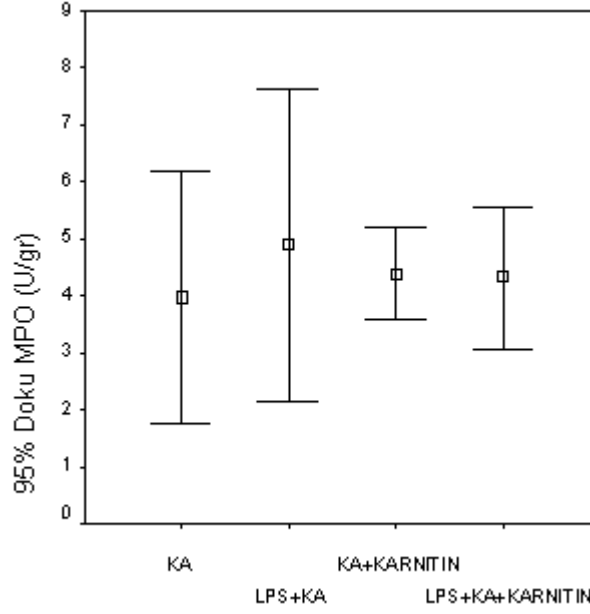


**Şekil 6.** Lökosit sayımı ile ilgili grafik.

### **Doku MPO**

KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarındaki doku MPO düzeyi ortalama ve standart sapmaları sırasıyla  $3.983 \pm 2.879$ ,  $4.903 \pm 3.864$ ,  $4.401 \pm 1.062$  ve  $4.326 \pm 1.623$  U/g idi (Şekil 7).

MPO bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). Doku MPO düzeyi LPS uygulaması ile arttı, LPS ortamındaki kolon anastomozunda Karnitin uygulamasıyla ise azaldı; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmadı.



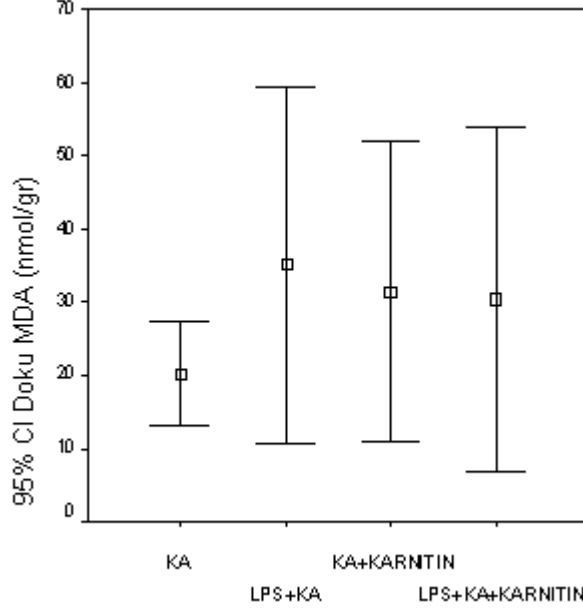
**Şekil 7.** Doku MPO ile ilgili grafik.

### **Doku MDA**

KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarındaki doku MDA düzeyi ortalama ve standart sapmaları sırasıyla  $20.336 \pm 9.355$ ,  $35.162 \pm 34.072$ ,  $31.347 \pm 26.540$  ve  $30.476 \pm 30.477$  nmol/g doku idi (Şekil 8).

MDA bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). Doku MDA düzeyi LPS uygulaması ile arttı, LPS ortamında Karnitin uygulamasıyla ise azaldı; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmadı.



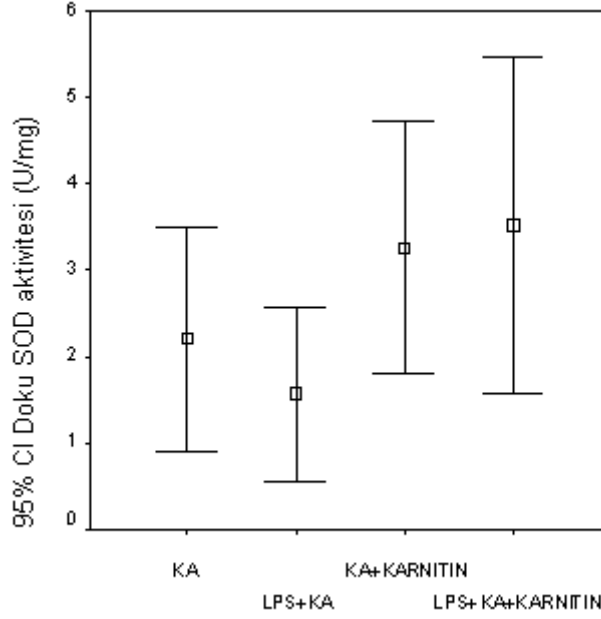


**Şekil 8.** Doku MDA ile ilgili grafik.

### **Doku SOD aktivitesi**

KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarındaki doku SOD aktivitesi düzeyi ortalama ve standart sapmaları sırasıyla  $2.20 \pm 1.69$ ,  $1.57 \pm 1.40$ ,  $3.27 \pm 1.89$  ve  $3.53 \pm 2.54$  U/mg (Şekil 9).

Doku SOD aktivitesi bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). Doku SOD aktivitesi düzeyi LPS uygulaması ile azalırken Karnitin uygulaması ve LPS ortamında Karnitin uygulaması ile arttı; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı.

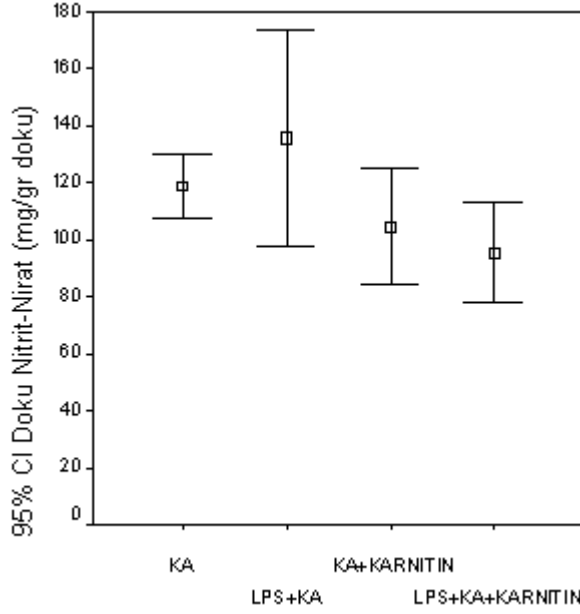


**Şekil 9.** Doku SOD aktivitesi ile ilgili grafik.

### **Doku Nitrit-Nitrat**

Doku nitrit-nitrat düzeyleri ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $118.873 \pm 14.937$ ,  $135.488 \pm 52.681$ ,  $104.946 \pm 26.949$  ve  $95.616 \pm 22.706$  mg/g doku idi (Şekil 10).

Doku nitrit-nitrat bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). Doku nitrit-nitrat düzeyi LPS uygulaması ile artarken Karnitin uygulaması ve LPS ortamında Karnitin uygulaması ile azaldı; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı.

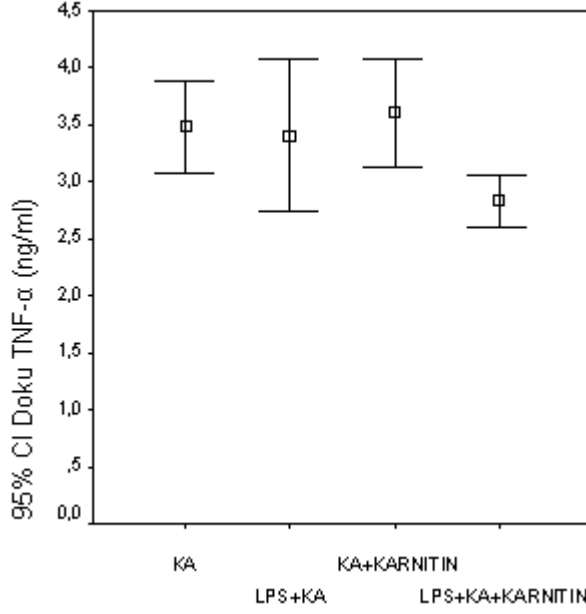


**Şekil 10.** Doku nitrit-nirat ile ilgili grafik.

### **Doku TNF- $\alpha$**

Doku TNF- $\alpha$  düzeyi ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $3.483 \pm 0.523$ ,  $3.411 \pm 0.941$ ,  $3.611 \pm 0.618$  ve  $2.836 \pm 0.292$  ng/ml idi (Şekil 11).

Doku TNF- $\alpha$  bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). Doku TNF- $\alpha$  düzeyi LPS uygulaması ile azaldı, Karnitin uygulaması ile arttı. Doku TNF- $\alpha$  düzeyi LPS ortamında Karnitin uygulamasıyla ise azaldı; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmadı.



**Şekil 11.** Doku TNF-α ile ilgili grafik.

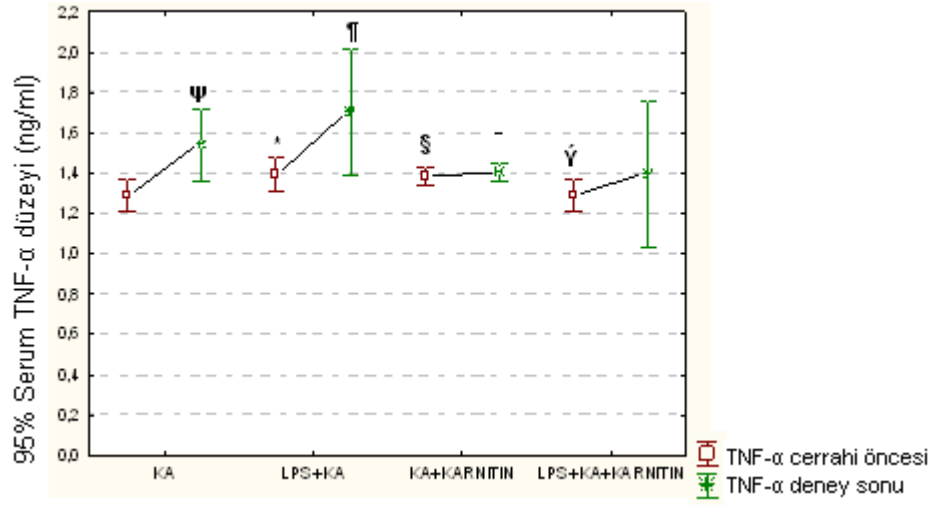
### Serum TNF-α

Cerrahi işlemden hemen önce ve deney sonundaki serum TNF-α düzeyi ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $1.288 \pm 0.106$  ve  $1.538 \pm 0.210$ ,  $1.397 \pm 0.098$  ve  $1.699 \pm 0.438$ ,  $1.381 \pm 0.059$  ve  $1.403 \pm 0.052$ ,  $1.291 \pm 0.101$  ve  $1.392 \pm 0.437$  ngr/ml idi (Şekil 12).

KA ve LPS + KA gruplarında cerrahi işlemden sonra deney sonunda serum TNF-α düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü (sırasıyla  $p=0.013$  ve  $p=0.038$ ). Karnitin verilen gruplarda ortaya çıkan artış istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı (her iki grup için  $p>0.05$ ). KA yapılması serum TNF-α düzeyinde anlamlı artışa neden oldu. Karnitin tedavisi KA'da ve LPS uygulanmış KA'da serum TNF-α düzeyinde ortaya çıkan artışı önledi.

Cerrahi işlemden hemen önceki serum TNF-α düzeyi KA grubuna kıyasla LPS + KA ve KA + Karnitin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı oranda fazlaydı (sırasıyla  $p=0.021$  ve  $p=0.035$ ). LPS + KA grubuna kıyasla LPS + KA + Karnitin grubunda anlamlı oranda azdı ( $p=0.024$ ). LPS ve tek doz Karnitin serum TNF-α düzeyini anlamlı oranda artırırken LPS ortamında uygulanan tek doz Karnitin serum TNF-α düzeyini anlamlı oranda azalttı.

Deney sonundaki serum TNF- $\alpha$  düzeyi bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). Cerrahi öncesine kıyasla deney sonunda KA grubunda  $\psi p=0.013$ , LPS + KA grubunda  $\pi p=0.038$ . Cerrahi öncesi serum TNF- $\alpha$  düzeyi bakımından KA ile kıyaslandığında  $*p=0.021$  ve  $\$p=0.035$ ; LPS + KA ile kıyaslandığında  $\dot{Y}p=0.024$  (şekil 12).

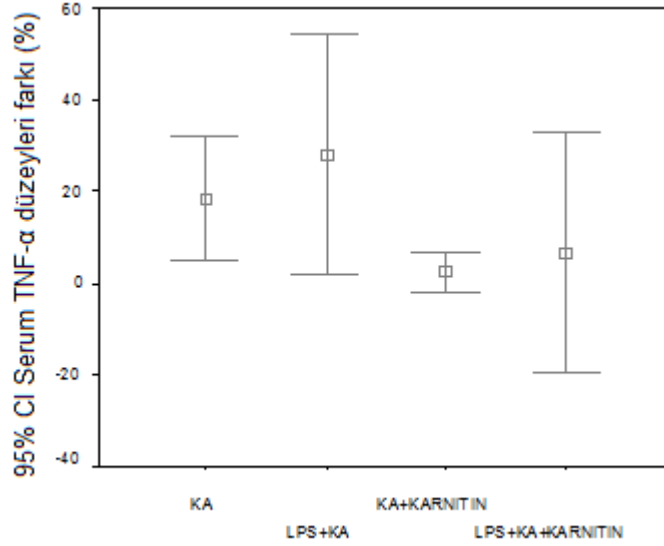


**Şekil 12.** Serum TNF- $\alpha$  düzeyleri.

Deney sonundaki ve cerrahi işlemden hemen önceki serum TNF- $\alpha$  düzeyleri arasındaki farkın ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $0.238 \pm 0.202$ ,  $0.391 \pm 0.432$ ,  $0.030 \pm 0.074$  ve  $0.085 \pm 0.430$  ngr/ml idi. Deney sonundaki ve cerrahi işlemden hemen önceki serum TNF- $\alpha$  düzeyleri arasındaki farkın yüzdesinin ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $18.61 \pm 16.30$ ,  $28.14 \pm 31.43$ ,  $2.37 \pm 5.42$  ve  $6.65 \pm 31.76$  idi.

Cerrahi işlemden hemen önce ve deney sonundaki serum TNF- $\alpha$  düzeyi farkı ve TNF- $\alpha$  düzeyi farkı yüzdesi bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ) (Şekil 13). KA serum TNF- $\alpha$  düzeyinde artışa neden oldu. LPS serum TNF- $\alpha$  düzeyinde KA'da görülenden daha fazla artışa neden oldu. Karnitin tedavisi KA'da ve LPS

ortamında yapılan KA'da görülen serum TNF- $\alpha$  düzeyi artışını azalttı. Ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmadı.

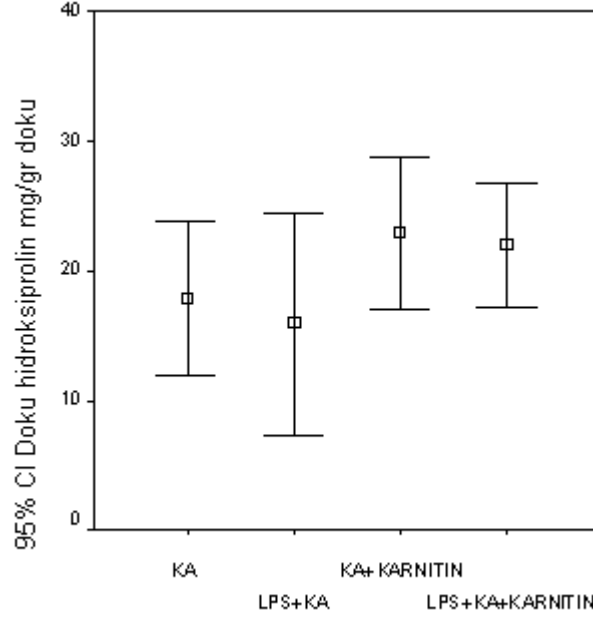


**Şekil 13.** Deney sonundaki ve cerrahi işlemden önceki serum TNF- $\alpha$  düzeyleri farkının yüzdesi ile ilgili grafik.

### Doku hidroksiprolin

Doku hidroksiprolin düzeyleri ortalama ve standart sapmaları KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla  $17.773 \pm 7.774$ ,  $15.929 \pm 12.004$ ,  $22.953 \pm 7.670$  ve  $22.028 \pm 6.295$  mg/g doku idi (Şekil 14).

Doku hidroksiprolin düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ). LPS hidroksiprolin düzeyinde azalmaya neden olurken Karnitin ve LPS ortamında uygulanan Karnitin artışa neden oldu; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı.

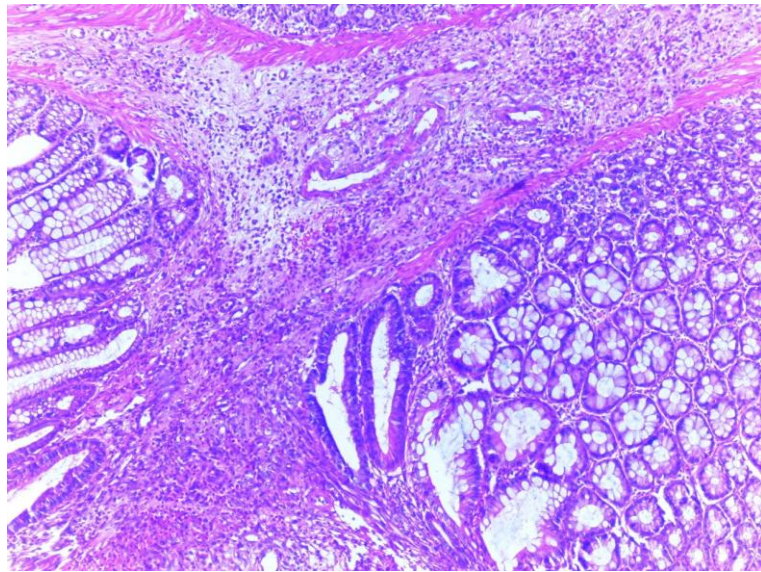


**Şekil 14.** Doku hidroksiprolin düzeyleri ile ilgili grafik.

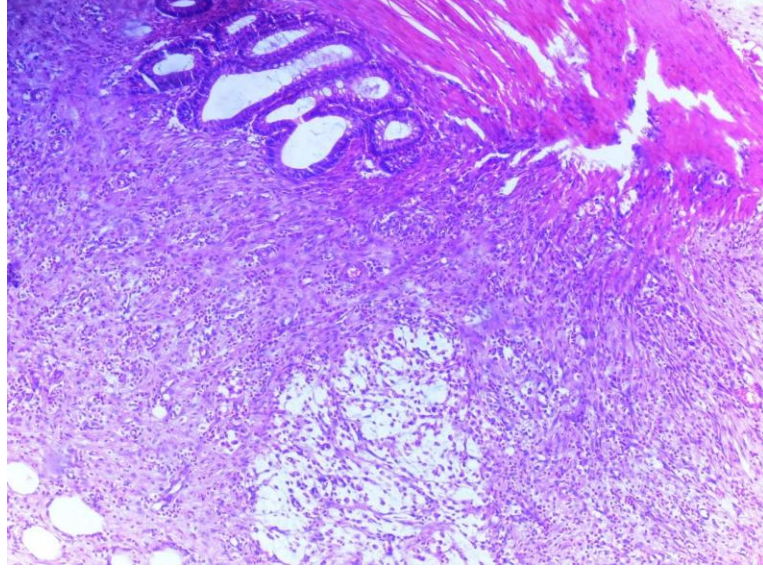
### **Histopatolojik değerlendirme**

#### **Hematoksilen-eozin (H-E) boyası**

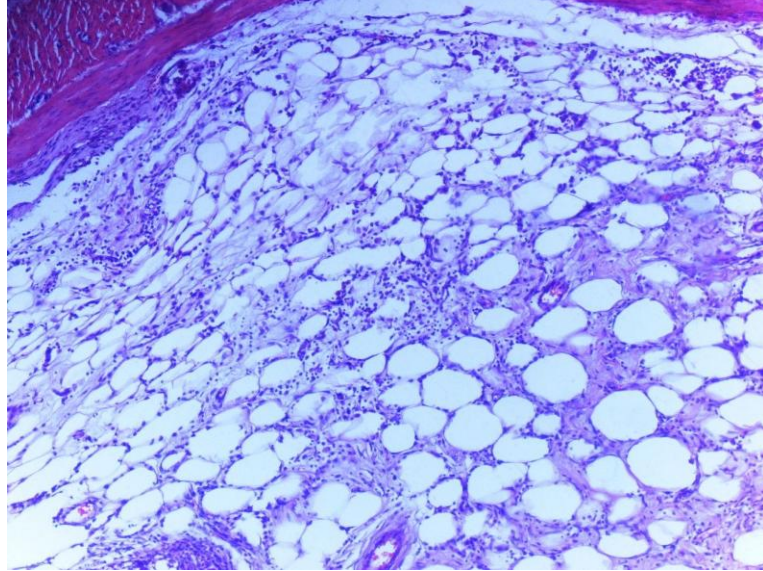
KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarındaki H-E boyanmasına ait resimler sırasıyla Resim 4, 5, 6 ve 7'de gösterilmiştir. Çalışmadaki dört grupta da belirgin derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu yoğun damarlanma artışı ve fibroblastik proliferasyon mevcuttu.



**Resim 4.** KA grubu; anastamoz hattında yaygın şiddetli PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x10).

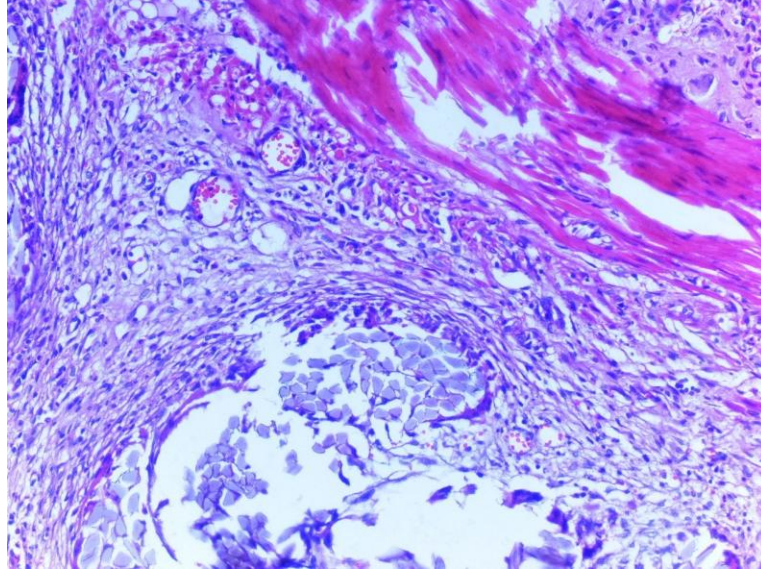


**Resim 5.** LPS + KA grubu;( anastamoz hattında orta kuvvetli PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x10)).



**Resim 6.** KA + Karnitin grubu; (anastamoz hattında fokal kuvvetli PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x10)).

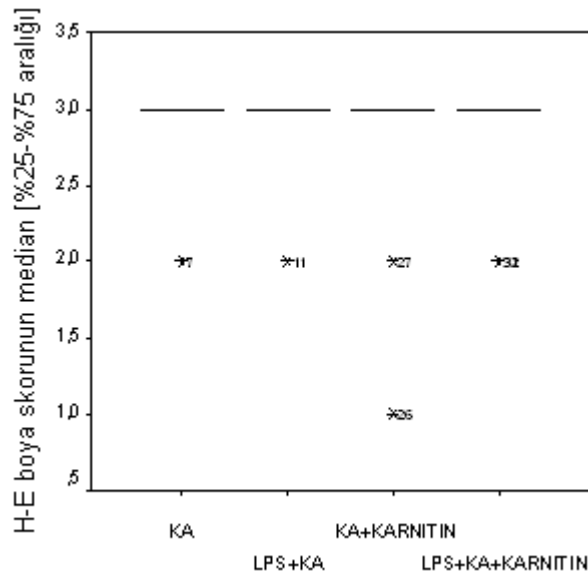




**Resim 7.** LPS + KA + Karnitin grubu; anastomoz hattında fokal orta PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x20).

H-E boya skorunun median ile [%25-%75 aralığı] KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla 3 [3-3], 3 [3-3], 3 [3-2.5] ve 3 [3-2.5] idi.

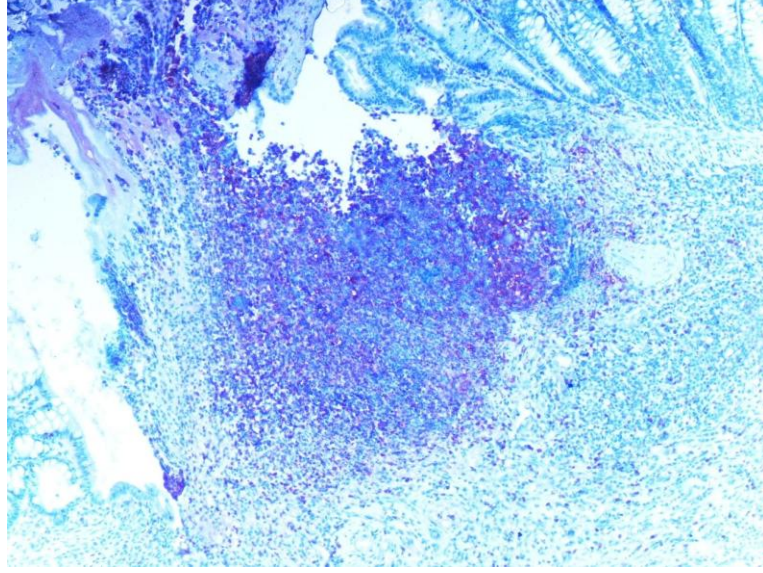
H-E boya skorları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ) (Şekil 15).



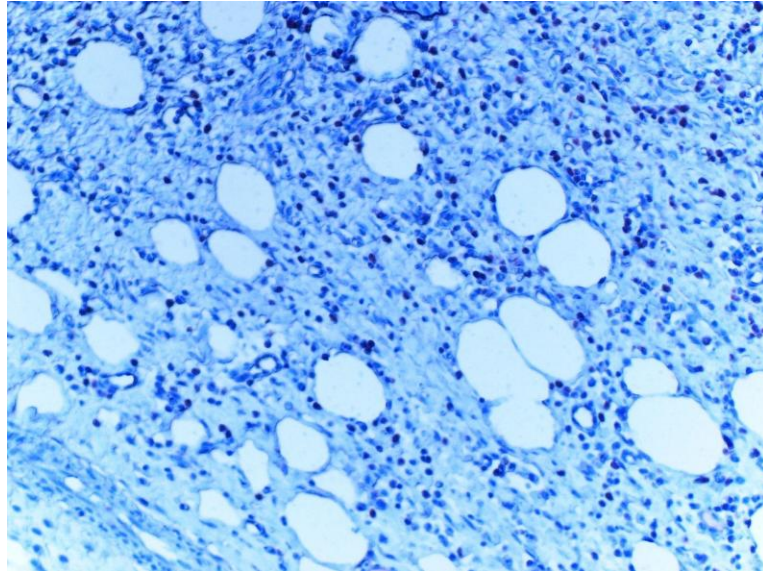
**Şekil 15.** H-E boyanma skorları.

### **İmmünohistokimyasal (İNOS) boyanma**

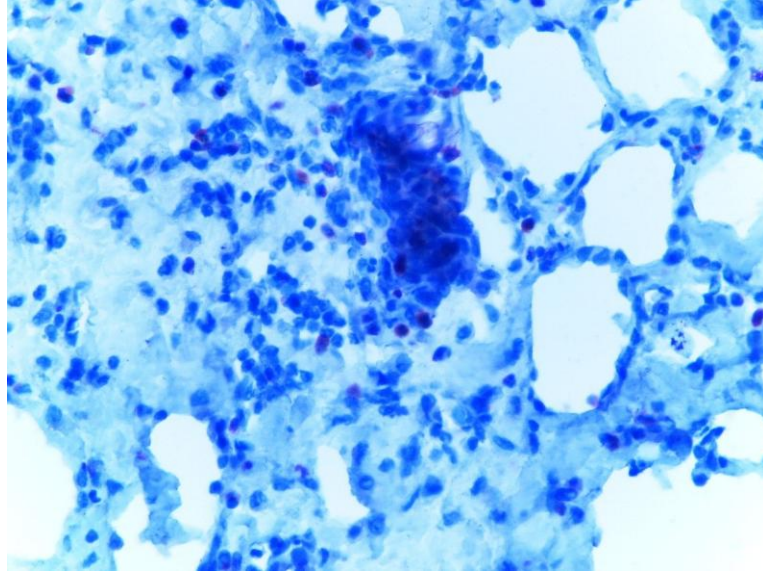
KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarındaki İNOS boyanmasına ait resimler sırasıyla Resim 8, 9, 10 ve 11'de gösterilmiştir.



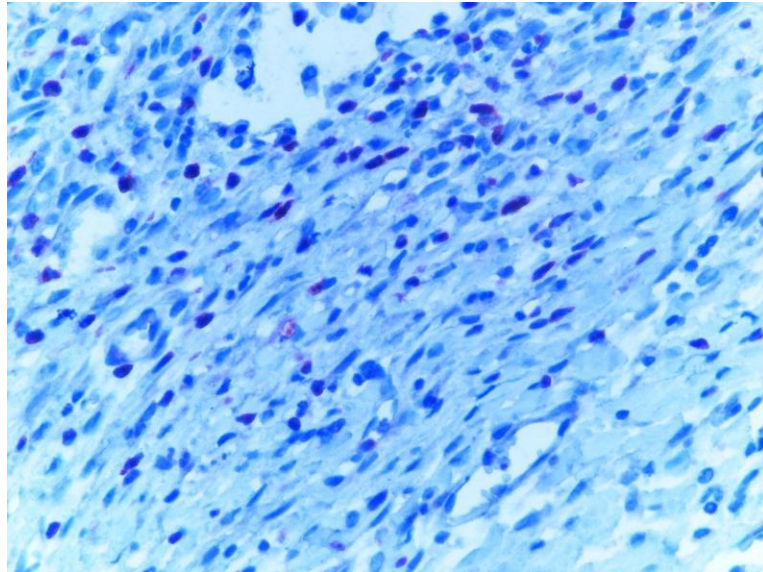
**Resim 8.** KA grubu; PMNL' lerde yaygın kuvvetli İNOS pozitifliği (İNOS, x10).



**Resim 9.** LPS + KA grubu; PMNL' lerde orta kuvvetli İNOS pozitifliği (İNOS, x20).



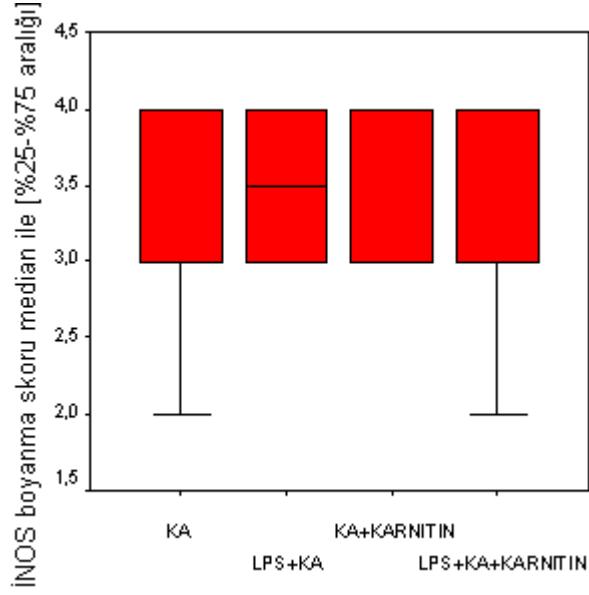
**Resim 10.** KA + Karnitin grubu; PMNL' lerde fokal kuvvetli İNOS pozitifliği (İNOS, x40).



**Resim 11.** LPS + KA + Karnitin grubu; PMNL' lerde fokal orta İNOS pozitifliği (İNOS, x40).

İNOS boyanma skorunun median ile [%25-%75 aralığı] KA, LPS + KA, KA + Karnitin ve LPS + KA + Karnitin gruplarında sırasıyla 3 [3-4], 3.5 [3-4], 4 [3-4] ve 4 [3-4] idi.

İNOS boyanma skorları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (bütün karşılaştırmalar için  $p > 0.05$ ) (Şekil 16). İNOS boyanma skoru sepsis grubunda kontrol grubuna göre daha fazla, Karnitin gruplarında ise en fazlaydı; ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.



**Şekil 16.** İNOS boyanma skorları.

## TARTIŞMA

LPS kullanılarak uygulama yoluna ve dozuna bağılı olarak septik peritonit, sepsis ve septik şok oluşturulabilmekte, sistemik inflamatuvar yanıt, multiorgan disfonksiyonu ve ölüm oluşabilmektedir<sup>79,101</sup>. Sepsis oluşturulmasında LPS modelinin seçilme nedeni intraperitoneal olarak uygulanan LPS'nin nispeten sabit doz bağımlı reaksiyonla tekrar üretilebilir inflamatuvar yanıt oluşturmasıdır<sup>15</sup>. Ayrıca LPS modeli acil kolon rezeksiyonun gerekli olabileceği inflamatuvar durumu taklit etmektedir<sup>15</sup>.

Ratlarda LPS'nin intraperitoneal olarak 0.5-20mg/kg doz aralığında uygulanmasıyla sepsis oluşturulabilmektedir<sup>14,150</sup>. Klinik olarak inflamatuvar işlem hala hazırda devam ettiği için kolon anastomozu yapmak için LPS uygulamasından sonra 18 saatlik interval seçildi<sup>15</sup>. Çalışmada Diller<sup>15</sup> ve ark.'ın farelerde sepsis oluşturduğu model örnek alındı ve onların uyguladığı LPS dozu, uygulama yolu ve cerrahi işlem öncesi uygulama periodu seçildi.

LPS ile oluşturulan sepsis modellerinde TNF- $\alpha$ , lökosit sayımı ve deneklerin kilo kaybı sepsis oluşumunun değerlendirilmesinde kullanılmaktadır<sup>14,15,144,151</sup>. İntraperitoneal kaviteye verilen LPS sepsis modeli oluşturmaktadır; LPS inflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$ 'nın artışına neden olmaktadır<sup>101</sup>. LPS'in i.p. uygulanmasından 2 saat sonra plazma TNF- $\alpha$  düzeyi pik yapıp 24 saat sonra bazal düzeye ulaşmaktadır<sup>152</sup>. LPS uygulamasından sonra lökosit sayısında azalma ve lökopeni (6000–12000/mm<sup>3</sup>) oluşması sepsis göstergesi olarak kabul edilmektedir<sup>144,150</sup>. Kilo kaybı sepsisin fizyolojik kanıtlarından biri olarak kullanılmaktadır ve LPS de anlamlı kilo kaybına neden olmaktadır<sup>14</sup>. Ancak LPS ile sepsis oluşturulan farelerde istatistiksel olarak anlamlı olmayan kilo kaybı oluşabileceği de gösterilmiştir<sup>15,144</sup>. Çalışmamızda KA grubuna göre LPS verilen grupta cerrahi öncesi TNF- $\alpha$  düzeyinin yüksek olması ve deney sonunda lökosit sayısının az olması 2 mg LPS'nin i.p. verilmesiyle sepsis oluşturduğunu desteklemektedir. LPS ile oluşturduğumuz sepsis ratlarda anlamlı kilo kaybına neden olmadı.

KA sonrası ilk 24 saat içinde kilo kaybı ortaya çıkmakta daha sonra ise ratlar kilo almaya başlamaktadır. LPS uygulanan ve uygulanmayan ratlar arasında kilo kaybı bakımından ilk 24 saatte anlamlı fark görülmemektedir, öte yandan LPS uygulanan ratlarda ilk 120 saatte kilo almada anlamlı gecikme

ortaya çıkmaktadır<sup>14</sup>. Bununla birlikte LPS ile sepsis oluşturulan farelerde istatistiksel olarak anlamlı olmayan kilo kaybı oluşabileceği de gösterilmiştir<sup>15,144</sup>. LPS i.p. enjeksiyonu sonrası ratların besin tüketiminde anlamlı azalma olmasına karşın Karnitin verilen LPS enjeksiyonu yapılmış ratlarda besin tüketimi artmaktadır<sup>153,154</sup>. KA yapılması için gerekli olan ön hazırlık (aç bırakma) ile KA ve anastomoz iyileşmesi süreci ratlarda anlamlı ağırlık azalmasına neden oldu. LPS anlamlı ağırlık değişikliği oluşturmazken Karnitin ağırlık azalmasını anlamlı oranda önledi ve deney sonuna kadar ratların ağırlık artışı devam etti. LPS'ye kıyasla Karnitin anlamlı oranda ağırlık artışına neden oldu. LPS ortamında uygulanan Karnitin KA'dan önce (1. günde) ağırlık azalmasını engellerken KA'dan sonra ağırlık azalmasını engelleyemedi. Karnitin kilo kaybını önleyici etkisi ratlarda besin tüketimini artırması ile oluşmuş olabilir.

LPS lökopeni veya lökositozaya neden olabilir<sup>156</sup>. LPS uygulamasından 18 saat sonra lökosit sayısında anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir<sup>15,144</sup>. LPS uygulamasından sonra lökosit sayısında azalma ve lökopeni (6000–12000/mm<sup>3</sup>) oluşması sepsis göstergesi olarak kabul edilmektedir<sup>144,150</sup>. Sepsiste nötropeni devam eden enfeksiyonla direkt ilişkilidir<sup>155</sup>. İmmün hücreler gerilim altındaki durumlarda karnitin kaybedebilir veya artmış fakat karşılanmamış karnitin ihtiyacı olabilir, bu da azalmış enerji üretimi ve yetersiz fonksiyonel yetenekle sonuçlanır<sup>156</sup>. Normal endojen karnitin havuzu normal immün çalışma ağının devamı için gereklidir<sup>157</sup>. Bakteriyel enfeksiyonu ve travmayı takip eden inflamatuvar bozukluklarda granülositlerde karnitin tutulumu olduğu gösterilmiştir<sup>19</sup>. Yukarıda belirtilen bulgulara benzer şekilde bizim çalışmamızda da LPS lökopeniye neden oldu; ilginç olarak Karnitin de lökopeniye neden oldu. Öte yandan Karnitin LPS ile oluşturulan sepsisin neden olduğu lökopeniyi önledi.

TNF- $\alpha$  lokal ve sistemik inflamasyonun bir çok kısmında yer alan proinflamatuvar bir sitokindir<sup>158</sup>. İntraperitoneal kaviteye verilen LPS ile oluşturulan sepsis modelinde LPS TNF- $\alpha$ 'nın plazmada artışına neden olmaktadır<sup>101</sup>. LPS'in i.p. uygulanmasından 2 saat sonra plazma TNF- $\alpha$  düzeyi pik yapıp 24 saat sonra bazal düzeye ulaşmaktadır<sup>152</sup>. Ratlarda yapılan bir çalışmada i.p. olarak verilen LPS'nin 3 saat sonra plazma TNF- $\alpha$  düzeyinde

pike neden olduğu ve Karnitin tedavisinin TNF- $\alpha$  düzeyinde anlamlı düşüşe neden olduğu gösterilmiştir<sup>154</sup>. Karnitin LPS'nin neden olduğu TNF- $\alpha$  gibi bazı sitokinlerin üretiminin baskılanmasına neden olarak kaşeksi ve septik şok sırasında sağkalımı artırmaktadır<sup>154,159</sup>. Karnitin stafilokokus aureus ile uyarılan insan polimorfonükleer lökositlerinin eks vivo TNF- $\alpha$  salgılamasını azaltmıştır<sup>160</sup>. Ayrıca cerrahi hastalara ve AIDS hastalarına Karnitin verilmesi serum TNF- $\alpha$  düzeyini azaltmıştır<sup>161,162</sup>. Operatif işlem inflamatuvar yanıtı artırdığı için inflamatuvar durum operatif işlemle şiddetlendirilebilir<sup>163,164</sup>. Çalışmamızda cerrahi işlem olan KA serum TNF- $\alpha$  düzeyinde anlamlı artışa neden olurken Karnitin tedavisi bu artışı önledi. LPS ve tek doz Karnitin serum TNF- $\alpha$  düzeyini anlamlı şekilde artırırken LPS ortamında uygulanan tek doz Karnitin serum TNF- $\alpha$  düzeyini anlamlı şekilde azalttı. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da anastomoz iyileşme sürecinde LPS en fazla oransal serum TNF- $\alpha$  düzeyi artışına eden olurken LPS ortamında uygulanan Karnitin tedavisi bu oransal artışı azalttı.

Normal kolon anastomozu iyileşmesinde yüksek doku TNF- $\alpha$  düzeyleri görülmemektedir. Kolon anastomozunda doku TNF- $\alpha$  düzeyi postoperatif 7. günde başlangıca göre anlamlı şekilde düşmektedir<sup>165</sup>. Bir başka çalışmada ise anastomoz sonrası TNF- $\alpha$  ekspresyonun hızlıca azaldığı ve 24 saat sonunda yok olduğu gösterilmiştir<sup>16</sup>. Öte yandan septik koşullarda cerrahi stres sonrası intestinal anastomozun yara iyileşmesi sürecinde TNF- $\alpha$  inhibitör faktör gibi etki edebilmektedir<sup>16</sup>. Sistemik olarak uygulanan LPS periferik kanda organ düzeyindeki sitokin (TNF- $\alpha$ ) içeriği ile korele olmayan sitokin cevabına neden olmaktadır<sup>151</sup>. Bizim çalışmamızda da gruptaki serum ve doku TNF- $\alpha$  düzeyleri birbirine paralellik göstermedi. LPS doku TNF- $\alpha$  düzeyini azaltırken Karnitin tedavisi arttırdı. Doku TNF- $\alpha$  düzeyi LPS ortamında uygulanan Karnitin tedavisi ile azaldı; ancak oluşan bu değişikliklerin hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmadı.

MPO inflamasyonun göstergelerinden biridir ve çeşitli kolit modellerinde nötrofil infiltrasyonu ile iyi korelasyon göstermektedir<sup>166</sup>. Çekal bağlama ve delme tekniğiyle oluşturulan polimikrobiyal sepsis kolon anastomozu çevresi dokuda MPO düzeyinde yükselmeye neden olmaktadır<sup>167</sup>. Yine bu sepsis modelinde granülosit infiltrasyonundaki artış miyeloperoksidazda artışa karşılık

gelmektedir<sup>168</sup>. Bununla birlikte nötrofil serin proteazı ve serbest oksijen radikalleri kolon anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilemektedir<sup>169</sup>. Karniti'nin ratlarda yapılan karaciğer iskemi-reperfüzyon modelinde karaciğer dokusunda MPO düzeyini azalttığı daha önce gösterilmişti<sup>112</sup>. Mevcut çalışmada her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı düzeylere ulaşmadıysa da LPS uygulaması kolon anastomoz çevresi doku MPO düzeyini artırarak nötrofil infiltrasyonunda artışa neden olurken Karnitin tedavisi LPS ile artmış olan MPO düzeyini azaltarak nötrofil infiltrasyonunun azalmasına neden oldu.

MDA lipid peroksidasyonun ve doku hasarının göstergesidir. Septik şoktaki hastaların bir kısmında serum MDA düzeyleri yüksek olabilmektedir<sup>170</sup>. İnflame kolon mukozasının LPS ile birlikte kültür edildiği in-vitro çalışmada LPS NO, MPO ve MDA'da yükselmeye karakterize inflamatuvar yanıt oluşumuna neden olmuştur<sup>171</sup>. Kolon mukozasında belirgin oksidatif strese neden olan deneysel kolit modelinde kolonik MDA'da anlamlı yükselme saptanmıştır<sup>172</sup>. Çekal bağlama ve delme tekniğiyle oluşturulan polimikrobiyal sepsis kolon anastomozu çevresi dokuda MDA düzeyini yükseltmiştir<sup>167</sup>. Karnitin'in ratlarda yapılan karaciğer iskemi-reperfüzyon modelinde karaciğer dokusunda MDA düzeyini azalttığı daha önce gösterilmişti<sup>112</sup>. Mevcut çalışmada, MPO'ya benzer şekilde, sepsise neden olan LPS kolon anastomoz çevresi dokuda MDA düzeyini artırdı, Karnitin tedavisi ise LPS ile artmış olan MDA düzeyini azalttı.

NO çeşitli fizyolojik süreçlerde yer almaktadır. Mitokondriyal solunumda yer alan enzimleri ve DNA sentezini inhibe etmek ve reaktif oksijen ara ürünlerinin oluşumunun dahil olduğu hücresel düzeyde çok farklı etkileri vardır. NO fizyolojik etkilerine ilaveten birçok hastalığın sürecinde de yer almaktadır; endotoksik şokta artmaktadır<sup>173</sup>. NO'nun üretiminin ölçümü mümkün olduğu halde hücresel üretim yerinin direkt olarak gösterilmesi mümkün değildir. Bunun yerine onu üreten enzimin olan nitrik oksit sentaz (NOS)'ın yeri alternatif olarak kullanılmaktadır. İndüklenebilir olan iNOS üretimi enfeksiyon, yaralanma veya inflamasyon gibi durumlarda tetiklenebilir<sup>133</sup> NO'nun koruyucu ve yıkıcı etkileri arasında çok hassas bir denge vardır<sup>174</sup>. Az miktarlarda NO koruyucu etkiye sahiptir; mukozal prostaglandinlere benzer etkiyle mukoza kan akımını artırarak, inflamatuvar hücreleri stabilize ederek ve mukus ve bikarbonat sekresyonunu artırarak mukozayı korur<sup>175</sup>. Yüksek miktarlarda ise NO doku hasarına neden



olur; hücre toksisitesi, hasarı ve ölüm ve inflamatuvar barsak hastalığındaki ülserasyona neden olur<sup>175</sup>. Middleton ve arkadaşları aktif ülseratif koliti olan hastaların rektal diyalizatlarında NO'nun katabolizma son ürünü olan nitratın artmış olduğunu gösterdi<sup>177</sup>.

LPS ile uyarılan sepsisin dahil olduğu immün ve inflamatuvar durumlar barsaklarda iNOS'u uyarır<sup>139</sup>. İNOS sepsis ve mukozal inflamasyon sırasında sitotoksik oranlara ulaşan NO salınımına neden olur<sup>140,141</sup>. Düşük konsantrasyonda NO kollajen sentezinde olumlu etkiye sahip olabilir ancak fazlalık durumunda toksik etki ortaya çıkarabilir. Endotoksinle oluşturulan sepsis modelinde olduğu gibi inflamatuvar yanıtın uyarılması fazla miktarda NO üretimine ve bunu takip eden doku hasarına neden olmaktadır<sup>14</sup>. NO'nun oksijenasyonu, nitrit ve nitrat stabil metabolitler oluşması ile sonuçlanır<sup>136</sup>. İntraabdominal sepsiste üretilen NO'yu ölçmek için perianastomotik dokuda NO'nun kararlı son ürünü olan nitrat-nitrit düzeyleri ölçülmektedir<sup>13</sup>. Endojen bir madde olan Karnitin'in deneysel çalışmalarda dışardan verildiğinde immün fonksiyonları desteklediği, TNF- $\alpha$  ve iNOS'u azaltıp yara iyileşmesini olumlu etkilediği gösterilmiştir<sup>17-20</sup>. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda LPS doku nitrit-nitrat düzeyini artırırken Karnitin azalttı. Ayrıca Karnitin tedavisi LPS'in artırmış olduğu nitrit-nitrat düzeyini de azalttı; ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı.

Sepsis oksidatif strese neden olarak kolon anastomozu yara iyileşmesinde yetersizliğe neden olmaktadır<sup>17</sup>. Sitoplazmik enzim olan SOD süperoksit anyonunu parçalayarak hücre içeriğini okside edici aktiviteye karşı korur<sup>187</sup>. SOD oksidatif stresi ve inflamatuvar yanıtın mediatörlerinin aktivasyonunu azaltır<sup>166</sup>. SOD süperoksit anyon radikallerinin hidrojen peroksite dismutasyonunu hızlandıran önemli bir koruyucu sistemdir ve serbest radikallerin daha sonraki oluşumunu önleyerek asıl savunma görevi görür. LPS rat ileumunda MDA'yı artırıp SOD aktivitesini azaltmaktadır<sup>178</sup>. Deneysel kolit çalışmalarında antioksidan SOD ile ilgili elde edilen sonuçlar tartışmalıdır. Kuralay ve ark. deneysel kolit modelinde oksidatif strese yanıt olarak doku SOD düzeylerinin yükseldiğini ve antioksidan ajanlarla azaldığını gösterdi<sup>179</sup>. Ancak Dong ve ark. kolonik mukozada belirgin oksidatif strese neden olan asetik asit enema ile oluşturulan kolit modelinde kolonik SOD ativitesinde azalma

olduğunu ve oksidatif stresi azaltıcı etkisi olan sodyum ferulatın azalmış olan SOD aktivitesini artırdığını gösterdi<sup>172</sup>. L-Karnitin'in makrofajların litik enzim aktivitesini artırdığı ve nötrofillerce süperoksit anyonu üretimini inhibe ettiği gösterilmişti<sup>180,181</sup>. L-Karnitin inflamatuvar hücrelerce süperoksit anyonu üretimini azaltmaktadır<sup>183</sup>. Çalışmamızda sepsise neden olan LPS kolonda SOD aktivitesi düzeyini azaltırken Karnitin uygulaması artırdı. Ayrıca Karnitin LPS ile azalmış olan kolon SOD aktivitesini de artırdı. Ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı.

Kolon anastomozu çevresi yapışıklığının yüzdesi postoperatif 7. günde sepsis oluşturulan ratlarda kontrol grubuna göre yüksek olduğu ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı daha önce gösterilmişti<sup>15</sup>. Çalışmamızda LPS'in neden olduğu inflamasyon kolon anastomozu çevresindeki yapışıklıkta anlamlı artışa neden oldu. Karnitin tedavisi LPS'e göre daha az yapışıklığa neden olduğu halde LPS ortamında Karnitin tedavisi kolon anastomozu çevresinde oluşan yapışıklığı azaltmadı.

Kolon anastomoz segmentindeki postoperatif 7. gündeki hidroksiprolin konsantrasyonu kollajen birikiminin göstergesi olarak kullanılmaktadır<sup>16,185</sup>. Anastomoz çevresi doku hidroksiprolin düzeyinin anastomoz sonrası 7. günde LPS verilen ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu daha önce kanıtlanmıştı<sup>16,150</sup>. Sistemik sepsis, intraabdominal enfeksiyon olmadan kolon anastomozunda kollajen sentezini anlamlı şekilde azaltmaktadır<sup>14</sup>. Karnitin'in immünsüprese ratların cilt insizyonlarındaki hidroksiprolin düzeyini anlamlı şekilde artırdığı daha önce gösterilmişti<sup>185</sup>. Çalışmamızda LPS ile oluşturulan sepsis kolon anastomoz segmenti hidroksiprolin düzeyinde azalmaya neden olurken Karnitin tedavisi artışa neden oldu. Ayrıca LPS ortamında uygulanan Karnitin tedavisi azalmış olan hidroksiprolin düzeyinde artışa neden oldu. Ancak oluşan bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmadı; bunun nedeninin örnek büyüklüğü probleminden kaynaklı ve grup sayısının fazla olmasından kaynaklı olarak standart sapmanın yüksek çıkmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Anastomoz sonrası 120. saatte ölçülen anastomoz patlama basıncı anastomoz iyileşmesinin fonksiyonel göstergesi olarak kullanılmaktadır. Çünkü bu sürenin ötesine geçildiğinde anastomoz bölgesi dışındaki kolon

segmentlerinde patlama ortaya çıkmaktadır<sup>186</sup>. Patlama basıncı hem kollajen birikimini hem de kollajen çapraz bağlanmasının yeterliliğini yansıtmaktadır; bu nedenle iyileşmenin fonksiyonel değerlendirmesinde uygun bir parametredir<sup>14</sup>. LPS verilen ratlarda ve farelerde anastomoz sonrası 7. gündeki kolon anastomoz patlama basıncı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük bulunmuştur<sup>14-16,144,150</sup>. Sepsiste patlama basıncının düşmesi nedeniyle LPS ile oluşturulan endotokseminin kolon anastomoz iyileşmesinde yetersizliğe neden olduğu gösterilmiştir<sup>15</sup>. Karnitinin immünsüprese ratların cilt insizyonlarında yara gerilme gücünü arttırdığı daha önce gösterilmiştir<sup>20</sup>. Çalışmamızda yukarıda verilen literatür bilgilerine paralel şekilde LPS ile oluşturulan sepsis ortamında yapılan KA'da patlama basıncı anlamlı şekilde azaldı. Karnitin tedavisi KA patlama basıncında istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde azalmaya neden olduğu halde LPS ile oluşturulan sepsis ortamında azalmış olan kolon anastomozunun patlama basıncını anlamlı şekilde artırarak sepsis ortamında yapılan kolon anastomoz iyileşmesi üzerine olumlu etki gösterdi.

LPS ile oluşturulan sepsis ortamında yapılan kolon anastomozunun postoperatif 7. gündeki histopatolojik incelemesi ile ilgili farklı bulgular bildirilmiştir. H-E ile yapılan histopatolojik incelemede postoperatif 1. günde kolon anastomozu bölgesinde polimorfonükleer lökosit ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunun LPS ile inhibe edildiği, postoperatif 7. günde ise kontrol grubu ile kıyaslandığında fark olmadığı gösterilmiştir. Yine postoperatif 7. günde AZAN boyası ile kontrol grubuna göre LPS grubunda anastomoz bölgesinde kollajen liflerinde dejenerasyon ve düzensiz oluşum gözlenmiştir<sup>150</sup>. Diller ve ark.'ın çalışmasında postoperatif 7. günde histopatolojik değişiklikler daha çok göze çarpıyordu. Sepsis grubuna kıyasla kontrol grubunda daha az granülosit bulunmaktaydı; sepsise kıyasla kontrol grubunda vasküler yoğunlukta artış mevcuttu<sup>15</sup>. Çalışmamızda yapılan histopatolojik incelemelerde dört grupta da belirgin derecede inflamatuvar hücre infiltrasyonu yoğun damarlanma artışı ve fibroblastik proliferasyon mevcuttu ancak H-E boya skoru bakımından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

İNOS gene ekspresyonu kolon anastomoz iyileşmesinde uyarılmaktadır ve iyileşmenin bütün fazlarında bulunmaktadır, ancak

inflamatuvar fazda en fazladır. İNOS aktivitesi optimal iyileşme için gerekmektedir<sup>186</sup>. Öte yandan LPS, TNF- $\alpha$  ve anastomoz bölgesindeki iNOS'u artırarak kolon anastomoz iyileşmesinin olumsuz etkilemektedir<sup>12,15,16</sup>. İnflamatuvar barsak hastalığında uygulanan intestinal alkalın fosfataz tedavisi ise kolonda iNOS boyanmasını ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak bağırsak duvarı morfolojisinde anlamlı iyileme sağlamıştır<sup>187</sup>. Diller ve ark.'ın LPS ile sepsis oluşturduktan sonra yaptığı anastomozunda postoperatif 2. günde iNOS ekspresyonu anastomozun merkezinde tespit edilmişti ve iNOS ekspresyonu sepsis grubunda daha belirgindi<sup>15</sup>. Karnitin'in TNF- $\alpha$  ve iNOS'u azaltıp yara iyileşmesini olumlu etkilediği daha önce gösterilmişti<sup>17-20</sup>. Yukarıdaki bulgulara benzer şekilde bizim çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da LPS'in neden olduğu sepsis kolon anastomoz dokusu iNOS boyanma skorunda bir miktar artışa neden olmuştur; ancak LPS ortamında uygulanan Karnitin tedavisi iNOS skorunu azaltmamış, aksine daha da artırmıştır. Ayrıca çalışmamızda gruplardaki iNOS skorları ile nitrit-nitrat düzeyleri arasında uyumlu bir ilişki de bulunmamaktadır. Kolondaki inflamatuvar bağırsak hastalıklarında kolon NO üretimi ile iNOS aktivitesi arasında uyumlu bir ilişki saptanmamıştır, NO'nun fazla olduğu durumda iNOS az, iNOS'un fazla olduğu durumda da NO az olabilmektedir<sup>188</sup>. Bununla birlikte iNOS ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak ölçümünün yapılması gerçek NO üretimini ölçmekten daha kolay iken NO üretiminin değerlendirilmesinde iyi bir ölçme yöntemi olmayabileceği bildirilmiştir<sup>174</sup>. Yani NO'yu ölçmek daha doğru sonuç verebilir.

Çalışmamızda değerlendirmeye alınan parametrelerin birbiri ile olan ilişkilerini topluca inceleyecek olursak LPS ile uyarım serum TNF- $\alpha$  düzeyinde artışa neden olmakta, TNF- $\alpha$  ve immünmodülatör sitokin IL-12 ise diğer sitokinlerle birlikte akut ve kronik inflamatuvar yanıtı neden olan NO ve diğer inflamatuvar mediatörlerin sentezini uyarmaktadır<sup>14,190</sup>. Ayrıca LPS kolon mukozasında NO, MPO ve MDA'da yükselmeye karakterize inflamatuvar yanıtı oluşturmaktadır<sup>171</sup>. Öte yandan kolon mukozasında asetik asit enema ile oluşturulan belirgin oksidatif stres kolonik MDA ve NO içeriğini artırmakta kolonik SOD aktivitesini ise azaltmaktadır<sup>172</sup>. NO'nun kolon anastomoz iyileşmesinde düzenleyici etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir<sup>14</sup>. Düşük

konsantrasyonda NO kollajen sentezinde olumlu etkiye sahip olabilirken fazlalık durumunda toksik etki ortaya çıkarabilmektedir<sup>14</sup>. Yüksek miktarlarda NO hücre toksisitesi, hasarı ve ölüm ve inflamatuvar barsak hastalığındaki ülserasyon gibi çeşitli doku hasarlarına neden olur<sup>175</sup>. Endotoksinle oluşturulan sepsis modelinde olduğu gibi inflamatuvar yanıtın uyarılması fazla miktarda NO üretimine ve bunu takip eden doku hasarına neden olmaktadır<sup>14</sup>. Sonuç olarak Sepsis NO, MDA, MPO ve SOD aktivitesi üzerindeki etkileri ile oksidatif stres ve doku hasarına neden olmaktadır.

TNF- $\alpha$  kollajen birikimini inhibe etmekte ve yara iyileşmesini etkisizleştirme sinyali gibi fonksiyon görmektedir<sup>191</sup>. TNF- $\alpha$ 'nın inflamatuvar fazda yeni granülasyon dokusu üretimini azaltarak yara iyileşmesini inhibe ettiği gösterilmiştir<sup>192</sup>. Ayrıca TNF- $\alpha$  kollajen-1 gen ekspresyonunu ve dönüştürücü büyüme faktörü-1'i inhibe ettiği ve yara iyileşmesinde yetersizliğe neden olduğunu gösterilmiştir<sup>193</sup>. Hayvan deneylerinde reaktif oksijen türlerine ilaveten sitokinler yara iyileşmesini inhibe etmektedir. İnsan dermal fibroblast kültürlerinde TNF- $\alpha$  doza bağlı olarak kollajen üretiminde inhibisyona ve kollajenaz üretimini artırarak artmış kollajen yıkımına neden olmuştur<sup>194</sup>. Sepsis oksidatif strese neden olarak kolon anastomozu yara iyileşmesinde yetersizliğe neden olmaktadır<sup>13</sup>. Dolayısı ile sepsisin TNF- $\alpha$  ve oksidatif stres aracılığıyla kolon anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilediği söylenebilir.

Anastomoz iyileşmesinin kantitatif tanımlaması için hem mekanik hem de biyokimyasal parametreler kullanılmaktadır, ancak her ikisinin de kendine has sınırlamaları bulunmaktadır. Mekanik parametre olan patlama basıncı artan anastomoz direncini, dayanma gücünü yansıtır. Anastomoz iyileşmesinin biyokimyasal tanımlaması özel bileşeni hidroksiprolin olan kollajenin davranışı ile sınırlanmıştır. Mekanik güç ile anastomozdaki kollajen seviyesi arasında belirgin bir korelasyon gösterilememiştir. Bu nedenle değerlendirmede kollajenin kantitesine sınırlı kalmak yerine kollajenin kalitesi (örneğin: çapraz bağlanma ve tip) de incelenmelidir<sup>195</sup>. Patlama basıncı hem kollajen birikimini hem de kollajen çapraz bağlanmasının yeterliliğini yansıtmaktadır; bu nedenle iyileşmenin fonksiyonel değerlendirmesinde uygun bir parametredir<sup>149</sup>. Sepsiste kolon anastomoz patlama basıncı azalmakta yani anastomoz iyileşmesi olumsuz etkilenmektedir<sup>13</sup>.

Sepsis ve travma Karnitin'in vücut depolarında azalmasına ve vücuttaki ihtiyacın artmasına neden olmaktadır<sup>157</sup>. Normal immün ağın sürdürülebilmesi için normal endojen Karnitin havuzuna gereksinim bulunmatadır<sup>157</sup>. Sepsisteki hastalarda Karnitin metabolizmasının büyük ölçüde yetersiz hale geldiği ve çoğunda hücresele düzeyde Karnitin depolarının tükendiği biliniyor<sup>156</sup>. Ayrıca değişmiş Karnitin metabolizmasının sistemik inflamatuvar yanıt sendromu ve septik şoktaki hastaların endotoksin kaynaklı doku hasarının patofizyolojisinde ve multipl organ yetmezliğinde muhtemel etkileri ve katılımı olabileceği de gösterilmiştir<sup>156</sup>. Endojen bir antioksidan ajan olan Karnitin'in TNF- $\alpha$  ve iNOS'u azaltıp yara iyileşmesini olumlu etkilediği serum ve doku MPO, MDA düzeylerini, NO'yu ve inflamatuvar hücrelerde süperoksit anyonu üretimini azalttığı bilinmektedir.

Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı düzeylere ulaşmasa da LPS'in doku MPO, MDA ve nitrit-nitrat düzeylerinin artışına ve doku SOD aktivitesinin azalmasına neden olarak kolon anastomozunda oksidatif strese neden olduğu ve doku hidroksi prolin düzeyini azalttığı, LPS ile oluşturulan sepsis ortamında uygulanan Karnitin tedavisinin ise doku MPO, MDA ve nitrit-nitrat düzeylerinin azalmasına ve doku SOD aktivitesinin artışına neden olarak kolon anastomozunda oksidatif stresin azalmasına neden olduğu ve hidroksi prolin düzeyini artırdığı görüldü.

Araştırmanın kısıtlılıklarından kaynaklı olarak örnek büyüklüğünün küçük alınması bazı parametrelerde gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı tam olarak ortaya koyamamıştır. Grup ortalamalarının farklı olmasına karşın örnek büyüklüğü probleminde kaynaklı ve grup sayısının fazla olmasından kaynaklı olarak standart sapmanın yüksek çıkması bazı parametreler açısından gruplar arasında klinik açıdan farklılık olmasına karşın istatistik açıdan anlamlı bir farklılığın olmamasına neden olmuştur. Ancak incelenen bu parametreler tek tek değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermediyse de bunların etkilerinin hepsinin birlikte ortaya çıkması kolon anastomoz iyileşmesine olumlu etki sağlamış ve anastomoz patlama basıncında anlamlı farkın oluşmasına da katkıda bulunmuş olabilir.

Karnitin'in sepsis ortamında yapılan kolon anastomoz iyileşmesi üzerine etkilerini inceleyen literatürde daha önceden yapılmış başka bir çalışma

bulunmamaktadır. Çalışmamızda intraperitoneal yoldan uygulanan LPS sepsise neden olmuştur. Hipotezimizde ileri sürdüğümüz gibi LPS istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kolon anastomoz dokusu iNOS skorunu bir miktar artırmış, ancak LPS ortamında uygulanan Karnitin tedavisi iNOS skorunu azaltmamıştır. Yine hipotezimizde ileri sürdüğümüz gibi sepsise neden olan LPS kolon anastomozu öncesi serum TNF- $\alpha$  düzeyini anlamlı olarak artırmış, cerrahi işlem sonrasında da oransal olarak en fazla artışın devam etmesini sağlamış ve kolon anastomoz patlama basıncını anlamlı şekilde azaltarak kolon anastomoz iyileşmesini olumsuz etkilemiştir. LPS ortamında uygulanan Karnitin tedavisinin ise LPS ile artmış olan serum TNF- $\alpha$  düzeyini tek doz uygulama ile anlamlı şekilde azaltmış ve cerrahi işlemden sonra da serum TNF- $\alpha$  artış oranını azaltmış olduğunu ve kolon anastomoz patlama basıncını anlamlı şekilde artırarak kolon anastomoz iyileşmesini olumlu etkilemiş olduğunu düşünmekteyiz.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

LPS ile oluşturulan sepsis modelinin serum TNF- $\alpha$  düzeyini artırdığını ve KA'da anastomoz patlama basıncını azaltarak anastomoz yara iyileşmesini olumsuz etkilediğini, sepsis ortamında uygulanan Karnitin tedavisinin ise sepsis nedeniyle artmış olan serum TNF- $\alpha$  düzeyini azalttığını ve azalmış olan anastomoz patlama basıncını artırarak kolon anastomozunda yara iyileşmesini olumlu etkilediğini düşünmekteyiz. Karnitin tedavisi sepsis ortamında yapılacak kolon rezeksiyonu ve primer anastomoz tedavisinde anastomoz iyileşmesini olumlu etkileyerek sepsis ortamında gelişebilecek anastomoz kaçağı oranının düşürülmesine katkı sağlayabilir. Ancak Karnitin tedavisi ile ilgili olarak farklı sepsis modelleri ve farklı LPS ve Karnitin dozları kullanılarak yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.



## KAYNAKLAR

1. Guenaga KF, Lustosa SA, Saad SS, Saconato H, Matos D. Ileostomy or colostomy for temporary decompression of colorectal anastomosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 24(1): 16-24.
2. Rullier E, Laurent C, Garrelon JL, Michel P, Saric J, Parneix M. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. *Br J Surg* 1998; 85(3):355–358.
3. Karanjia ND, Corder AP, Holdsworth PJ, Heald RJ. Risk of peritonitis and fatal septicemia and the need to defunction the low anastomosis. *Br J Surg* 1991;78: 196-8.
4. Dixon AR, Maxwell WA, Holmes JT. Carcinoma of the rectum: a 10-year experience. *Br J Surg* 1991; 78: 308-11.
5. Kingham TP, Pachter HL. Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment. *J Am Coll Surg.* 2009;208(2):269-78.
6. Pieracci FM, Barie PS. Intra-abdominal infections. *Curr Opin Crit Care.* 2007 Aug;13(4):440-9.
7. Regenet N, Pessaux P, Hennekinne S, et al. Primary anastomosis after intraoperative colonic lavage vs. Hartmann's procedure in generalized peritonitis complicating diverticular disease of the colon. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18: 503–507.
8. Constantinides VA, Heriot A, Remzi F, et al. Operative Strategies for Diverticular Peritonitis A Decision Analysis Between Primary Resection and Anastomosis Versus Hartmann's Procedures. *Ann Surg.* 2007; 245(1): 94–103.
9. Abbas S. Resection and primary anastomosis in acute complicated diverticulitis, a systematic review of the literature. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 351–357.
10. Huser N, Michalski CW, Erkan M, et al. Systematic review and meta-analysis of the role of defunctioning stoma in low rectal cancer surgery. *Ann Surg* 2008; 248(1):52–60.

11. Chow A, Tilney HS, Paraskeva P, Jeyarajah S, Zacharakis E, Purkayastha S. The morbidity surrounding reversal of defunctioning ileostomies: a systematic review of 48 studies including 6,107 cases. *Int J Colorectal Dis.* 2009 ;24(6): 711-23.
12. Diller R, Stratmann U, Minin E, et al. ATIII attenuates endotoxemia induced healing impairment in the colon. *J Surg Res.* 2009;157(1):4-13.
13. Teke Z, Sacar S, Yenisey C, Atalay AO, Kavak T, Erdem E. Role of Activated Protein C on Wound Healing Process in Left Colonic Anastomoses in the Presence of Intra-abdominal Sepsis Induced by Cecal Ligation and Puncture: An Experimental Study in the Rat. *World J Surg* 2008; 32: 2434–2443.
14. Thornton FJ, Ahrendt GM, Schaffer MR, Tantry US, Barbul A, Sepsis Impairs Anastomotic Collagen Gene Expression and Synthesis: A Possible Role for Nitric Oxide. *Journal Of Surgical Research* 1997; 69, 81–86.
15. Diller R, Stratmann U, Helmschmied T, et al. Microcirculatory Dysfunction in Endotoxemic Bowel Anastomosis: The Pathogenetic Contribution of Microcirculatory Dysfunction to Endotoxemia-Induced Healing Impairment. *Journal of Surgical Research* 2008;150, 3–10.
16. Ishimura K, Moroguchi A, Okano K, Maeba T, Maeta H, Local Expression of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and Interleukin-10 on Wound Healing of Intestinal Anastomosis During Endotoxemia in Mice. *Journal of Surgical Research* 2002; 108, 91–97.
17. Sener G, Demiralp EE, Cetiner M, ve ark. L-Carnitine ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury and inhibits leukocyte death. *Cell Biology and Toxicology* 2006; 22: 47–60.
18. Koeck T, Kremser K. L-Carnitine alters nitric oxide synthase activity in fibroblasts depending on the peroxisomal status. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 35 2003; 149–156.
19. Lohninger A, Pittner G, Pittner F. L-Carnitine: New Aspects of a Known Compound – A Brief Survey. *Monatshefte fur Chemie* 2005;136, 1255–1268.
20. Akkus A, Aydinuraz K, Daphan C, ve ark. Effect of Carnitine on Cutaneous Wound Healing in Immunosuppressed Rats<sup>1</sup>. *Journal of Surgical Research* 2009; 155, 301–305.

- 21.**Rackow EC. Clinical definition of sepsis and septic shock. In:Sibbald WJ, Sprung CL (eds) New horizons:perspectives of sepsis and septic shock. Society of Critical Care Medicine, Fullerton, 1986; 1-9.
- 22.**Bone RB, Grodzin CG, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1998; 112:235-243.
- 23.**Parrillo JE, Parker MM, Natanson C. Septic shock; advances in understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction, and therapy. Ann Intern Med 1990;113:227-242.
- 24.**Muckart DJJ, Bhagwanjee S. American College of chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definition of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients. Crit Care Med 1997; 25: 1789-1795.
- 25.**Knaus WA, Sun X, Nystrom PO, Wagner DP. Evaluation of definitions for sepsis. Chest 1992;101:1656-1662.
- 26.**Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference :definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992;20: 864-874.
- 27.**Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. Septic shock: pathogenesis. Lancet 1991; 338: 732–736.
- 28.**Woltmann A, Hamann L, Ulmer AJ, Gerdes J, Bruch HP, Rietschel ET. Molecular mechanisms of sepsis. Langenbecks Arch Surg 1998; 383: 2–10.
- 29.**Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. Intensive Care Med 2000; 26 (Suppl 1): S64–S74.
- 30.**Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Wesley RA, Reilly JM, Parrillo JE. Endotoxemia in human septic shock. Chest 1991; 99: 169–175.
- 31.**Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. Ann Intern Med 1993; 119: 771–778.
- 32.**Opal SM, Scannon PJ, Vincent JL et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. J Infect Dis 1999; 180: 1584–1589.

- 33.**Testini M, Margari A, Amoruso M, Lissidini G, Bonomo GM. The dehiscence of colorectal anastomoses: the risk factors. *Ann Ital Chir.* 2000;71(4):433-40.
- 34.**Naycı A, Polat A, Çömelekoğlu Ü, Polat G, Renda N, Avlan D. The Role of Nitric Oxide on the Healing of Colonic Anastomoses in the Presence of Intra-abdominal Sepsis: an Experimental Study in Rats. *Ankara Cerrahi Dergisi* 2003; 17: 8-14.
- 35.**Ahrendt GM, Gardner K, Barbul A. Loss of colonic structural collagen impairs healing during intra-abdominal sepsis. *Arch Surg* 1994;129:1179-83.
- 36.**Ahrendt GM, Tantry U, Barbul A. Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg* 1996;171:102-8.
- 37.**Hogstrom H, Bondeson L, Haglund U. Neutrophilinduced decreases in wound margin strength after intestinal anastomoses: influence on collagen and mechanisms of granulocyte action. *Eur Surg Res* 1988; 20: 260-6.
- 38.**Shandall AA, Williams GT, Hallett MB, Young HL Colonic healing: a role for polymorpho nuclear leucocytes and oxygen radical production. *Br J Surg* 1986;73: 225-8.
- 39.**Linda G, Philips MD. Wound healing. In: Sabiston Textbook of Surgery. 16. baskı. Philadelphia: WB Saunders Company, 2001; 1: 131-144.
- 40.**Gregory SG, Nicholas GG, Ronald R, William JB. Biology of Tissue Injury and Repair. In: Textbook of Plastic Maxillofacial and Reconstructive Surgery. Wilkins Wilkins, Baltimore :W&W, 1992; 1:3-14.
- 41.**Bardach J. Local Flaps and Free Skin Grafts. Normal and Abnormal Wound Healing. 1995; 9-23.
- 42.**Robinson JB, Ronald M. Wound Healing and Closure. In Fridman RM (ed):Selected Readings in Plastic Surgery. Baylor University Medical Center, The University of Texas, Southwestern Medical Center 1995; 8: 1-23.
- 43.**Mimis Cohen. Eds. Mastery of Plastic and Reconstructive Surgery; Wound Healing, Boston, Little, Brown and Company 1994; 1:3-13.
- 44.**McCarthy. Wound Healing. In McCarthy JG (ed): Plastic Surgery. Philadelphia, W.B Saunders Company 1990; 1: 161-185.
- 45.**Brasken B. Healing of experimental colon anastomoses. *Acta Chirurgica Eur J Surg Supp* 1991; 566: 1-51.

- 46.**Hermann JB, Woodward SC, Pulaski EJ. Healing of colonic anastomoses in the rat. *Surg. Gynecol Obst* 1964; 199: 269-275.
- 47.**Khoury GA, Waxman BP. Large bowel anastomoses. The healing process and sutured anastomoses. A review *Br J Surg* 1983;70:61-63.
- 48.**Hesp F, Hendriks T, Lubbers E-JC, DeBoer HHM. Wound healing in the intestinal wall. A comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Dic Colon Rectum* 1984; 27: 99-104.
- 49.**Tronton F, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin N Am* 1997; 77(3): 549-573.
- 50.**Cohen K, Diegelman R, Crossland M. Wound care and wound healing. *Principle of surgery. Schwartz 6 th ed. McGraw-Hill America* 1994; 1: 293-294.
- 51.**Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses. The effect of suture technic on collagen concentration in the colonic wall *Am J Surg* 1978; 135: 333-340.
- 52.**Irvan TT, Hunt TK. Reappraisal of the healing process of anastomoses of the colon. *Surg Gynecol Obstet* 1974; 138: 741-746.
- 53.**Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses III. Collagen metabolism in the colon after left colon resection. *Am J Surg* 1980; 139: 398-405.
- 54.**Högström H, Haglund U. Early decrease in suture line breaking strength. The effect of proposed collagenase inhibition. *Res Exp Med* 1985; 185: 451-455.
- 55.**Crowcat NL, Svage FJ, Lewin MR, Boulus PB. Direct measurement of collagenase in colonic anastomosis. *Br J Surg* 1990; 77: 1284-1287.
- 56.**Hawley PR, Faulk WP, Hunt TK, Dunphy JE. Collagenase activity in the gastrointestinal tract. *Br J Surg.* 1970; 57(12): 896-900.
- 57.**Oyamada I, Kitaoka M, Araki C, Yoshioka H, Usuku G. Collagenase from the culture medium of rabbit colon wall with special reference to the latent type and substrate specificity. *Gastroenterology* 1983; 85(2): 376-384
- 58.**Crowcat NL, Svage FJ, Hembry RM, Boulus PB. Role of collagenase in colonic anastomoses: a reappraisal. *Br J Surg* 1988; 75: 330-334.

- 59.**Jiborn H, Ahonen J, Zederfeldt B. Healing of experimental colonic anastomoses I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *Am J Surg* 1987; 136: 587-594.
- 60.**Faster ME, Laycock JRD, Silver IA, Leaper DJ. Hypovolaemia and healing in colonic anastomoses. *Br J Surg* 1985; 72: 831-834.
- 61.**Goligher JC, Graham NG, Dombal FT. Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg* 1970; 57(2): 109-118.
- 62.**Nikaido H, Vaara M. Outer membrane. In: Neidhardt FC (ed). *Escherichia coli and Salmonella typhimurium*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1987; 7–22.
- 63.**Hayashi S, Wu HC. Lipoproteins in bacteria. *J Bioenerg Biomembr* 1990; 22: 451–471.
- 64.**Dmitriev BA, Ehlers S, Rietschel ET. Layered murein revisited: a fundamentally new concept of bacterial cell wall structure, biogenesis and function. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1999; 187: 173–181.
- 65.**Rietschel ET, Brade H, Holst O, et al. Bacterial endotoxin: chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996; 216: 39–81.
- 66.**Holst O, Ulmer AJ, Brade H, Flad HD, Rietschel ET. Biochemistry and cell biology of bacterial endotoxins. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1996; 16: 83–104.
- 67.**Zähringer U, Lindner B, Rietschel ET. Chemical structure of lipid A: recent advances in structural analysis of biologically active molecule. In: Brade H, Opal SM, Vogel SN, Morrisson DC (eds). *Endotoxin in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, 1999; 93–114.
- 68.**Schumann RR, Leong SR, Flagg GW, et al. Structure and Function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 1990; 249:1429–1431.
- 69.**Tobias PS, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide binding protein and CD 14 in LPS-dependent macrophage activation. *Immunobiol* 1993; 187:227–232.
- 70.**Margaretten W, McKay DG: Thrombotic ulcerations of the gastrointestinal tract. *Arch Intern Med* 1971; 127:250–253.
- 71.**Rietschel ET, Brade H, Holst O, et al. Bacterial endotoxin: chemical constitution, biological recognition, host response and immunological

detoxification. In: Rietschel ET, Wagner H(eds). Pathology of Septic Shock. Berlin: Springer-Verlag. 1996;40–81.

**72.**Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science 1990; 249:1431–1433.

**73.**Ziegler-Heitbrock HWL, Ulevitch RJ. CD14, cell surface receptor and differentiation marker. Immunol Today 1993; 14: 121–125.

**74.**Marsh CB, Wewers MD. The pathogenesis of sepsis. Clin Chest Med 1996; 17: 183–197.

**75.**Haziot A, Chen S, Ferrero E. The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. J Immunol, 1988; 141:547–552.

**76.**O’Neil S, Hunt J, Filkins J, et al. Obstructive jaundice in rats results in exaggerated hepatic production of tumor necrosis factor- $\alpha$  and systemic and tissue tumor necrosis factor- $\alpha$  levels after endotoxin. Surgery 1997; 122: 281–286.

**77.**Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann Tr, Howard M, O’Garra A. Interleukin–10 inhibits cytokine production by activated macrophages. J Immunol 1991; 147:3815–3822.

**78.**Pain JA, Cahil CJ, Bailey ME. Perioperative complications in obstructive jaundice: therapeutic considerations. Bri J Surg 1985; 72: 942–945.

**79.**Alexander C, Rietschel ET, Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. Journal of Endotoxin Research 2001; 7: 167-202.

**80.**Beaux AC, Goldie AS, Ross JA, Carter D, Fearon KCH. Serum concentrations of inflammatory mediators related to organ failure in patients with acute pancreatitis. Bri J Surg 1996; 83: 349–353.

**81.**Roumen RMH, Hendricks T, Van der Ven-Jongekrijg J, et al. Cytokine patterns in patients after major surgery hemorrhagic shock and severe blunt trauma. Ann Surg 1993; 218:769–776.

**82.**Sayan M, Alponat A, Yavuz N, Altinkaya E, Göksel S, Sarıyar M. The effect of oral sodium taurocholate on endotoxemia and intestinal anastomotic wound healing in rats with obstructive jaundice. JPN J Surg 1997;27: 953–957.

- 83.**Pugin J, Schurer-Maly CC, Leturcq D, Moriarty A, Ulevitch RJ, Tobias PS. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2744–2748.
- 84.**Loppnow H, Stelter F, Schönbeck U, et al. Endotoxin activates human vascular smooth muscle cells despite lack of expression of CD14 mRNA or endogenous membrane CD14. *Infect Immun* 1995; 63: 1020–1026.
- 85.**Helfgott DC, May LT, Stoeber Z, Tamm I, Sehgal PB. Bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) enhances expression and secretion of beta 2 interferon by human fibroblasts. *J Exp Med* 1987; 166: 1300–1309.
- 86.**O'Connor MJ, Sumner HW, Schwartz ML. The clinical and pathologic correlations in mechanical biliary obstruction and acute cholangitis. *Ann Surg* 1982; 195:419–423.
- 87.**Scott-Conner CEH, Grogan JB. The pathophysiology of biliary obstruction and its effect on phagocytic and immune function. *J Surg Res* 1994; 57:316–336.
- 88.**Talmadge JE, Bowersox O, Tribble H, Lee SH, Shepard M, Liggitt D: Toxicity of tumor necrosis factor is synergistic with gamma interferon and can be reduced with cyclooxygenase inhibitors. *Am J Pathol* 1987; 128:410–425.
- 89.**Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Elton RA, Davies GC. Upper gastrointestinal bleeding. A significant complication after surgery for relief of obstructive jaundice. *Ann Surg* 1984;199:271–275.
- 90.**Dixon JM, Armstrong CP, Duffy SW, Davies GC. Factors affecting morbidity and mortality after surgery for obstructive jaundice: a review of 373 patients. *Gut* 1983; 24: 845–852.
- 91.**Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986; 234:470–473.
- 92.**Bemelmans MHA, Gouma DJ, Greve JWM, Burman WA. Cytokines tumor necrosis factor and interleukin -6 in experimental biliary obstruction in mice. *Hepatology* 1992;15: 1132–1136.
- 93.**İnan M, Sayek I, Tel BC, Erdemli SI. Role of endotoxin and nitric oxide in the pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. *Bri J Surg* 1997;84: 943–947.



- 94.**Fletcher MS, Westwick J, Kakkar VV. Endotoxin, prostoglandins and renal fibrin deposition in obstructive jaundice. *Bri J Surg* 1982; 69: 625–629.
- 95.**Allison MEM, Prentice CRM, Kennedy AC, Blumgart LH. Renal function and other factors in obstructive jaundice. *Bri J Surg* 1979; 66: 392–397.
- 96.**Greig JD, Krukowski ZH, Matheson NA. Surgical morbidity and mortality in one hundred and twenty-nine patients with obstructive jaundice. *Bri J Surg* 1988; 75: 216–219.
- 97.**Kawaguchi K, Koike M. Glomerular alterations associated with obstructive jaundice. *Human Pathol* 1987; 18: 1149–1154.
- 98.**Lee E. The effect of obstructive jaundice on the migration of reticuloendothelial cells and fibroblasts into early experimental granulomata. *Bri J Surg* 1972; 59: 875–877.
- 99.**Wardle EN. Endotoxin and acute renal failure. *Nephron* 1975; 14: 321–332.
- 100.**Hurley J, Levin J. The relevance of endotoxin detection in sepsis. In: Brade H, Opal SM, Vogel SN, Morrisson DC (eds). *Endotoxin in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker 1999; 841–854.
- 101.**Mannel DN. Advances in sepsis research derived from animal models. *International Journal of Medical Microbiology* 2007;297: 393–400
- 102.**Rebouche CJ, Seim H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu Rev Nutr* 1998; 18: 39-61.
- 103.**Wu X, Huang W, Prasad PD et al. Functional characteristics end tissue distribution pattern of organic catio transporter 2(OCTN2), an organic cation/carnitine transporter. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290:1482-92.
- 104.**Akar H, Sarac A, Konuralp C, et al. Comparison of histopathologic effects of carnitine and ascorbic acid on reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19: 500–506.
- 105.**Rebouche CJ, Engel AG. Tissue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man. *Biochim Biophys Acta* 1980;630: 22-9.
- 106.**Rebouche CJ. Carnitine function end requirements during the life cycle. *Faseb J* 1992;6: 339-86.
- 107.**Fritz IB, Marquis NR. The role of acylcarnitine esters and carnitine palmityltransferase in the transport of fatty acyl groups across mitochondrial membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1965;54: 1226-33.

- 108.**Rebouche CJ, Paulson DJ, Carnitine Metabolism and Function in Humans. *Ann Rev Nutr* 1986; 6: 41-46.
- 109.**Vanella A, Russo A, Acquaviva R, et al. L-propionyl-carnitine as superoxide scavenger, antioxidant, and DNA cleavage protector. *Cell Biol Toxicol* 2000;16: 99–104.
- 110.**Paulson DJ, Shug AL. Experimental evidence of the anti-ischemic effect of L-carnitine. In: de Jong JW, Ferrari R (eds). *The Carnitine System: A New Therapeutic Approach to Cardiovascular Diseases*. 1st ed. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1995;183–197.
- 111.**Canbaz H, Akca T, Tataroğlu C ve ark. The Effects of Exogenous L-Carnitine on Lipid Peroxidation and Tissue Damage in an Experimental Warm Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury Model. *Current Therapeutic Research* 2007;68: 32-46.
- 112.**Mister M, Noris M, Szymczuk J et al. Propionyl-L-carnitine prevents renal function deterioration due to ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2002;61: 1064–1078.
- 113.**Akgun S, Tekeli A, Kurtkaya O et al. Neuroprotective effects of FK-506, L-carnitine and azathioprine on spinal cord ischemia-reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25: 105–110.
- 114.**Tellioglu AT, Uras KA, Yilmaz T, et al. The effect of carnitine on random-pattern flap survival in rats. *Plast Reconstr Surg* 2001;108:959–962.
- 115.**Fortin G, Yurchenko K, Collette C, et al. L-carnitine, a diet component and organic cation transporter OCTN ligand, displays immunosuppressive properties and abrogates intestinal inflammation. *British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology* 2009; 156: 161–171.
- 116.**D’Argenio G, Calvani M, Casamassimi A, et al. Experimental colitis: decreased Octn2 and Atp0+ expression in rat colonocytes induces carnitine depletion that is reversible by carnitine –loaded liposomes. *Faseb J* 2006;20: 2544-6.
- 117.**Athanassakis I, Mouratidou M, Sakka P, Evangelidou A, Spilioti M, Vassiliadis S. L-carnitine modifies the humoral immune response in mice after in vivo treatment. *Int Immunopharmacol* 2001;1: 1813-22.

- 118.**Fattorossi A, Biselli R, Casciaro A, Tzantzoglou S, de Simone C. Regulation of normal human polynorphonuclear leucocytes by carnitine. *Mediators Inflamm* 1993;2:S37-41.
- 119.**Bieber, LL, Emaus R, Valkner K, Farrel S. Possible functions of short-chain and medium-chain carnitine acyltransferases. *Fed Proc*1982; 41: 2858-62.
- 120.**Kerbey AL, Randle Pj, Cooper RH, Whitehouse S, Pask H. Regulation of pyruvate dehydrogenase in rat heart. *Bioche J*1976;154:327-48.
- 121.**Kosbasi S, Yilmaz T. The effect of carnitine on wound healing by secondary intention in an animal model. *Wounds* 2005; 17: 62.
- 122.**Pata YS, Akbas Y, Unal M ve ark. Prevention of laryngotracheal stenosis with carnitine after tracheotomy: An experimental study on rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003;67: 881-8.
- 123.**Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato K. Membrane damage due to lipid oxidation. *Am J Clin Nutr* 1991;53: 201–205.
- 124.**Şehirli AÖ, Sener G, Satiroğlu H, Ayanoğlu-Dülger G. Protective effect of N-acetylcysteine on renal ischemia/reperfusion injury in rat *J Nephrol* 2003; 16: 75-80.
- 125.**Şener G, Şehirli AÖ, Satiroğlu H, Keyer UM, Yeğen BC. Melatonin improves oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns* 2002; 28: 419–425.
- 126.**Youn YK, Suh GJ, Jung SE, Oh SK, Demling R. Recombinant human growth hormone decreases lung and liver lipid peroxidation and increases antioxidant activity after thermal injury in rats. *J Burn Care Rehabil* 1998; 19: 542–548.
- 127.**Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: D. Armstrong (eds). *Free Radicals in Diagnostic Medicine*. Plenum Press, New York: 1994: 1-15.
- 128.**Cuzzucrea S, Mazzon E, Costantino G, Serraino I, De Sarro A, Caputi AP. Effects of n-acetylcysteine in a rat model of ischemia reperfusion injury *Cardiovasc Res* 2000; 47,537–548.
- 129.**Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. 1994; 307(4): 284-292.

- 130.**Sun YI, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinically assay of superoxide dismutase. *Clin Chemistry* 1988; 34(3): 497-500.
- 131.**Demir S, Erden MI. Pentoxifylline and N-acetylcystein in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clinica Chimica Acta* 1998; 275: 127-135.
- 132.**Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 271:c1424-37.
- 133.**Moncada S, Higgs EA. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *Faseb J* 1995;9: 1319-30.
- 134.**Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br. J. Surg.* 1995;82: 1598.
- 135.**Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb J* 1992;6: 3051.
- 136.**Marletta MA. Mammalian synthesis of nitrite, nitrate, nitric oxide, and N-nitrosating agents. *Chem Res Toxicol* 1988;1: 249-57.
- 137.**Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals *Biochem J* 1994;298:249.
- 138.**Albina JE. On the expression of nitric oxide synthase by human macrophages. Why no NO? *J Leukoc Biol* 1995; 58: 643-9.
- 139.**Boughton-Smith NK, Evans SM, Whittle BJ, Moncada, S. Induction of nitric oxide synthase in rat intestine and its association with tissue injury. *Agents Actions* 38:Spec C1993;125.
- 140.**Xie Q, Nathan C. The high-output nitric oxide pathway: role and regulation *J Leukocyte Biol* 1994;56:576.
- 141.**Seago ND, Clark DA, Miller MJ. Role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and peroxynitrite in gut inflammation. *Inflamm Res.* 1995;44(Suppl.2):S153.
- 142.**David T, Efron MD, Frank J, et al. *Journal of Gastrointestinal Surgery.* 1999;3(6): 592-601.
- 143.**Efron DT, Most D, Shi HP, Tantry US, Barbul A. Modulation of growth factor and cytokine expression by nitric oxide during rat colon anastomotic healing. *J Gastrointestinal Surg* 2003;7(3):393-9.

- 144.**Diller R, Stratmann U, Minin E, et al. ATIII Attenuates Endotoxemia Induced Healing Impairment in the Colon. *Journal of Surgical Research* 2009; 1–10.
- 145.**Fazli D, Hakan A, Ahmet CC. Comparison of the adhesion scoring systems used in animal models and assessment of interobserver reproducibility *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2006; 46: 356-359.
- 146.**Golowich SP, Kaplan SD. *Methods in enzymology*. Vol. II. New York: Academic Press, 1955; 769.
- 147.**Durak I, Canbolat O, Kavutcu M, Öztürk HS, Yurtarlan Z. Activities of total, cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *J Clin Lab Anal* 1996;10: 17–20.
- 148.**Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK. Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. *Ann Surg* 1973; 177:222-227.
- 149.**Leonard N, Bishop AE, Polak JM, Talbot IC. Expression of nitric oxide synthase in inflammatory bowel disease is not affected by corticosteroid treatment *J Clin Pathol* 1998;51:750-753.
- 150.**Ishimura K, Tsubouchi T, Okano K, et al. Wound Healing of Intestinal Anastomosis after Digestive Surgery under Septic Conditions: Participation of Local Interleukin-6 Expression. *World J Surg* 1998;22: 1069–1076.
- 151.**Ebdrup L, Krog J, Granfeldt A, et al. Leukocyte, plasma, and organ-associated cytokine profiles in an animal model of acute inflammation. *APMIS* 2008; 116: 352–360.
- 152.**Schünemann HJ, Jaeschke R, Cook DJ, et al. On behalf of the ATS Documents Development and Implementation Committee: An official ATS statement: Grading the quality of evidence and strength of recommendations in ATS guidelines and recommendations *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:605–61.
- 153.**Gallo LL, Tian Y, Orfalian Z, and Fiskuml G, Amelioration of lipopolysaccharide-induced sepsis in rats by free and esterified carnitine. *Mediators of Inflammation* 2. 1993;51-56.

- 154.**Winter BK, Fiskum G, Galo LL. Effects of L-carnitine on serum triglyceride and cytokine levels in rat models of cachexia and septic shock. *British Journal of Cancer* 1995;72:1173-1179.
- 155.**Dellinger RP. Cardiovascular management of septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31: 946–955.
- 156.**Famularo G, De Simone C, Heidelberg G. Carnitine deficiency: primary and secondary syndromes. In *Carnitine Today* Landes Bioscience. Austin TX 1997; 119–161.
- 157.**Famularo G, De Simone C, Trinchieri V, Moca L. Carnitines and Its Congeners A Metabolic Pathway to the Regulation of Immune Response and Inflammation. *New York Academy of Sciences* 2004;1033:132-138.
- 158.**Bendtsen K. Interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor in infection, inflammation and immunity. *Immunol Lett* 1988;19: 183.
- 159.**Demirkol M, Sewell AC, Bohles H. The variation of carnitine content in human blood cells during disease--a study in bacterial infection and inflammatory bowel disease. *Eur J Pediatr* 1994; 153: 565
- 160.**Adlouni HA, Katrib K, Ferard G. Changes in carnitine in polymorphonuclear leukocytes, mononuclear cells, and plasma from patients with inflammatory disorders. *Clin Chem* 1988; 34: 40
- 161.**De Simone C, Famularo G, Tzantzoglou S, Trinchieri V, Moretti S, Sorice F. Carnitine depletion in peripheral blood mononuclear cells from patients with AIDS: effect of oral L-carnitine. *AIDS* 1994; 8(5): 655-60.
- 162.**De Simone C, Tzantzoglou S, Famularo G, et al. High dose L-carnitine improves immunologic and metabolic parameters in AIDS patients *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1993; 15: (1) 1-12.
- 163.**Hiki N, Shimizu N, Imamura K, et al. Manipulation of the small intestine as a cause of increased inflammatory response after open compared with laparoscopic surgery. *Br J Surg* 2006; 93: 195.
- 164.**Jacobi CA, Zieren HU, Sabat R, et al. Comparison of local and systemic inflammation after laparotomy or laparoscopy in the rat sepsis model. *Langenbecks Arch Chir* 1997;382(4 Suppl 1):S9.

- 165.**Zubaidi A, Buie WD, Hart DA, Sigalet D, Temporal Expression of Cytokines in Rat Cutaneous, Fascial, and Intestinal Wounds: A Comparative Study. *Dig Dis Sci* 2010; 55(6): 1581-1588.
- 166.**Uchimura K, Nagasaka A, Hayashi R, et al. Changes in superoxide dismutase activities and concentrations and myeloperoxidase activities in leukocytes from patients with diabetesmellitus. *J Diabetes Complications* 1999;13(5-6):264–270.
- 167.**Aytekın FO, Teke Z, Aydın C. Effects of a membrane-permeable radical scavenger, Tempol, on healing of colonic anastomoses in the cecal ligation and puncture model of polymicrobial sepsis in rats. *The American Journal of Surgery* 2007;193: 723–729
- 168.**Hingh IH, van Goor H, de Man BM, et al. No detrimental effects of repeated laparotomies on early healing in experimental intestinal anastomoses. *Int J Colorectal Dis* 2005;20: 534.
- 169.**Yamaguchi Y, Hisama N, Okajima K, et al. Pretreatment with activated protein C or active human urinary thrombomodulin attenuates the production of cytokine-induced neutrophil chemoattractant following ischemia/reperfusion in rat liver. *Hepatology* 1997; 25: 1136–1140.
- 170.**Goode, Helen F. Fimls P, et al. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Critical Care Medicine*. 1995;23(4):646-651.
- 171.**Mei Q, Xu JM, Xiang L, Hu YM, Hu XP, Xu ZW. Change of nitric oxide in experimental colitis and its inhibition by melatonin in vivo and in vitro. *Postgrad Med J* 2005;81: 667–672.
- 172.**Dong WG, Liu SP, Yu BP, Wu DF, Luo HS, Yu JP. Ameliorative effects of sodium ferulate on experimental colitis and their mechanisms in rats. *World J Gastroenterol* 2003;9(11):2533–2538.
- 173.**Buttery LDK, Polak JM. Localisation of nitric oxide synthase: alterations in disease. *Curr Diagn Pathol* 1995;2: 111-21.
- 174.**Leonard N, Bishop AE, Polak JM, Talbot IC. Expression of nitric oxide synthase in inflammatory bowel disease is not affected by corticosteroid treatment *J Clin Pathol* 1998;51: 750-753.

- 175.**Wallace JL, Tigley AW. New insights into prostaglandins and mucosal defence. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9: 227-235.
- 176.**Middleton SJ, Shorthouse M, Hunter JD. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis. *Lancet* 1993;341:465-6.
- 177.**Fridovich I. Oxygen radicals, hydrogen peroxide, and oxygen toxicity. In: Pryor WA (ed). *Free Radicals in Biology*. New York, NY: Academic Press; 1976:239–277.
- 178.**Yang TC, Zhang SW, Sun LN, Wang H, Ren AM. Magnolol attenuates sepsis-induced gastrointestinal dysmotility in rats by modulating inflammatory mediators. *World J gastroenterol*. 2008;14(48):7353-60.
- 179.**Kuralay F, Yildiz C, Ozutemiz O, et al. Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female Swiss rats. *J Toxicol Environ Health A* 2003;66 (2):169–179.
- 180.**Elliott GR, Lauwen AP, Bonta IL. The effect of acute feeding of carnitine, acetyl carnitine and propionyl carnitine on basal and A23187-stimulated eicosanoid release from rat carrageenanelicited peritoneal macrophages. *Br J Nutr*. 1990;64: 497–503.
- 181.**Thomas S, Fischer FP, Mettang T, Pauli-Magnus C, Weber J, Kuhlmann U. Effects of L-carnitine on leukocyte function and viability in hemodialysis patients: A double-blind randomized trial. *Am J Kidney Dis*. 1999;34: 678–87.
- 182.**Arduini A, Bonomini M, Savica V, Amato A, Zammit V. Carnitine in metabolic disease: Potential for pharmacological intervention. *Pharmacology & Therapeutics* 2008;120:149-156.
- 183.**Stegemann H, and Stalder, K. Determination of hydroxyproline. *Clin Chim Acta*1967; 18: 267.
- 184.**Woessner JF. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961; 93: 440-7.
- 185.**Christensen H, Langfelt S, Laurberg S. Bursting. Strength of Experimental Colonic Anastomoses-A Methodological Study. *Eur Surg Res*1993;25(1):38-45.
- 186.**Efron DT, Thornton. FJ, Steulten C, et al. Expression and function of inducible nitric oxide synthase during rat colon anastomotic healing. *Journal of Gastrointestinal Surgery*.1999;3: 592-601.



- 187.**Tuin A, Poelstra K, de Jager-Krikken A, et al. Role of alkaline phosphatase in colitis in man and rats. *Gut* 2009;58(3):379-87.
- 188.**Rachemilewitz D, Stampler JS, Bachwich D, et al. Enhanced colonic nitric oxide generation and nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 1995; 36: 718-23.
- 189.**Fearond T, Locksley RM. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* 1996; 272: 50-53.
- 190.**Trinchieri G. Interleukin- 12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol*1995; 13: 251-276.
- 191.**Kitzis V, Engrav LH, Quinn LS. Transient exposure to tumor necrosis factor- inhibits collagen accumulation by cultured hypertrophic scar fibroblasts. *J Surg Res*1999; 87: 134,
- 192.**Rapala K, Laato M, Ninikoski J, et al. Tumor necrosis factor alpha inhibits wound healing in the rat. *Eur. Surg. Res.*1991; 23: 261.
- 193.**Buck M, Houglum K, Chojkier M. Tumor necrosis factor inhibits collagen 1 gene expression and wound healing in a murine model of cachexia. *Am J Pathol* 1996;149: 195.
- 194.**Mauviel A, Daireaux M, Redini F, et al. Tumor necrosis factor inhibits collagen and fibronectin synthesis in human dermal fibroblasts. *FEBS Lett* 1988;236: 47–52
- 195.**Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum* 1990;33(10):891-901.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ATP</b>	: Adenozintrifosfat
<b>B</b>	: Beta
<b>DİC</b>	: Yaygın intravasküler pıhtılaşmalara
<b>EGF</b>	: Epidermal growth faktör
<b>ELİSA</b>	: Enzim linked immunoassay
<b>FGF</b>	: Fibroblast growth faktör
<b>GAG</b>	: Glikozaminoglikanlar
<b>Gpi</b>	:Glikozilfosfoinozitol
<b>HETAAB</b>	:Hekza Adezil Trimetil Amonyum Bromid
<b>H-E</b>	: Hematoksilen-eozin
<b>IL-1</b>	: İnterlökin 1
<b>İNOS</b>	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>İ.P</b>	: İntraperitoneal
<b>KA</b>	: Kolon Anastomozu
<b>LBP</b>	: lipoprotein bağlayıcı protein
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MDA</b>	:Malondialdehit
<b>MPO</b>	:Miyeloperoksidaz
<b>NR</b>	:Nitrat redüktaz
<b>NO</b>	:Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentaz
<b>NBT</b>	:Nitroblue tetrazoluim
<b>OCTN2</b>	:Organik katyon taşıyıcısı
<b>OKT-1</b>	:all-T-cell marker
<b>PAF</b>	:Platlet activated growth faktör
<b>PDGF</b>	:Platlet derivated growth faktör
<b>PMNL</b>	:Polimorfonükler lökositler
<b>S.K</b>	:Subkutan
<b>SOD</b>	:Süperoksit Dismutaz
<b>TGF<math>\alpha</math></b>	:Transforming growth faktör alfa

**TGF $\beta$**  : **Transforming growth faktör beta**  
**TNF** : **Tümör nekroz faktörü**  
**TNF- $\alpha$**  : **Tümör nekroz faktör alfa**

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekiller</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b> ( Yara iyileşmesi süreklilik diyagramı)	<b>14</b>
<b>Şekil 2</b> (Ratların deney sürecindeki ağırlık değişimleri)	<b>43</b>
<b>Şekil 3</b> (Ratların deney sürecindeki ağırlık azalmasının Yüzdeleri)	<b>44</b>
<b>Şekil 4</b> (Gruplardaki yapışıklık skorları )	<b>45</b>
<b>Şekil 5</b> (Kolon anastomoz patlama basıncı ile ilgili grafik)	<b>46</b>
<b>Şekil 6</b> (Lökosit sayımı ile ilgili grafik)	<b>47</b>
<b>Şekil 7</b> (Doku MPO ile ilgili grafik)	<b>48</b>
<b>Şekil 8</b> (Doku MDA ile ilgili grafik)	<b>49</b>
<b>Şekil 9</b> (Doku SOD aktivitesi ile ilgili grafik)	<b>50</b>
<b>Şekil 10</b> (Doku nitrit-nitrat ile ilgili grafik)	<b>51</b>
<b>Şekil 11</b> (Doku TNF- $\alpha$ ile ilgili grafik)	<b>52</b>
<b>Şekil 12</b> (Serum TNF- $\alpha$ düzeyleri. Cerrahi öncesi ve sonrası)	<b>53</b>
<b>Şekil 13</b> (Deney sonundaki ve cerrahi işlemden önceki serum TNF- $\alpha$ düzeyleri farkının yüzdesi ile ilgili grafik)	<b>54</b>
<b>Şekil 14</b> (Doku hidroksiprolin düzeyleri ile ilgili grafik)	<b>55</b>
<b>Şekil 15</b> (H-E boyanma skorları)	<b>57</b>
<b>Şekil 16</b> (İNOS boyanma skorları )	<b>60</b>

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resimler</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Resim 1</b> (İnen kolona kesi sonrası anastomoz)	<b>32</b>
<b>Resim 2</b> (Anastomoz patlama basıncı ölçüm tekniği)	<b>35</b>
<b>Resim 3</b> (Patlama basıncı ölçüm düzeneği)	<b>35</b>
<b>Resim 4</b> (KA grubu; anastomoz hattında yaygın şiddetli PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x10))	<b>55</b>
<b>Resim 5</b> (LPS + KA grubu; anastomoz hattında orta kuvvetli PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x10))	<b>56</b>
<b>Resim 6</b> (KA + Karnitin grubu; anastomoz hattında fokal kuvvetli PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x10))	<b>56</b>
<b>Resim 7</b> (LPS + KA + Karnitin grubu; anastomoz hattında fokal Orta PMNL'lerden zengin iltihabi hücre infiltrasyonu (H-E, x20))	<b>57</b>
<b>Resim 8</b> (KA grubu; PMNL'lerde yaygın kuvvetli İNOS Pozitifliği (İNOS,x10))	<b>58</b>
<b>Resim 9</b> (LPS + KA grubu; PMNL'lerde orta kuvvetli İNOS pozitifliği (İNOS, x20))	<b>58</b>
<b>Resim 10</b> ( KA + Karnitin grubu; PMNL'lerde fokal kuvvetli İNOS Pozitifliği(İNOS,x40))	<b>59</b>
<b>Resim 11</b> (LPS+KA+Karnitin grubu;PMNL'lerde fokal orta İNOSpozitifliği(İNOS,x40))	<b>59</b>

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablolar</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> ( Leach ve arkadaşlarının yapışıklık skorum sistemi )	<b>34</b>
<b>Tablo 2</b> (Ratlara ait ağırlık değerleri (gr) ve değişim %'si )	<b>42</b>

