

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

**SIÇANDA KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE
E VİTAMİNİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ERKEN DÖNEM ETKİLERİ**

Dr. Ramazan ACIROĞLU

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2021

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

**SIÇANDA KOLON ANASTOMOZU MODELİNDE
E VİTAMİNİNİN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE
ERKEN DÖNEM ETKİLERİ**

Dr. Ramazan ACIROĞLU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Yusuf Alper KILIÇ**

**ANKARA
2021**

TEŞEKKÜR

Cerrah olmak için çıktığım bu yolda beni yalnız bırakmayan Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerimize, deney protokolünün yazıldığı ilk günden tezimi tamamladığım güne kadar bilgi ve tecrübesini esirgemeyen tüm proje ekibine, çalışmanın finansal desteğini sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine, bugünlere gelmem için her zaman yanımda ve bana destek olan annem Çiğdem Acıroğlu, babam Ömer Faruk Acıroğlu, kardeşim Burcu Güneri ve arkadaşlarım Alpay Küçükcalıç ve Kürşat Doğan'a teşekkür ederim.

Dr. Ramazan Acıroğlu

ÖZET

Acıroğlu R., Sıçanda kolon anastomozu modelinde E vitamininin yara iyileşmesi üzerine erken dönem etkileri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Tezi Ankara 2021

Amaç: Gastrointestinal sistem cerrahisi sonrası görülen anastomoz kaçağı ve anastomoz darlığı gibi komplikasyonlar önemli morbidite ve mortalite nedenleri olup, hastanede kalış süresini ve tedavi maliyetini belirgin şekilde etkilemektedir. Bu komplikasyonların gelişmesinde yara iyileşmesi sürecinin etkinliği son derece önemlidir. Vücutta bilinen en güçlü antioksidanlardan biri E vitamindir. E vitaminin gerek genel anlamda yara iyileşmesi üzerine gerekse spesifik olarak gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi üzerine etkileri konusunda yeterli bilgi yoktur. Bu deneysel çalışmada sıçanda kolon anastomozu modelinde E vitamininin kolon anastomozu iyileşmesi üzerine erken dönem etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 48 adet Wistar-albino cinsi sıçan dört gruba ayrılarak ketamin anestezisi altında kolon anastomozu yapılmış, tedavi gruplarına iki farklı dozda E vitamini verilmiş, kontrol grubuna zeytinyağı verilmiştir. Anastomozdan sonra 7. günde anastomoz yapılan segment rezeke edilerek gruplar anastomoz patlama basınçları, doku hidrokspirolin düzeyleri ve oksidatif stres indeksleri açısından karşılaştırılmıştır. Ayrıca gruplar arasında anastomoz kaçağı sıklığı da karşılaştırılmıştır.

Sonuçlar: Gruplar arasında kolon anastomozu patlama basıncı ($p=0.245$), anastomoz sonrası doku hidrokspirolin düzeyi ($p=0.163$) ve anastomoz kaçağı sıklığı ($p=0.517$) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Çıkarım: Bulgular E vitamininin yara iyileşmesinin erken döneminde kolon anastomozu iyileşmesi üzerine olumsuz bir etkisi olmadığına işaret etmektedir. E vitamininin antioksidan etkileri dışında farklı mekanizmalarla da etki gösteriyor olma olasılığı yanında daha yüksek dozlarda uygulanmasının gerekebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: E vitamini, Yara, Anastomoz, Antioksidan, Kolon

Destekleyen Kuruluş: HÜ Bilimsel Araştırmalar Birimi, THD-2020-18802

ABSTRACT

Aciroğlu R., Early effects of vitamin E on wound healing in the rat colonic anastomosis model Hacettepe University Faculty of Medicine Thesis in General Surgery, Ankara 2021

Aim: Complications such as anastomotic leak and anastomotic stricture after gastrointestinal system surgery are important causes of morbidity and mortality, and significantly affect the length of hospital stay and the cost of treatment. The efficiency of the wound healing process is extremely important in the development of these complications. One of the most powerful antioxidants known in the body is vitamin E. There is not enough information about the effects of vitamin E on wound healing in general and on wound healing specifically in the gastrointestinal system. In this experimental study, it was aimed to investigate the early effects of vitamin E on the healing of colon anastomosis in a rat colonic anastomosis model

Material and method: In the study, 48 Wistar-albino rats were divided into four groups, colonic anastomosis was performed under ketamine anesthesia, two different doses of vitamin E were given to the treatment groups, and olive oil was given to the control group. On the 7th day after the anastomosis, the anastomotic segment was resected and the groups were compared in terms of anastomotic bursting pressures, tissue hydroxyproline levels and oxidative stress indices. In addition, the frequency of anastomotic leakage was compared between the groups.

Results: There was no statistically significant difference between the groups in terms of colon anastomosis bursting pressure ($p = 0.245$), tissue hydroxyproline level after anastomosis ($p = 0.163$) and frequency of anastomosis leakage ($p = 0.517$).

Conclusion: The findings indicate that vitamin E does not have a negative effect on colon anastomosis healing in the early period of wound healing. Apart from antioxidant effects of vitamin E, it is thought that it may need to be administered in higher doses, as well as the possibility of its effect with different mechanisms.

Key Words: Vitamin E, Wound, Anastomosis, Antioxidant, Colon

Supported by Hacettepe University Scientific Research Unit, THD-2020-18802

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
GRAFİKLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara İyileşmesinin Prensipleri	3
2.2. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi	6
2.3. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	9
2.4. Gastrointestinal Sistem Anastomozlarının Değerlendirilmesi	12
2.4.1. Mekanik Değerlendirme Yöntemleri	12
2.4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri	13
2.4.3. Histolojik Değerlendirme Yöntemleri	13
2.5. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres	13
2.5.1. Oksijen ve Oksijen Radikallerinin Hücresel Hemostazdaki Rolü	14
2.5.2. Hücresel ROS Seviyesinin Antioksidan Aracılı Düzenlenmesi	15
2.6. E Vitamini	16
2.7. Toplam Oksidan ve Antioksidan Statüsü	19
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	21
3.1. Deney Hayvanları ve Protokolü	21
3.2. Anestezi	23
3.3. Cerrahi Teknik	23
3.4. E Vitamini İdamesi	25
3.5. Anastomozun Değerlendirilmesi	25
3.5.1. Mekanik Güç Ölçümü (Anastomoz Patlama Basıncı Deneyi)	25

3.5.2. Hidroksiprolin Düzeyi	28
3.6. Toplam Oksidan Statüsü / Toplam Antioksidan Statüsü	28
3.7. İstatistiksel Analizler ve Deney Sonuçlarının Sunulması	29
4. BULGULAR	30
4.1. Kaçak Oranları	30
4.2. Patlama Basıncı	30
4.3. Hidroksiprolin Düzeyi	32
4.3.1. Bazal Hidroksiprolin Düzeyi	33
4.3.2. Anastomoz Hidroksiprolin Düzeyi	35
4.3.2. Anastomoz/bazal hidroksiprolin düzeyi	38
4.4. Oksidatif stres indeksi	41
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR	47
7. KAYNAKLAR	48

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	Adenozin trifosfat
EGF	Epitelial büyüme faktörü (Epithelial growth factor)
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GSTs	Glutasyon ilişkili glutasyon s-transferaz
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
ICAM	Hücreler arası adhezyon molekülleri (Intercellular adhesion molecules)
IGF	İnsulin benzeri büyüme faktörü (Insulin-like growth factor)
İL-1	İnterlökin-1
MMP	Matriks metaloproteinazları
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NQO1	NADP(H) kinon oksidoredüktaz
PAF	Platelet aktive edici faktör (Platelet-activating factor)
PDGF	Platelet kaynaklı büyüme faktörü (Platelet-derived growth factor)
PMN	Polimorfonükleer lokositler
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TGF-β	Dönüştürücü büyüme faktörü- β (Transforming growth factor-β)
TNF-α	Tümör nekroz faktör-α (Tumor necrosis factor- α)
Trx-1	Thioredoksin-1
Trx-2	Thioredoksin-2
VEGF	Vasküler endotelial büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Yara iyileşmesinin hücresel, biyokimyasal ve mekanik fazları.....	4
Şekil 2.2. Kollajen sentezi ve kollajen yıkımı arasındaki denge.....	8
Şekil 2.3. Reaktif oksijen türlerinin yara iyileşmesindeki rolü.....	14
Şekil 2.4. Reaktif oksijen türleri	16



TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 4.1. Anastomoz yapılan gruplarda kaçak oranları.....	30
Tablo 4.2. Yedinci günde sakrifiye edilen ratlarda kolon patlama basınçları.....	31
Tablo 4.3. Yedinci günde sakrifiye edilen, kaçak olan ve olmayan ratlarda kolon patlama basınçları.....	32
Tablo 4.4. Bazal hidroksiprolin düzeyinin gruplara göre dağılımı	34
Tablo 4.5. Anastomoz sonrası hidroksiprolin seviyelerinin gruplar arasındaki dağılımı	37
Tablo 4.6. Anastomoz sonrası kaçak olan ve olmayan gruplar arasındaki hidroksiprolin düzeyi	38
Tablo 4.7. Anastomoz/Bazal hidroksiprolin oranlarının belirlenmesi	40
Tablo 4.8. Kaçak olan ve olmayan gruplar arasındaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranının belirlenmesi.....	41
Tablo 4.9. Gruplar arasında oksidatif stres indeksinin karşılaştırılması	42

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Genel anestezinin ardından sıçanın hazırlanması, %10 povidon iyot ile asepsi sonrası orta hat laparotomi ve inen kolonun bulunması	23
Resim 3.2. İnen kolondan 5 milimetrelik segmentin rezeksiyonu sonrası iki kolon ucunun askı dikişleri ile anastomoza hazırlanması	24
Resim 3.3. Arka duvar ve ön duvarın rekonstrüksiyonu.....	24
Resim 3.4. Anastomozun son hali ve fasya kapama	25
Resim 3.5. Patlama basıncı deneyi için hazırlanan bir ucu klemplice diğer ucu hava kaçırmayacak şekilde serum hortumu yerleştirilen kolon segmenti	26
Resim 3.6. Patlama basıncı deneyi için hazırlanmış manometri ve MP36 kayıt sistemi	27
Resim 3.7. Basıncın ani olarak düştüğü patlama basıncı değeri	27

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik	Sayfa
Grafik 4.1. Anastomoz yapılan gruplar arası patlama basıncı ilişkisi.....	31
Grafik 4.2. Anastomoz kaçağı olan ve olmayan sıçanlar arasındaki patlama basıncı ilişkisi	32
Grafik 4.3. Bazal hidroksiprolin içeriklerinin spot plot analizi	33
Grafik 4.4. Bazal hidroksiprolin içeriklerinin violin plot analizi.....	34
Grafik 4.5. Gruplar arasında bazal hidroksiprolin içeriklerinin karşılaştırılması	35
Grafik 4.6. Anastomoz sonrası hidroksiprolin düzeylerinin spot plot analizi.....	36
Grafik 4.7. Anastomoz sonrası hidroksiprolin düzeylerinin violin plot analizi.....	36
Grafik 4.8. Gruplar arasında anastomoz sonrası hidroksiprolin düzeylerinin karşılaştırılması	37
Grafik 4.9. Anastomoz kaçağı izlenen ve izlenmeyen ratlar arasındaki hidroksiprolin seviyesi.....	38
Grafik 4.10. Anastomoz yapılan gruplardaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranlarının spot plot analizi.....	39
Grafik 4.11. Anastomoz yapılan gruplardaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranlarının violin plot analizi	39
Grafik 4.12. Anastomoz yapılan gruplardaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranlarının karşılaştırılması.....	40
Grafik 4.13. Oksidatif stres indekslerinin violin plot analizi	41
Grafik 4.14. Gruplar arasında oksidatif stres indekslerinin karşılaştırılması.....	42

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastrointestinal sistemde onarım ve yara iyileşmesi gastrointestinal sistemin emilim, bariyer ve motor fonksiyonlarının normal çalışmasının temelini oluşturur. Yara iyileşmesinin yetersiz olması belirgin morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilen yara ayrışması, anastomoz kaçakları ve fistüllere neden olabilir. Öte yandan yara iyileşme yanıtının aşırı olması da anastomoz darlığı ile sonuçlanabilir[1].

Birçok faktör yara iyileşmesini etkilemektedir. Bunlardan birisi özellikle iyileşmenin inflamatuvar fazında önem kazanan oksidatif strestir. Reaktif oksijen ve nitrojen radikalleri normal insan vücudunda farklı fizyolojik süreçlerde rol oynar. Bu reaktif radikaller antioksidan koruyucu mekanizmalar tarafından kontrol edilir. Oksidatif stres düzeyini bu iki sistemin (oksidan ve antioksidan sistemler) dengesi belirler. Bazı patolojik durumlarda oksidatif stres, antioksidan mekanizmaların tamponlama kapasitesini aşarak dokuda hasara neden olur. Gastrointestinal sistem cerrahileri sonrası oluşan inflamasyon antioksidatif sistemlerin sınırlarını aşan oksidatif strese neden olabilir. Literatürde oksidatif substratların yara iyileşmesini bozan faktörlerden biri olabileceği vurgulanmıştır[2]. Anastomoz iyileşmesi için birçok antioksidan terapi gündemdedir.

E vitamini yağda çözünen 8 formu barındırır. Bunlar tokoferol ve tokotrienoller olmak üzere 2 grupta ve 4 izomer (α , β , γ , δ) halinde bulunabilir[3]. Alfa-tokoferol en güçlü ve en fazla görülen formudur[4].

E vitamini çeşitli sinyal yolları üzerine etki ederek, hücre zarları ve çoklu zincirli doymamış yağları reaktif oksijen radikallerine karşı korur[5]. En önemli üç reaktif oksijen radikalini; süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerini temizler[6]. Bunlara ek olarak vitamin E suplementasyonunun özellikle yaşlı ve diyabetik hayvanlarda yara iyileşmesini ve immün fonksiyonları olumlu yönde etkilediği bulunmuştur[7].

E vitamini bu özellikleri nedeni ile birçok araştırmada antioksidan olarak kullanılmıştır. Sıçanlarda radyofrekans dalgalarının sebep olduğu oksidatif stresten gözü, testisi ve eritrositleri korumuştur[8]. Yine birçok çalışmada ilaca bağlı nefrotoksisite ve hepatotoksisitenin antioksidan mekanizmalar sayesinde azaldığı gösterilmiştir.

E vitamininin çok güçlü antioksidan etkileri olduğu bilinmekle birlikte, yara iyileşmesi üzerine etkileri konusunda yeterli bilgi yoktur. Bu çalışmada sıçanda kolon anastomozu modelinde E vitamininin kolon anastomozu iyileşmesi üzerine erken dönem etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesinin Prensipleri

Yara, dokunun normal yapısının veya fonksiyonunun bozulmasına yol açan bir sonuç olarak tanımlanır. Yara iyileşmesi ise öncelikle immün bariyerin tekrar elde edilmesi, sonrasında ise doku onarımı ile devam eden basamaklar serisidir[9]. Yara iyileşmesi belirli aşamaları izler. Bunlar hemostaz ve inflamasyon fazı, proliferasyon fazı, maturasyon ve remodeling fazlarıdır[1].

Bu safhalardan birindeki gecikme veya olumsuzluk, yaranın kapanmaması veya iyileşmenin uzaması ile sonuçlanır[10].

a) Hemostaz ve inflamasyon

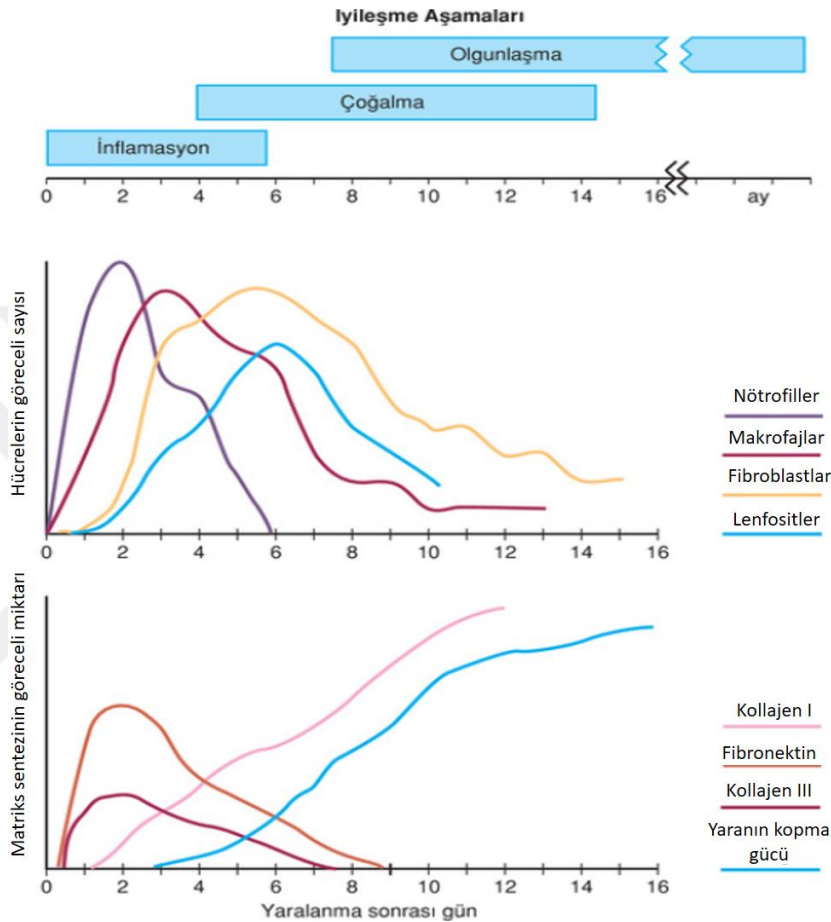
Yara yerinden salınan kemotaktik faktörlerle hemostaz başlar. Subendotelial kollejenin plateletlerle teması sonucunda plateletler kümeleşir, granüllerini salar ve koagülasyon kaskadı başlar. Platelet α -granüllerinden platelet kaynaklı büyüme faktörü ‘platelet-derived growth factor’ (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü ‘transforming growth factor- β (TGF- β), platelet aktive edici faktör ‘platelet-activating factor’ (PAF), fibronektin ve serotonin gibi çok sayıda yara aktive edici maddeler salınır. Fibrin pıhtısı hemostazı sağlamanın yanında, polimorfonükleer lökositler (PMN, nötrofil) ve monositler gibi inflamatuvar hücrelerin yaraya göçü için iskelet teşkil eder[1].

Yaralanmayı takip eden hücresel infiltrasyon, karakteristik belli bir sıralama izler (Şekil 2.1).

PMN’ler yara yerine ilk gelen hücrelerdir ve sayıları 24-48 saatte pik yapar. Artmış vasküler geçirgenlik, lokal prostoglandin salınımı, kompleman faktörleri, interlökin-1 (İL-1), tümör nekroz faktör- α (TNF- α), TGF- β , platelet faktör 4 gibi kemotaktik maddeler ve bakteri ürünleri, nötrofil göçünü uyarır[1].

Nötrofillerin birincil görevi bakterilerin ve doku debrislerinin fagositozudur. PMN’ler ayrıca, erken inflamasyon sırasında salınan sitokinlerin, özellikle anjiyogenez ve kollajen sentezinde önemli etkileri olan TNF- α ’nın ana kaynağıdır[11].

Yaraya ikinci olarak gelen inflamatuvar hücre grubu başarılı bir iyileşme için temel kabul edilen makrofajlardır[12]. Dolaşımdaki monositlerden evrilen makrofajlar, yaralanmadan sonraki 48-96 saatte belirli bir sayıya ulaşır ve iyileşmenin sonuna kadar yarada kalır.



Şekil 2.1. Yara iyileşmesinin hücresel, biyokimyasal ve mekanik fazları (Brunicardi, F.C., et al., *Editors, in Schwartz's Principles of Surgery, 11e.* 2019, McGraw-Hill Education: New York, NY. sayfa 273'ten alınmıştır.)

Makrofajlar, nötrofiller gibi fagositozla yara debridmanına katılır ve oksijen radikalleri ve nitrik oksit senteziyle mikrobiyal stazı sağlarlar. Makrofajların esas görevi bazı sitokin ve büyüme faktörleri gibi mediatörler aracılığıyla ya da direk olarak hücre-hücre etkileşimi ve hücreler arası adhezyon molekülleri "intercelluler adhesion molucules" (ICAM) yardımıyla diğer hücrelerin aktivasyonu ve yaraya toplanmasıdır. Makrofajlar TGF- β , vasküler endotelial büyüme faktörü "vascular endothelial growth factor" (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü "insulin like

growth factor” (IGF), epitelyal büyüme faktörü “epithelial growth factor” (EGF) ve laktat gibi mediyatörler salarak hücre proliferasyonunu, matriks sentezini ve anjiyogenezi düzenlerler[13, 14]. Makrofajlar ayrıca anjiyogenez ve matriks birikiminin düzenlenmesinde ve remodelingde önemli rol oynar.

b) Proliferasyon

Proliferasyon yara iyileşmesinin ikinci aşamasıdır ve kabaca 4. İle 12. günler arasında yer alır. Bu aşamada doku devamlılığı tekrar inşa edilir. Fibroblastlar ve endotel hücreleri yara iyileşmesine son katılan hücrelerdir ve fibroblastlar için en güçlü kemotaktik faktör PDGF'dir. Fibroblastların, yara çevresine gittiklerinde, birincil fonksiyonları olan matriks sentezi ve remodelingi gerçekleştirmek için önce çoğalmaları, sonra aktive olmaları gerekir. Bu aktivasyon esas olarak yara makrofajları tarafından salınan sitokinler ve büyüme faktörleri aracılığıyla olur[1].

Yara iyileşmesinin bu fazında endotel hücreler de aşırı çoğalır. Bu hücreler, başarılı bir yara iyileşmesinin temeli olan yeni kapiller oluşumuna (anjiyogenez) katılırlar. Endotel hücrelerin göçü, çoğalması ve yeni kapiller oluşumu TNF- α , TGF- β ve VEGF gibi sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkisi altındadır. Birçok hücre VEGF üretmesine rağmen, yara iyileşmesinde ana VEGF kaynağını makrofajlar sağlar. VEGF resöptörleri ise özel olarak endotel hücreler üzerinde yer alır[15, 16].

c) Maturasyon ve remodeling

Skarın matürasyonu ve remodelingi, fibroblastik fazda başlar ve daha önce sentezlenen kollajenin tekrar organize olmasıyla karakterizedir. Kollajen matriks metaloproteinazları (MMP) tarafından yıkılır ve yaradaki net kollajen miktarı, kollejen yapımı ve yıkımı arasındaki dengenin sonucudur. Kollejen yapımı yönünde kaymayla beraber, ekstraselüler matriksin yeniden kurulması nispeten aselüler kollajenden zengin skarla olur.

Yara kuvveti ve taze yaradaki mekanik bütünlük yeni biriken kollajenin hem miktarı hem kalitesi ile belirlenir. Yara kenarında matriks birikimi belirli bir sırayla olur: fibronektin ve tip III kollajen erken matriks iskeletini oluşturur, glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar sonraki önemli matriks elemanlarıdır ve tip I kollajen final matrikstir. Yaralanma sonrası birkaç hafta içinde yaradaki kollajen

miktarı platoya ulaşır ancak yaradaki gerilme kuvveti birkaç ay daha artmaya devam eder[17].

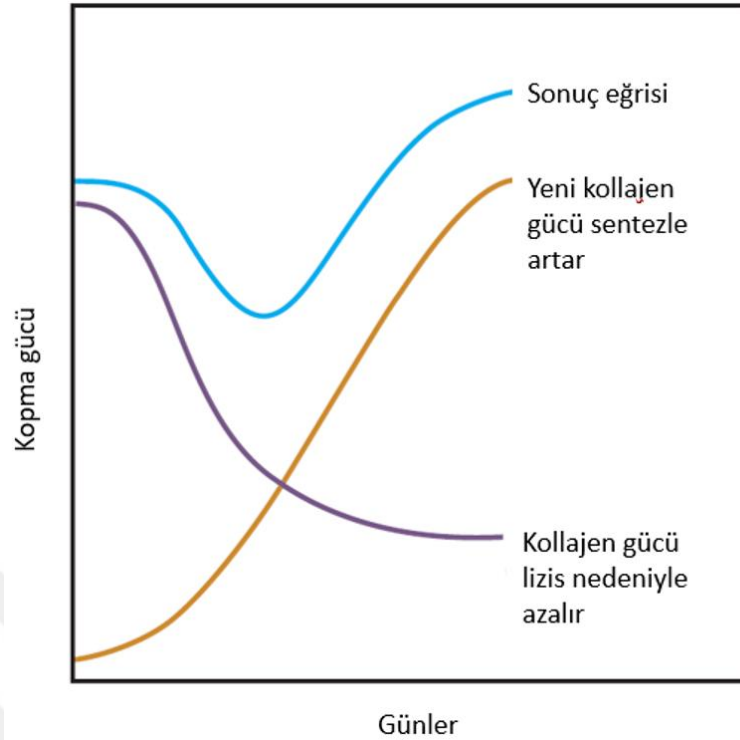
2.2. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesi

Gastrointestinal sistem (özofagus ve rektum gibi ekstrapéritoneal yapılar dışında) 4 katmandan oluşur. Bunlar mukoza, submukoza, muskularis propria ve serozadır. Mukozal katmanda, genelde kolumnar şekilde bir epitel tabakası, kollajen içeren gevşek bağ dokusu özelliğinde lamina propria ve ince bir düz kas hattı şeklinde muskularis mukoza bulunur. Mukozal hasarlanmalar epitel hücrelerin göçü ve hiperplazisi ile onarılır. Bu onarım mekanizması lümen içindeki bakterilere karşı bir bariyer görevi görür. Mukozanın karşı karşıya gelmesi 3 gün gibi kısa bir süre içinde tamamlanır. Halsted 1887'de gastrointestinal sistemde gerim kuvvetinin büyük kısmının submukoza kaynaklı olduğunu bulmuştur. Gastrointestinal sistemin cerrahi tamirinde submukozanın en çok gerim kuvveti ve dikiş tutuş kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir. Kollajenin büyük miktarının bu tabakada olmasının yanında, damarları, lenfatikleri ve sinirleri barındırır. Bu kollajenin %68'ini tip I , %20'sini tip III ve %12'sini tip V kollajen oluşturur. Muskularis propria kollajen ağı ile karışık düz kas hücrelerinden oluşur. Kronik obstrüksiyonda bu katmandaki kollajen miktarı belirgin olarak artar. Seroza ise muskularis propriayı saran ince bir bağ dokudur. Anastomoz yapılırken serozanın karşı karşıya getirilmesi anastomoz kaçığı riskini azaltır. Gastrointestinal sistemin özofagus, rektum gibi seroza içermeyen ve ekstrapéritoneal segmentlerinde anastomoz kaçıklarının klinik olarak daha sık gözlenmesi de serozanın önemini vurgulamaktadır[1, 18, 19].

	GASTROİNTESTİNAL SİSTEM	CİLT
pH	Gastrointestinal sistem boyunca farklılık gösterir	Sabit
Mikroorganizma	Anaerob ve aerob	Aerob
Gerim kuvveti	Peristaltizm ve intraluminal kitle etkisi	İskelet kası hareketleri
Perfüzyon ve oksijenizasyon	Sağlıklı vasküler beslenmeye bağlı Şok durumlarında bozulur	Çok değişken değil
Yara içeriği	Serozaya bağlı ek kuvvet	Seroza benzeri yapı yok
Kollajen subtipleri	Tip I, tip III ve tip V	Tip I ve tip III
Kollajen üretimi	Fibroblast ve düz kas hücreleri	Sadece fibroblastlar
Kollajenaz aktivitesi	Özellikle iyileşmenin ilk 3 günü	Belirgin değil
İyileşme hızı	Hızlı (Haftalar içinde)	Yavaş (Aylar içinde)

Tam kat gastrointestinal yaraların tamirinde ilk aşama yara uçlarının cerrahi veya mekanik olarak karşı karşıya getirilmesidir. İyileşmedeki yetersizlik sonucu belirgin morbidite ve mortaliteye yol açan ayrışmalar, kaçaklar yada fistüller oluşur. Tersine aşırı iyileşme de striktür ya da stenoz ile sonuçlanabilir[1].

Anastomozun gücü esas olarak submukozada bulunan kollajen kaynaklıdır. Ameliyat sonrası birkaç gün içerisinde, yara bölgesindeki kollajenaz aktivitesine bağlı kollajen yıkımı sonucu anastomoz kuvveti düşüktür (Şekil 2.2). Kollajen yıkımı nötrofilden, makrofajdan ve intraluminal bakterilerden salınan kollajenaz tarafından olur. Güncel bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* türlerinin fenotipik bir değişime girerek hasarlı ya da anastomoz yapılan bağırsakta yüksek kollajenaz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur[20]. Erken dönemdeki anastomoz gücü, fibroblastlar ve düz kas hücreleri aşırı miktarda kollajen üretene kadar dikiş ya da stapler tutuş kapasitesine bağlıdır. Final aşamada anastomozdaki makrofajlar ve fibroblastlar azalır ve yeni oluşan kollajen kalın paketler halinde kasılabilen ünitelere dönüşür[18, 21, 22].



Şekil 2.2. Bu diagram gastrointestinal sistem yara iyileşmesindeki kollajen sentezi ve kollajen yıkımı arasındaki dengeyi göstermektedir. Kollajen yıkımının kollajen yapımından fazla olduğu zayıf periyot, dengeyi bozacak herhangi bir faktörle uzayabilir. (Dunphy JE: Fundamentals of Wound Management in Surgery. New York, NY: Chirurgecom, Inc.;1976 makalesinden alınmıştır)

Yara iyileşmesinin klasik üç fazı ciltte çalışılsa da, bu aşamalar bütün dokularda olduğu gibi gastrointestinal sistemde de benzer şekilde olur ancak bazı farklılıklar da mevcuttur. Gastrointestinal sistemde 3 çeşit kollajen bulunmasına rağmen ciltte sadece 2 çeşit mevcuttur. Ciltte kollajen sadece fibroblastlar tarafından üretilirken, gastrointestinal sistemde düz kas hücreleri de kollajen yapımına katılır. Yara iyileşme bölgesinde de farklılıklar mevcuttur. Anastomozda intraluminal kitle etkisi ve peristaltizm ile birlikte gerilim kuvveti oluşur. Yine çevrede aerobik bakterilerin yanında anaerob bakteriler de bulunur. En kritik öneme sahip faktör ise hipovolemik şok varlığında gastrointestinal sistem vasküler perfüzyonunun azalmasıdır. Bu hastalarda gelişen iskemi doğrudan anastomoz kaçaklarına sebep olur[18, 19, 22, 23].

2.3. Gastrointestinal Sistemde Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Gastrointestinal sistem iyileşmesinde etkili olan faktörler aşağıda gösterilmiştir.

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Cerrahi teknik Yeterli kanlanma Anastomozda gerginlik olmaması Sağlıklı doku uçları Distal obstrüksiyon Lokal enfeksiyon Hematom Yabancı cisimler	Malnütrisyon Şok, sepsis Hipovolemi Bazı ilaçlar (Steroid, kemoteropatikler vs) Kan transfüzyonu Ağır anemi Vitamin ve/veya mineral eksikliği Hipoksi Enfeksiyon Diabetes mellitus Hipotermi

Geleneksel öğretilerde bir anastomozun komplikasyonsuz iyileşebilmesi için, gerginliksiz olmalı, yeterli kan akımı olmalı, yeterince besin desteği olmalı ve sepsis olmamalıdır. Tüm yara iyileşmeleri için aynı prensipler geçerli olmakla beraber, gastrointestinal anastomoz iyileşmesine özgü bazı özellikler mevcuttur. Teknik açıdan bakıldığında, bağırsağın iki ucunu birleştirmek için kullanılacak ideal yöntem henüz tanımlanmamıştır. Anastomoz oluşturmak için kullanılan yöntemler tartışıldığı halde, klinik olarak bir yöntemin diğerine üstünlüğünü ispatlayacak ikna edici kanıtlar mevcut değildir (örn. elle anastomoz ya da stapler, tek tek kapama ya da devamlı kapama, absorbe olan ya da absorbe olmayan dikiş, tek kat kapama ya da çift kat kapama)[1]. Bunların yanında deneyimli cerrahların yaptığı gastrointestinal sistem anastomozlarında kaçak oranının daha az olduğu belirtilmiştir[18, 24]. Kolonun anastomoz için hazırlanması esnasında kaba ve fazla mobilizasyonu, hemostaz için aşırı koter kullanımı, kontaminasyonun engellenmesi için konulan klemplerin uzun süreli ve fazla sıkı tutulması, sıkı dikiş ve staplerler kritik damarları hasarlayabilir ve dokuda iskemiye neden olabilir[25]. Mobilizasyon yetersiz olduğunda ise anastomozdaki gerginlik anastomoz perfüzyonunu bozabilir ve inflamatuvar hücre infiltratları artar. Gerginliğe ikincil gelişen lokal mikrosirkülasyondaki azalma en az kolonda tolere edilir[26].

Yeterli oksijen dağılımı kollajen sentezi sırasında lizin ve prolin hidroksilasyonu için gereklidir[27]. İskemik dokular zayıf iyileşir ve kolaylıkla enfekte olur. Oksijen basıncı 55 mmHg altındaki dokularda kaçak oranı %10'dur, 25 mmHg ve altındaki değerlerde ise iyileşme mümkün değildir[28]. Lokal hipoksinin aksine, normalden fazla oksijen sağlamak ise yarada kollajen sentezini artırmaktadır[29]. Doku oksijeni üç faktöre bağlıdır. Bunlar vasküler anatomi, vazomotor kontrol ve arteryel oksijen basıncıdır (pO_2). Bu yüzden cerrah, iyileşen anastomozda iyi lokal perfüzyondan, yeterli kardiyak debiden ve optimum oksijen saturasyonundan emin olmalıdır. Lokal doku perfüzyonu vasküler ağların iyi korunmasına bağlıdır. Hipovolemi durumunda gastrointestinal sistemdeki kan akımı hayati organlara yönlendirileceği için hipovolemiden kaçınılmalıdır[9]. Kan dolaşımı normalin %50-60'ına düşürüldüğünde anastomoz iyileşmesinde bir sorun olmadığı ancak normal perfüzyonun %22'ye azaltıldığı durumlarda kolon anastomoz iyileşmesinde bozulma olduğu bildirilmiştir[30]. Schrock, Deveney ve Dunphy ameliyat sırasında 15 dakikalık hipotansiyonun anastomoz bozulması riskini artırdığını bildirmişlerdir[31].

Üçüncü boşluklarda sıvı birikimi, doku ödemi, aşırı sıvı tedavisine sekonder intraabdominal basınç artışı anastomoz kenarındaki damarlarda kan akımını baskılayarak gastrointestinal sistemde iyileşmeyi bozabilir[32, 33].

Yara iyileşmesi enerjiye ve yeterli beslenmeye ihtiyaç duyar. Yetersiz beslenen hastalar tamir için gerekli bazı vitamin ve minerallerden eksik kaldığı için yara yeri enfeksiyonuna yatkın olur. Bu vitamin ve mineraller kollajen sentezi ve çapraz bağ oluşumu için gerekli vitamin A, C, B₆ ile beraber çinko ve bakırdır. Çinko ve demir, DNA sentezi, protein sentezi ve hücresel çoğalma gibi birçok reaksiyonda kofaktör görevi görür. Çinko ve/veya demir eksikliği optimum olmayan fibroblast proliferasyonu ile beraber kollajen sentezini bozar[34, 35]. Hafif ya da orta şiddette normovolemik anemi, hematokrit düzeyi %15'in altına düşmedikçe yara oksijen basıncını ve kollajen sentezini etkilemez[36].

Kan transfüzyonları immün cevabı baskılar ve anastomozdaki inflamatuvar hücrelerin azalmasına neden olarak iyileşmeyi geciktirir. Kan transfüzyonu sonrası lokal enfeksiyon riski artmaktadır. Ayrıca lenfosit ve makrofajların supresyonu yara iyileşmesinin inflamasyon fazındaki olayları olumsuz etkilemektedir[18, 31, 37].

Lokal enfeksiyon varlığı yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını uzatır ve doku proteazlarının ekspresyonunu artırır. Artmış doku proteazları ise kollajen birikimini ve epitelizasyonu azaltır[34]. Sepsiste de anastomoz yapılan dokunun kollajen sentez kapasitesi belirgin olarak azalır[38]. Hematom ve yabancı cisimler de özellikle ekstraperitoneal anastomozlarda enfeksiyon riskini artırarak iyileşmeyi olumsuz etkiler[39].

Glukokortikoidlerin yüksek dozda ve kronik kullanımı, kollajen sentezini ve yara kuvvetini azaltır[40]. Steroidlerin başlıca etkileri yara iyileşmesinin inflamatuvar evresini (anjiogenez, nötrofil ve makrofaj göçü ve fibroblast proliferasyonu) önlemesi ve lizozomal enzimlerin salınmasıdır[1].

Sistemik antineoplastik kemoterapi, verildiği zamana ve doza göre yara iyileşmesini etkileyebilir. Özellikle kemoterapi almaktayken yapılan anastomozlarda yara iyileşmesi belirgin olarak gecikmektedir. İntraperitoneal kemoterapi ise yara iyileşmesini daha da olumsuz etkilemektedir. Yarada önemli rol oynayan nötrofiller, makrofajlar ve fibroblastlar üzerindeki sitotoksik etkinin bu durumdan sorumlu olduğu düşünülmektedir[18, 41-43].

Diabetes mellitusun yara iyileşmesinin inflamasyon fazını uzattığı bildirilmiştir. Bu nedenle kan şekeri düzeyinin ameliyat öncesi dönemde kontrol altına alınması önerilmektedir. Diabetes mellitusun, sıçan modelinde, erken dönemde kolon anastomoz gücünü azalttığı gösterilmiştir[44].

Reperfüzyon hasarının temel nedeni olan ve PMN'ler tarafından üretilen oksijen radikalleri anastomoz iyileşmesini kötü yönde etkilemektedir. Serbest oksijen radikallerinin üretimini engelleyen aprotinin ve oksijen radikallerini bağlayan süperoksit dismutazın yara iyileşmesindeki oksijen radikallerine bağlı olumsuz etkiyi engellediği bildirilmiştir[45].

Güncel çalışmalarda, hipotermi, vazokonstriksiyonu, doku hipoksisini artırdığını ve bakteri ölümünü azaltarak enfeksiyonu artırdığı ve dolayısıyla kaçak oranlarının yükseldiği bildirilmiştir[46].

2.4. Gastrointestinal Sistem Anastomozlarının Değerlendirilmesi

Anastomoz iyileşmesinin değerlendirilmesinde mekanik, biyokimyasal ve histolojik yöntemler kullanılır.

2.4.1. Mekanik Değerlendirme Yöntemleri

a) Patlama basıncı: Hayvan modellerinde anastomoz iyileşmesini gösteren, en sık kullanılan ve geçerliliği ispatlanmış test patlama basıncıdır. Patlama basıncını ölçmek için birçok yöntem olmasına rağmen, çoğunluğunda ortasında anastomoz olan bağırsak segmentinin şişirilip, anastomozdan hava ya da sıvı kaçağının olduğu basıncın kaydedilmesi yöntemidir. Bu ölçüm yöntemi, patlama sırasında doku örneklerini bozması, histolojik çalışmaları zorlaştırması ve buna ek olarak anastomoz kaçaklarında uygulanamaması nedeni ile tartışmalıdır. Bunlara rağmen hala bu alanda çalışan araştırmacılar, anastomoz gücünü göstermede patlama basıncı kullanılmasının uygun olduğunu düşünmektedir (Delphi uzlaşması Haziran 2015)[47]. Patlama basıncını ölçmek için kullanılan protokoller ve enstrümanlar çok değişiklik gösterdiği için farklı çalışmalarla sayısal kıyaslama yapılmamalıdır. Bu sebeple patlama basıncı aynı çalışmada farklı gruplar arasında karşılaştırma yapmak için kullanılabilir[48]. Gastrointestinal anastomozlar gücünün çoğunu ilk iki-üç gün içerisinde kaybeder. Bu nedenle patlama basıncı ilk üç gün içerisinde en düşük seviyesindedir. Sonrasında anastomoz kuvveti hızlıca geri kazanılır. Ameliyat sonrası ikinci-üçüncü günde ince bağırsak anastomozlarının patlama basıncı, normal bağırsak patlama basıncının %50'si civarındadır. Bu oran kalın bağırsakta %35-%75 arasındadır. Patlama basıncı ameliyat sonrası 7. günde %100'e ulaşır ve patlama noktası genelde dikiş hattının dışındadır[9].

b) Kopma gücü: Anastomozun kopması için gerekli, karşılıklı uygulanan maksimum kuvvete kopma gücü denir. Erken dönemde ölçülen kopma basıncı bağırsağın iki ucundaki dikiş tutuş kapasitesini gösterir[9]. Kopma gücü ölçümü, erken iyileşme fazında duyarlı olmaması ve teknik zorlukları nedeniyle çok tartışılmaktadır[49]. Kopma gücü ölçümü ameliyat sonrası 4. günden sonra kollajen sentezi ile yakın sonuçlar verir[9]. Kopma gücü ameliyat sonrası, ameliyattan önceki gücüne patlama basıncına oranla daha yavaş döner. Kolonda, ameliyat sonrası 10. günde ancak %50'ye ulaşır[50, 51].

2.4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Yöntemleri

Yara iyileşmesinde, inflamasyon sırasında kollajenden zengin granülasyon dokusunun oluşmasıyla meydana gelen matriksin yerini sonrasında fibroblastlar alır. Bu nedenle kollajen, anastomoz iyileşmesi için ilginç bir belirleyici olmuştur[47]. Buradan yola çıkarak kollajen içeriğinin ölçümü, sentezi ve yıkımı potansiyel bir belirleyicidir[21].

a) Hidroksiprolin içeriği: Bu aminoasitin kollajen dışında çok az proteinde olması nedeniyle, kollajen miktarı ölçümünde kullanılır[48]. Asit hidrolizi sonrası anastomozdaki kollajen miktarını belirler[9].

b) Kollajen birikim hızı: Anastomozdaki saatlik kollajen sentez hızının ölçümüdür. C¹⁴-prolinin venöz enjeksiyonundan 4 saat sonra, anastomozda C¹⁴-hidroksiprolin tayinine bakılarak elde edilir[52].

2.4.3. Histolojik Değerlendirme Yöntemleri

Gastrointestinal anastomozlarla ilgili deneysel çalışmalarda histolojik iyileşme parametreleri çoğunlukla derecelendirme yapılarak bildirilir. Bu parametreler; inflamatuvar hücre birikimi, fibroblast aktivitesi, kollajen birikimi, vaskülarizasyon ve neoanjiogenezdır[53-56].

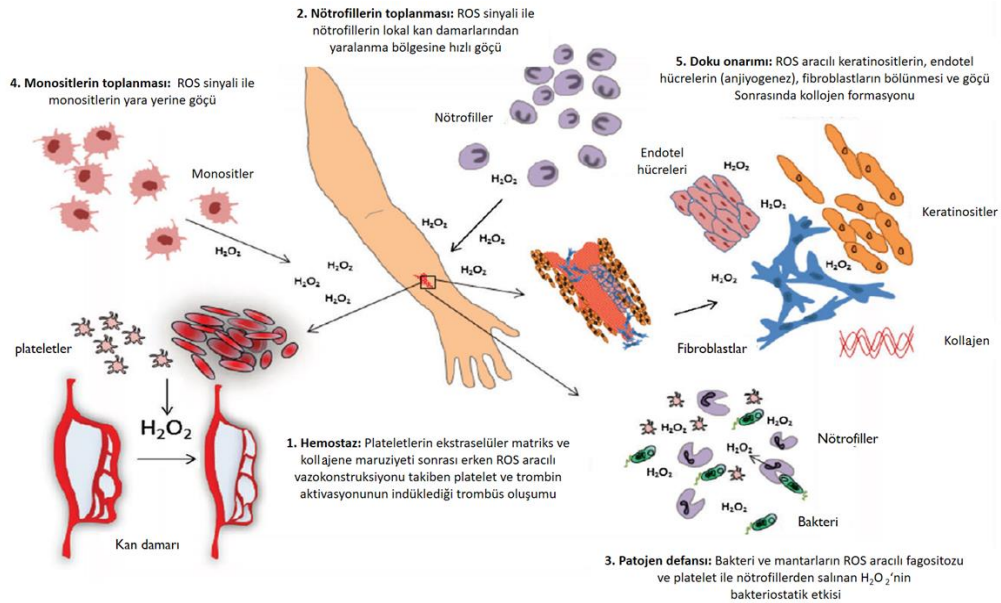
2.5. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Cerrahi stresin sonucu olarak ortaya çıkan moleküllerin vücutta farklı dokularda ana fizyolojik aktivitelerin düzenlenmesinde etkili olduğu ve bu bakımdan oksidatif stresle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir[57]. Laparotomi ve intestinal manipülasyonun enterositlerdeki ksantin-oksidad ve katalaz aktivitesinde geçici azalmaya sebep olduğu birkaç çalışmada gösterilmiştir[58, 59]. Bu fenomen, mitokondride oksidatif fosforilasyonun bozulması sonucu süperoksit ve peroksit oluşumuyla ilintilidir[60]. Cerrahi stres sonucu oluşan süperoksit, intestinal epitel hücrelerinde sitozolik ve mitokondriyal proteazları aktive ederek lipid peroksidasyonunu uyarması yoluyla hücre zarlarına zarar verecek zincirlemeyi başlatabilir[61]. Doku tamir mekanizmaları reaktif oksijen türlerinden (ROS) negatif yönde etkilenir ve muhtemelen kolorektal anastomoz ayrışmasına katkıda bulunur[57].

2.5.1. Oksijen ve Oksijen Radikallerinin Hücresel Hemostazdaki Rolü

Oksijen (O_2) yara iyileşmesinde doku yenilenmesi için gereken artmış enerji ihtiyacının karşılanması için mitokondriden sağlanan adenozin trifosfat (ATP) üretiminin temel substrattır. Reaktif oksijen türleri de bu süreçte ikincil haberci sinyal molekülleri olarak görev alır. Reaktif oksijen türleri O_2 içeren ancak elektron eklenerek indirgenmiş duruma geçen yüksek reaktiviteye sahip moleküllerdir. Bunlardan birkaçı süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), peroksit ($\cdot O_2^{-2}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ($\cdot OH$) ve hidroksil (OH^-) iyonudur. ROS yanlarındaki moleküllerden oksidasyon reaksiyonu ile elektron çalarak sonrasında hasara sebep olur. Hücresel hemostazda ise birkaç rolü bulunur[62](Şekil 2.3).

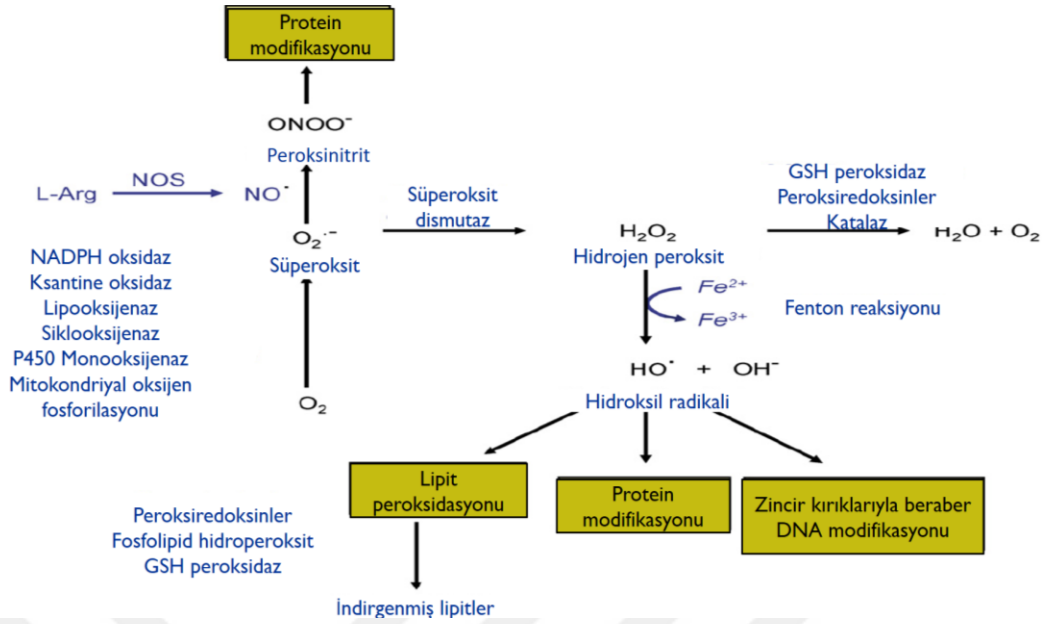
- Anormal biçimde düşük ROS hücre döngüsünün durmasını tetikler (sitostatik).
- Bazal ROS normal hücresel fonksiyonları ve hemostazı sağlar.
- Artmış seviyesi transkripsiyon faktörlerini tetikler ve hücre aracılı savunma cevabı oluşturur.
- Aşırı üretimi proapoptotik proteinleri aktive ederek hücre ölümünü tetikler, daha yüksek miktarda hücreler nekroza gider[63, 64].



Şekil 2.3. Reaktif oksijen türlerinin yara iyileşmesindeki rolü. (Dunnill, C., et al., Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: The functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. International wound journal, 2015 makalesinden alınmıştır.)

2.5.2. Hücresel ROS Seviyesinin Antioksidan Aracılı Düzenlenmesi

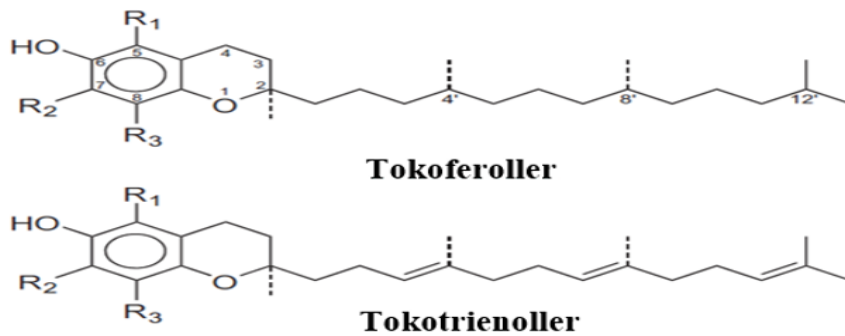
ROS normal metabolizma sonucunda bütün hücrelerde üretilir. Hasarlı ve inflame dokularda nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz ile fazla miktarda üretilir. Bu enzim inflamatuvar hücrelerde fazla miktarda eksprese olur[65, 66]. NADPH oksidaz enziminin aktivasyonu üzerine hücreler, yüksek reaktiviteye sahip süperoksit anyonu üretir. Sonrasında hızlıca birkaç süperoksit dismutaz enzimi sayesinde hidrojen peroksit ve suya dönüştürülür. H_2O_2 radikal olmamasına rağmen, demir ve bakır varlığında hidroksil radikalleri oluşturarak hücre hasarına sebep olur (Fenton reaksiyonu). Hidroksil radikalleri yüksek derecede agresif yapıdadır ve hücresel makromolekülleri okside eder. Bu yüzden H_2O_2 hızlıca detoksifiye edilmelidir ve bu işlem katalaz, peroksidaz ve peroksiredoksinler aracılığıyla olur (Şekil 2.4.). ROS detoksifiye edici enzimlere ek olarak ekzojen ve endojen düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar ROS savunmasında görev alır[62]. Antioksidanlar ROS etkilerini önleyen sistemdir. Bunu kendi elektronlarını vererek DNA, protein ve lipidler gibi önemli moleküllerden elektron kapmasını engelleyerek yaparlar. Bilinen bazı antioksidan sistemleri Thioredoksin-1 (Trx-1) ve Thioredoksin-2 (Trx-2), glutatyon (GSH) ilişkili glutatyon s-transferaz (GSTs), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), NADP(H) kinon oksidoredüktaz (NQO1), katalaz ve epoksi hidrolazdır. Protein bazlı ROS kontrol mekanizmaların yanında hücreler enzimatik olmayan küçük antioksidan moleküller de kullanır. Bunlardan bazıları vitamin C, vitamin E, glutatyon, koenzim-Q, bilirubin, NADPH ve ürik asittir. Transferrin ve ferritin gibi oksidasyon-redüksiyon yapabilen metal iyonuna sahip olan maddeler de yüksek ROS temizleme kapasitesine sahiptir[62, 67, 68]. ROS detoksifikasyonu yetersiz veya ROS üretimi aşırı miktarda olduğunda hücre hasarına, prematür yaşlanmaya hatta neoplastik transformasyona neden olabilecek oksidatif stres oluşur[69, 70].



Şekil 2.4. İnflame dokularda üretilen farklı reaktif oksijen türleri ve bunları üreten, detoksifiye eden, bunun yanında makromolekülleri oksitleyen enzimler gösterilmiştir. (Schäfer, M. and S. Werner, Oxidative stress in normal and impaired wound repair. Pharmacol Res, 2008. 58(2): p. 165-71'den alınmıştır.)

2.6. E Vitamini

E vitamini 8 adet yağda çözünür fizyokimyasal özelliklere sahip bileşenlerden oluşur. Bunlar 2 grup ve ardından her grupta 4 izomer halinde bulunabilir. Tokoferoller, tokotrienoller gibi 6-kromanol türevleridir. Her grupta, isomerler α , β , γ , ve δ olarak aromatik zincire bağlanan metil grubunun sayısına ve pozisyonuna göre adlandırılır[3, 7]. Bunlardan α -tokoferol en potent ve canlılarda en çok bulunan formdur[71].



Vitamin E temizleyici aktivitesinin yanında hücre zarlarını ve çoklu doymamış zincirli yağ asitlerini çeşitli sinyal aktarım yollarını uyararak korur. Bu özellikleri sayesinde E vitamini antioksidan olarak tanınır[72]. Vitamin E biyolojik zarlarda serbest radikalleri nötralize ederek antioksidan özellik taşır ve bu özelliği doz bağımlıdır[73]. E vitamini süperoksit anyonu, H₂O₂, ve hidroksil radikalleri gibi en önemli üç reaktif oksijen ürünlerini temizler[6, 74]. Vitamin E'nin ana antioksidan fonksiyonu lipit peroksidasyonunu önlemesidir[75, 76]. Yüksek doz E vitamininin koroner arter hastalığı olanlarda oksidatif stres biyobelirteçlerini, lipit peroksidasyonunu, inflamasyonu ve karotis aterosklerozunu azalttığı gösterilmiştir[77]. Araşidonik asit (Sitoplazma ve eritrosit membranlarında fazlaca bulunan çoklu doymamış yağ asidi) serbest yağ asidi ya da fosfolipit membranların üyesi olarak oksidasyona aşırı duyarlıdır. Hemoglobinin oto-oksidasyonu sonucu oluşan süperoksit doymamış lipitleri değiştirir. Bunun sonucunda eritrosit membranlarında zar akışkanlığı kaybolur ve hücre yıkımı oluşur[78]. Eritrositlerin oksidasyona duyarlılığı eritrositlerin E vitamini içeriği ile kuvvetlice bağlantılıdır [79, 80].

Doğal kaynaklı E vitamininin ve sentetik analogunun (raksofelast) fare ve sıçanların yara iyileşmesinde hipergliseminin neden olduğu zararlı etkiye karşı göstermiş olduğu faydalı antioksidan fonksiyonu gösterilmiştir[81-83]. Bunlara karşın, E vitamininin cerrahi yaralarda etkinliği net değildir. E vitamininin membran stabilize edici etkisi lizozomal membranlar için de geçerlidir. E vitamini bu özelliği ile glukokortikoidlerle aynı grupta yer alır. Sistemik E vitamini inflamatuvar cevabı baskılar, kollajen sentezini inhibe eder ve bu sebeple yaranın gerim gücünü azaltır. Bu etkisi de glukokortikoidlere benzerdir[84]. Yanık hastalarında yapılan prospektif, randomize, çift kör çalışmada, topikal steroid ve E vitamininin skar kalınlığına, hareket aralığına ve kozmetik sonuca faydasının olmadığı gösterilmiştir[85].

1990'ların başında E vitamininin hücre proliferasyonunu ve protein kinaz C aktivitesini inhibe ederek biyolojik bir antioksidan işleviyle ilgisi olmayan şekillerde çalışabileceği öne sürülmüştür. Sonraki araştırmalar tokoferollerin ve tokotrienollerin antioksidan fonksiyonları ile ilişkisiz antiproliferatif, proapoptotik, antiinflamatuvar, antianjiyogenik etkileri olduğunu gösterdi[86].

Ratların E vitamini durumunu değerlendirmek için çeşitli kriterler kullanılmaktadır. Bunlar hayatta kalma, büyüme, beslenmeye bağlı kas distrofisinin önlenmesi, kreatinürinin önlenmesi, fetal rezorpsiyonun önlenmesi, testiküler dejenerasyonun önlenmesi, malondialdehit üretiminin azaltılması, salinle seyreltilen kırmızı kan hücrelerinin spontan hemolizinin önlenmesi olarak sıralanabilir[87].

Hakkarainen ve arkadaşlarının çalışmasında selenyum eksikliği olan sıçanların, hayatta kalmak için 5.2 mg/kg α - tokoferol asetat içeren diyetle ihtiyaç duyduğu bulunmuştur[88]. Jager ve Houstsmuller, kırmızı kan hücrelerinin spontan hemolizini önlemek için diyet %3.6 linoleik asit içerdiğinde 13.2 mg/kg RRR- α - tokoferol gerektiğini, ancak linoleik asit içeriğinin diyetle %13 olduğunda gereksinimin 18 mg/kg RRR- α - tokoferole çıktığını bulmuştur[89]. Bendich ve arkadaşları, E vitamini kısıtlı diyetle ebeveyn Wistar suşuna göre daha duyarlı olan spontan hipertansif sıçanların E vitamini gereksinimlerini incelemiştir. Normal büyümenin sürdürülmesi için 7.5 mg/kg, miyopatinin önlenmesi için 15 mg/kg, kırmızı kan hücrelerinin spontan hemolizini önlemek için 50 mg/kg RRR- α - tokoferol içeren diyet ihtiyacı görüldü. Optimum immün cevap için yaklaşık 50 mg/kg α - tokoferol asetat gereksinimini gösterdi. İmmün sistem yanıtı E vitamini durumunun en hassas göstergesi olarak izlendi[90].

300 mg/kg ve 500 mg/kg E vitamininin ratlarda penisiline bağlı gelişen epileptiform aktiviteyi azalttığı ancak düşük doz E vitamininin (100 mg/kg) aktivitenin frekansına ve genliğine etki etmediği gösterilmiştir. Bu çalışmada en iyi etkinin deney öncesi üç gün 500 mg/kg α - tokoferol takviyesi ile oluştuğu gözlenmiştir[91].

Koyunlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, tek doz intraperitoneal α - tokoferol enjeksiyonu sonrası doku ve plazma vitamin E konsantrasyonları incelenmiştir. Dokulardaki α - tokoferol konsantrasyonuna zamanın çok etkili olduğu izlenmiştir. Çoğu dokuda, en yüksek α - tokoferol konsantrasyonu, doz uygulamasından sonraki 3. günde olmuştur. Vitamin tutulumu, incelenen dokular arasında farklılık göstermiştir. Doz uygulamasından üç gün sonra, karaciğer tarafından büyük miktarda E vitamini alımı gözlemlendi; bu, hepatik dokuların E vitamini etkisi için hedef organ olduğu kavramını desteklemektedir. Ayrıca 3. günde dalak ve akciğerde tutulum belirgindi. Diğer vücut dokularındaki E vitamini

konsantrasyonları doz sonrası 3. günde önemli ölçüde arttı, ancak karaciğer, dalak ve akciğerdekilere göre daha az belirgin bir artış mevcuttu. Tüm dokulardaki E vitamini konsantrasyonu 3 gün sonra azaldı[92].

E vitamini göreceli olarak toksik olmayan bir maddedir. Buna karşın bir çalışmada Martin ve Hurley 1600 mg/kg α -tokoferol alan ratların yavrularında göz anomalileri saptadılar[93]. 2000 mg/kg α -tokoferolün ise protrombin üretimini yavaşlattığı ve düşük K vitamini ile beslenen sıçanlarda kanama diyatezi geliştiği gösterilmiştir. E vitamininin metabolik son ürünü olan tokoferil kinonun K vitamini metabolizmasını inhibe ettiği bulunmuştur[94].

Bütün bunlara bakıldığında, yara iyileşmesinde E vitamini kullanılmasının halk sağlığı önerisi olarak değerlendirmek için yeterli kanıt düzeyi bulunmamaktadır. Tokoferolün her türünün yarayı etkileyen farklı mekanizması olduğu unutulmamalıdır. Bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır ve bu çalışmaların amacı E vitamini suplementasyonu için referans kılavuzların tanımlanmasıdır[7].

2.7. Toplam Oksidan ve Antioksidan Statüsü

Metabolik ve fizyolojik süreçler sonunda reaktif oksijen türleri üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşabilir. Organizma bunları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla temizler. Bazı şartlarda oksidan seviyesindeki yükselme veya antioksidan seviyesindeki düşüş önlenemez ve oksidan/antioksidan dengesi oksidatif statüye kayar. Sonuç olarak 100'ün üzerinde hastalıkla ilişkili oksidatif stres ortaya çıkar[95-97].

Serum oksidan ve antioksidan konsantrasyonları laboratuvarlarda ayrı ayrı ölçülebilir olmasına rağmen, bu yöntem zaman kaybına, iş gücü kaybına ve maliyetin yükselmesine sebep olur. Farklı oksidan ve antioksidan seviyelerinin ölçümünün pratik olmaması ve etkilerinin birbirleri üzerinde katkısı olması sebebiyle bir örneğin oksidan ve antioksidan statüsü topluca ölçülebilir[98, 99].

Toplam antioksidan statüsünü ölçmek için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler genelde çalışma kitinde bir radikal oluşturulup, örneğin bu radikale karşı gösterdiği antioksidan aktivitenin ölçülmesi prensibine dayanır. En sık kullanılan kolorimetrik 2,2-Azino-bis(3-etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit)(ABTS⁺) bazlı yöntemdir. İndirgenmiş ABTS normalde renksiz bir molekül iken okside

olduğunda karakteristik mavi-yeşil ABTS⁺ oluşur. Renkli ABTS⁺ okside olabilen başka bir madde ile karıştırıldığında orijinal renksiz haline dönerken karşılığında reaksiyona giren madde okside olur. Bu özellik ABTS kullanan sistemlerin ana çalışma prensibidir[99].

Toplam oksidan statüsünü ölçmek için de çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bunlardan biri de ferrik-ksilenol turuncusu (Ferric-xyleneol orange-FOX1) çalışmasıdır. Bu metot asidik ortamda ferröz iyonunun ferrik formuna okside olmasıyla ve ferrik miktarının ksilenol turuncusu ile ölçülmesi prensibine dayanır[98].



3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Protokolü

Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 25.02.2020 tarih, 2020/02 kayıt, 2020/02-07 karar numaralı izni alınmıştır. Çalışmanın finansal desteği Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından sağlanmıştır(THD-2020-18802). Çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı San. ve Tic. A.Ş. den elde edilmiş, 7 haftalık, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen, standart laboratuvar yemi ile beslenen, 48 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Deney protokolünde 48 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan her birinde 12 adet sıçan içecek şekilde 4 alt gruba ayrılmıştır.

Sıçanların deneyde kullanılmadan 10 gün önce kafeslerde su kısıtlaması olmadan, standart yem ve normal musluk suyu ile beslenip ortam koşullarına uyum göstermesi sağlanmıştır. Sıçanlar sabit sıcaklıkta, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda barındırılmıştır.

- **Grup 1:** Sham grubu olarak sadece laparotomi yapıp, ameliyat sonrası 7. günde sağlam kolon patlama basıncına bakılmıştır. Patlama basıncı deneyinden sonra kolon segmenti uzunlamasına açılıp hidroksprolin çalışması için 5 milimetrelik doku alınmıştır. Sonrasında toplam oksidan statüsü ve toplam antioksidan statüsü bakılmıştır.
- **Grup 2:** E vitamini verilmeyen grup olarak ameliyat öncesi dönemde 3 gün intraperitoneal zeytinyağı enjeksiyonu yapılmıştır. Kolon anastomozu yapılırken 5 milimetrelik kolon segmenti bazal hidroksprolin seviyesi için rezeke edilmiştir. Ameliyat sonrası 7. günde kolon anastomozu patlama basıncına bakılmıştır. Patlama basıncı deneyinden sonra anastomoz yapılan kolon segmenti uzunlamasına açılıp hidroksprolin çalışması için 5 milimetrelik, ortasında anastomoz olan doku alınmıştır. Sonrasında toplam oksidan statüsü ve toplam antioksidan statüsü bakılmıştır.
- **Grup 3:** Düşük doz E vitamini (50 mg/kg) ve çözücü olarak zeytinyağı verilen grup olarak ameliyat öncesi dönemde 3 gün intraperitoneal düşük doz

E vitamini (50 mg/kg) enjeksiyonu yapılmıştır. Kolon anastomozu yapılırken 5 milimetrelik kolon segmenti bazal hidroksiprolin seviyesi için rezeke edilmiştir. Ameliyat sonrası 7. günde kolon anastomozu patlama basıncına bakılmıştır. Patlama basıncı deneyinden sonra anastomoz yapılan kolon segmenti uzunlamasına açılıp hidroksiprolin çalışması için 5 milimetrelik, ortasında anastomoz olan doku alınmıştır. Sonrasında toplam oksidan statüsü ve toplam antioksidan statüsü bakılmıştır.

- **Grup 4:** Yüksek doz E vitamini (500 mg/kg) ve çözücü olarak zeytinyağı verilen grup olarak ameliyat öncesi dönemde 3 gün intraperitoneal yüksek doz E vitamini (500 mg/kg) enjeksiyonu yapılmıştır. Kolon anastomozu yapılırken 5 milimetrelik kolon segmenti bazal hidroksiprolin seviyesi için rezeke edilmiştir. Ameliyat sonrası 7. günde kolon anastomozu patlama basıncına bakılmıştır. Patlama basıncı deneyinden sonra anastomoz yapılan kolon segmenti uzunlamasına açılıp hidroksiprolin çalışması için 5 milimetrelik, ortasında anastomoz olan doku alınmıştır. Sonrasında toplam oksidan statüsü ve toplam antioksidan statüsü bakılmıştır.

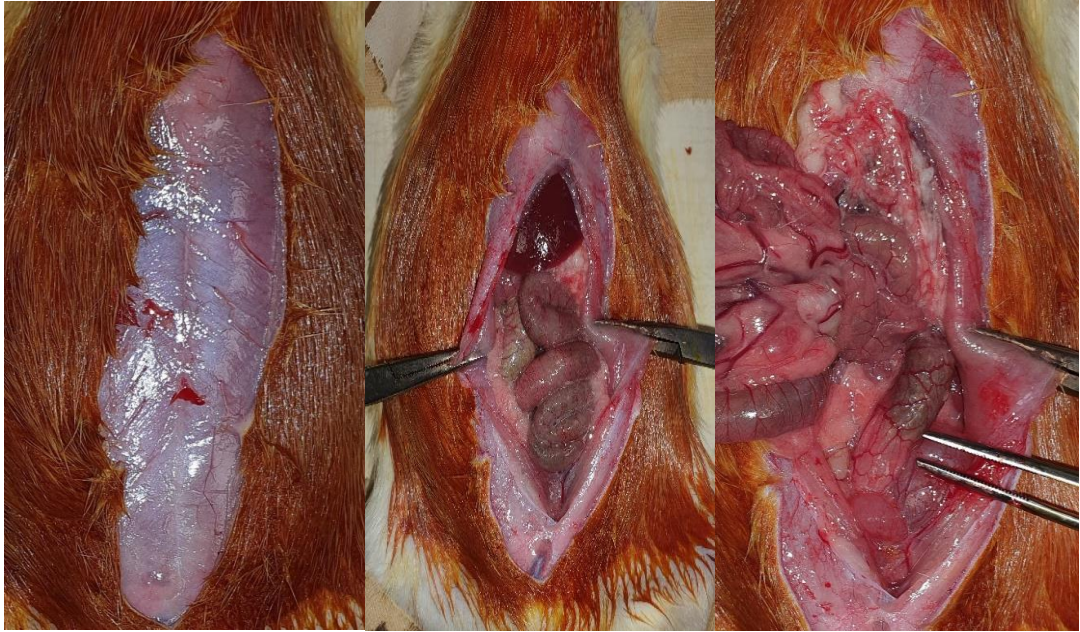
E vitamini suplementasyonu için literatürde referans bir klavuz bulunmamaktadır. E vitamini suprafizyolojik dozlarda farklı etkilere sahip olmasının yanında daha önce bağırsak üzerinde etkisi çalışılmamıştır. Optimum immün cevap için yaklaşık 50 mg/kg α -tokoferol asetat gereksinimi gösterilmiş ve immün sistem yanıtı E vitamini durumunun en hassas göstergesi olarak literatürde gösterilmiştir. Buna ek olarak E vitamininin ratlarda penisiline bağlı gelişen epileptiform aktiviteyi azaltma etkisinin deneyden 3 gün önce suplementasyona başlanmasıyla maksimuma çıktığı gözlenmiştir. Koyunlar üzerinde yapılan çalışmada ise intraperitoneal uygulanan E vitamininin maksimum doku ve plazma konsantrasyonuna 3. günde çıktığı görülmüştür. Yine literatürde birçok çalışmada yüksek doz olarak 500 mg/kg α -tokoferol kullanılmıştır. Biz de çalışmamızda düşük doz olarak 50 mg/kg ve yüksek doz olarak 500 mg/kg belirledik. Kolon anastomozu öncesi E vitaminini 3 gün boyunca intraperitoneal uygulayarak maksimum etkiye ulaşmayı hedefledik. Sonrasında idame için gün aşırı 50 mg/kg ve 500 mg/kg E vitamini uyguladık.

3.2. Anestezi

Tüm cerrahi gruplar için genel anestezi, 10 mg/kg xylasine ve 80 mg/kg ketamin hidroklorür karışımı intraperitoneal verilerek sağlanmıştır.

3.3. Cerrahi Teknik

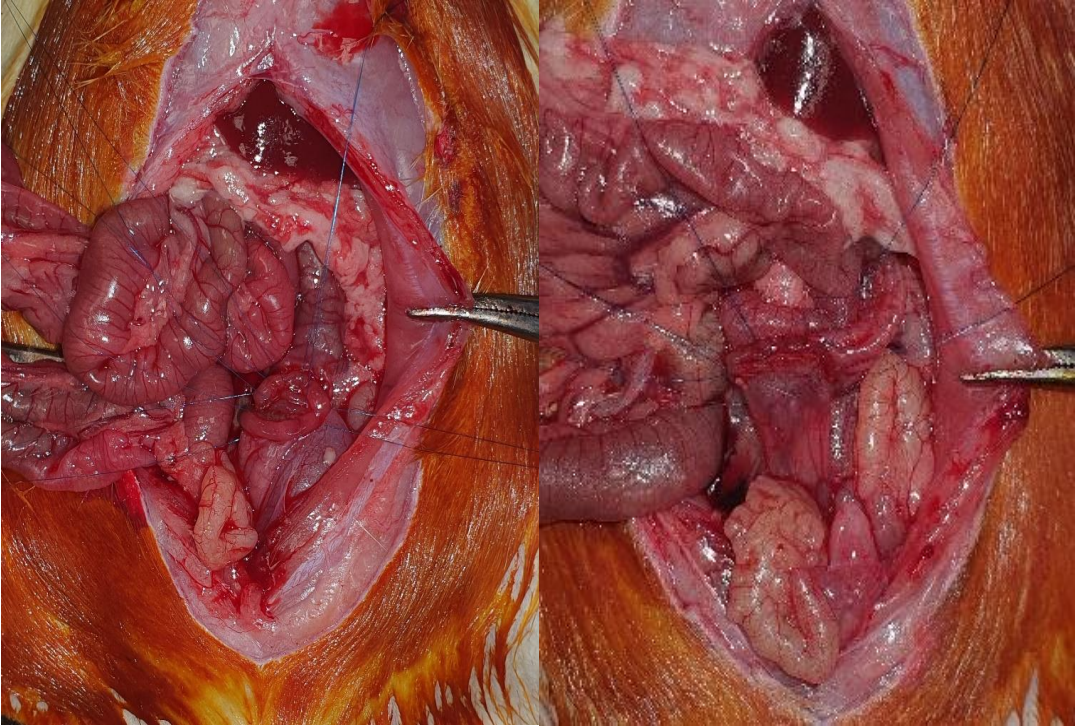
Aseptik şartlarda povidon iyot ile batın cildi temizlendikten sonra 5 santimetrelilik orta hat laparotomisi ile batına girildi (Resim 3.1). İnen kolondan peritoneal katlantının 3 santimetre proksimalinde 5 milimetrelilik bir segment rezekte edilip anastomoz yapıldı (Resim 3.2). Rezekte edilen segment bazal hidrokspirolin düzeyi ölçmek için kullanıldı. Anastomoz 7-0 polipropilen dikiş ile tek tek, tek kat halinde yapıldı (Resim 3.3). Fasya ve cilt ayrı ayrı sürekli 4-0 ipek dikiş ile kapatıldı (Resim 3.4). Bu anastomoz sham grubu dışında tüm gruplara uygulanmış olup, sham grubuna sadece laparotomi yapılmıştır.



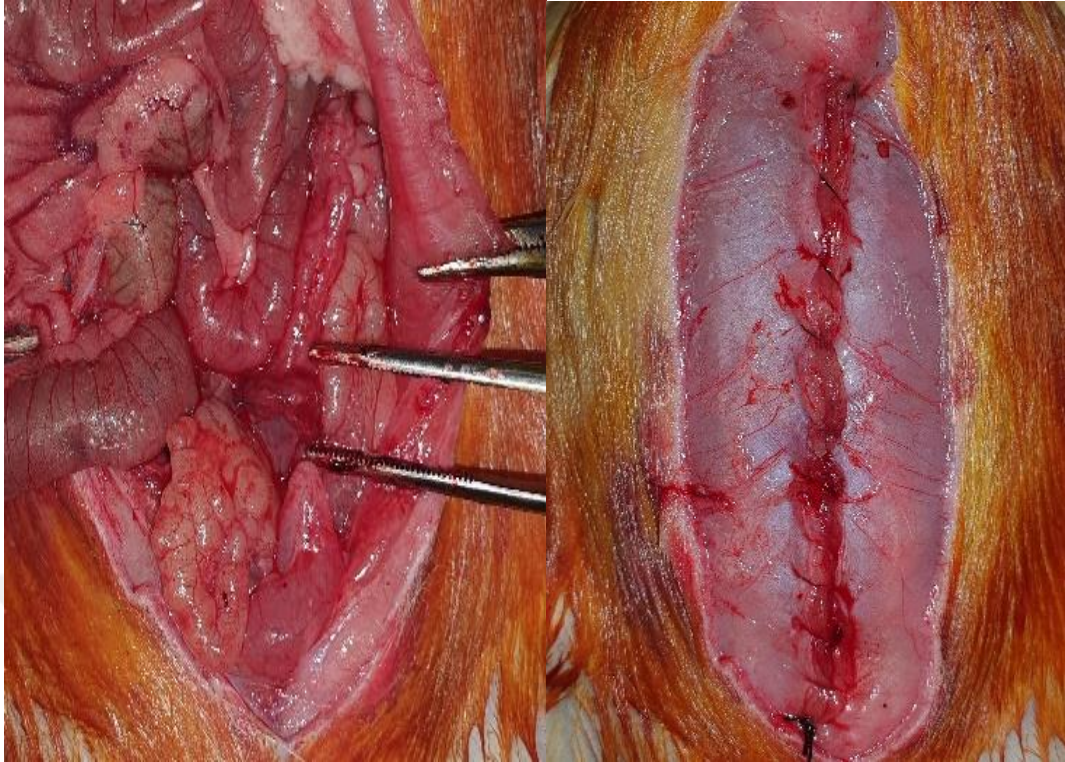
Resim 3.1. Genel anestezinin ardından sıçanın hazırlanması, %10 povidon iyot ile asepsi sonrası orta hat laparotomi ve inen kolonun bulunması



Resim 3.2. İnen kolondan 5 milimetrelilik segmentin rezeksiyonu sonrası iki kolon ucunun askı dikişleri ile anastomoza hazırlanması



Resim 3.3. Arka duvar ve ön duvarın rekonstrüksiyonu



Resim 3.4. Anastomozun son hali ve fasya kapama

3.4. E Vitamini İdamesi

E vitamini 2 gruba düşük doz ve yüksek doz olmak üzere haftada 3 kez ameliyat sonrası bir, üç ve beşinci günler olmak üzere intraperitoenal olarak uygulandı. E vitamini verilmeyen gruba ise yine ameliyat sonrası bir, üç ve beşinci günlerde intraperitoneal zeytinyağı uygulandı.

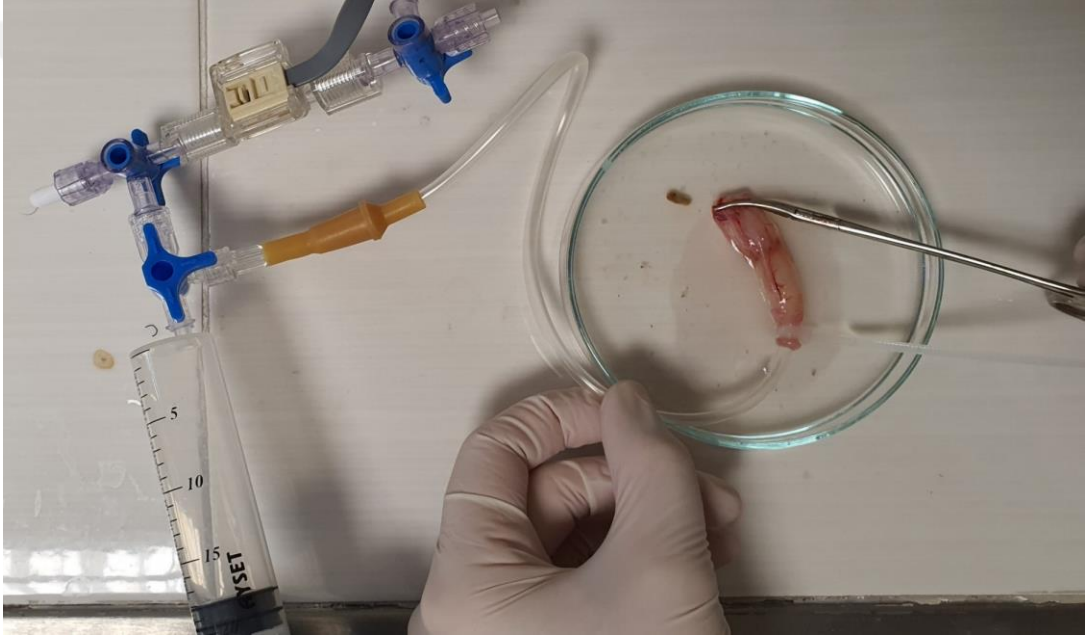
3.5. Anastomozun Değerlendirilmesi

Yedinci günde sakrifiye edilen sıçanlarda relaparotomi yapıldı. Toplam oksidan statüsü/toplam antioksidan statüsü ölçümü için kan alındı. Anastomoz bütünlüğü makroskopik olarak değerlendirildikten sonra anastomozun ortasında bulunduğu 4 santimetrelilik kolon segmenti eksize edildi.

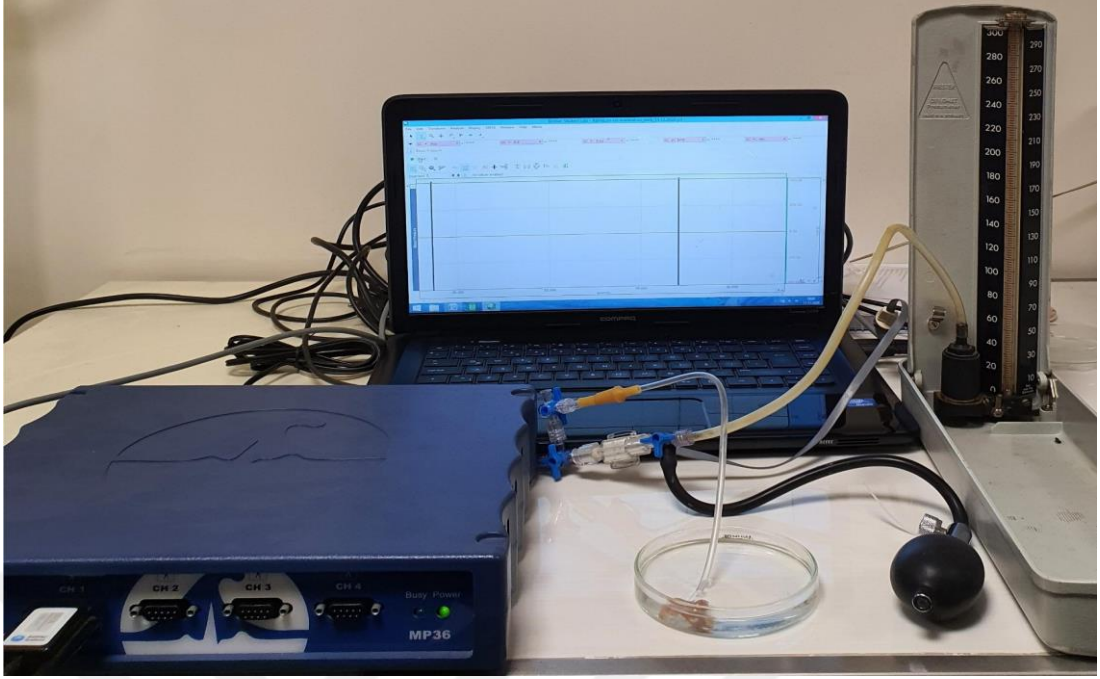
3.5.1. Mekanik Güç Ölçümü (Anastomoz Patlama Basıncı Deneyi)

Patlama basıncı ölçümleri Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvar'ında Biopac MP36 sistemi ile SS13L (Blood pressure) basınç çevirgeci kullanılarak gerçekleştirildi. MP36 sisteminin kanal 1'ine (CH1)

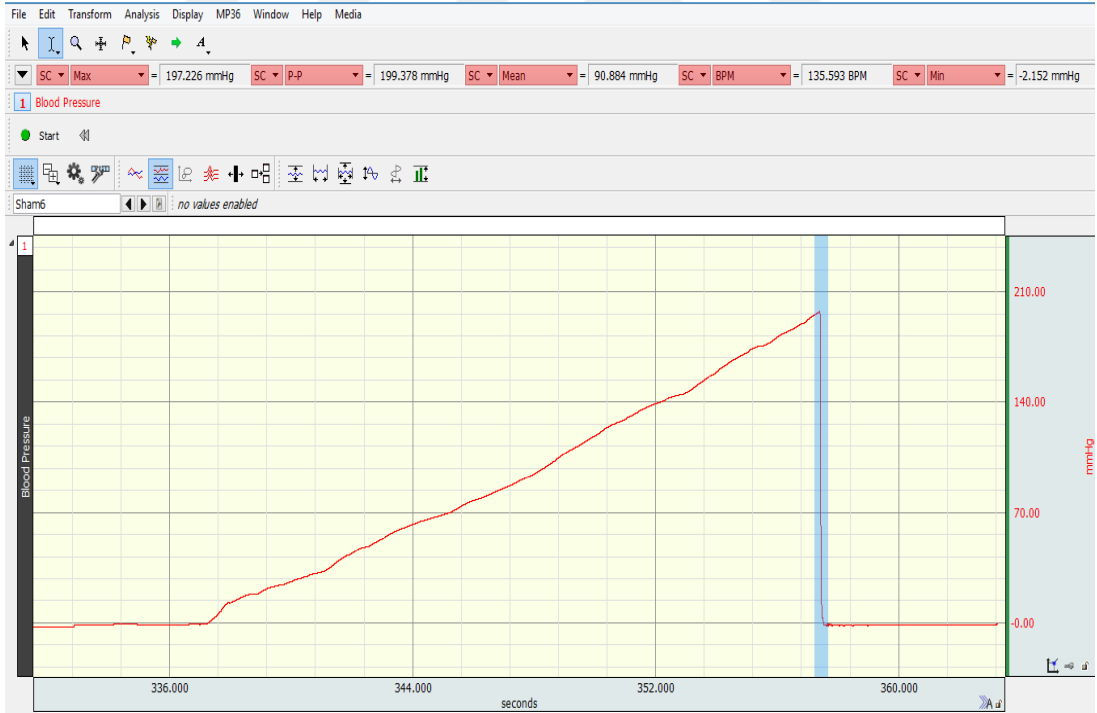
SS13L basınç çevirgeci takıldı ve sistem açıldı. Basınç çevirgecinin ucuna üç yollu musluk takılarak civalı manometre ile kalibrasyon işlemi yapıldı. Kalibrasyonu takiben civalı manometre üç yollu musluk aracılığı ile sistemden çıkartıldı ve basınç değişim ölçümlerine geçildi. Ölçümler için eksize edilen segmentin bir ucu kleplendi, diğer ucu ise serum hortumu aracılığı ile basınç çevirgecine bağlandı (Resim3.5). Bir enjektör yardımıyla hava pompalanarak bağırsak içi basınç artırıldı. Basıncıdaki ani düşmenin olduğu basınç patlama basıncı olarak kaydedildi (Resim 3.6 ve 3.7). Patlama basıncından sonra anastomozun bulunduğu segment uzunlamasına kesilip anastomozun bulunduğu 5 milimetrelik kısım hidrokspirolin yoğunluğunu incelemek için alimünyum folyo içinde -80 °C'de saklandı.



Resim 3.5. Patlama basıncı deneyi için hazırlanan bir ucu kleplili diğer ucu hava kaçırmayacak şekilde serum hortumu yerleştirilen kolon segmenti



Resim 3.6. Patlama basıncı deneyi için hazırlanmış manometri ve MP36 kayıt sistemi



Resim 3.7. Basıncın ani olarak düştüğü patlama basıncı değeri

3.5.2. Hidroksiprolin Düzeyi

Derin dondurucuda -80 °C'de saklanan doku örneklerinin, anastomozdaki dikişler alındıktan sonra ağırlıkları ölçüldü. Bu örnekler daha sonra içinde eşit miktarda 6N HCL ve 50 mM potasyum- fosfat bulunan hidroliz tüpüne yerleştirildi. Bu tüpler 110 °C'de 16 saat boyunca hidrolize edilip tüplerden alınan asidik çözeltiler NaOH ile nötralize edildi. Oluşan süpernatantta hidroksiprolin düzeyi bakılıp kaydedildi.

Hidroksiprolin ölçümleri, amino asitlerin amino grupları ile reaksiyona giren ninhidrin (1,2,3- triketohidrandan hidrat) kullanan kromatografik yöntemle amino asit analizörü kullanılarak gerçekleştirildi.

3.6. Toplam Oksidan Statüsü / Toplam Antioksidan Statüsü

Heparinli tüplere alınmış rat kan örneklerinden santrifüj ile plazma ayrıştırıldı. Plazmalar -80 °C'de saklandı. Toplam oksidan statüsü ölçümü için, örnekten 45 µl alınarak ferröz iyon-şelatör kompleksi içeren çözelti ile reaksiyona sokuldu. Bu şekilde örnekteki oksidanlar ferrik iyon oluşturdu. Ferrik iyon bir kromojen ile asidik ortamda renk oluşturdu ve 530 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı. Standart olarak hidrojen peroksit kullanıldı ve total oksidan durum µmol H₂O₂ Equiv./L olarak değerlendirildi.

Toplam antioksidan statüsü ölçümü için, örnekten 18 µl alınarak ABTS radikali ile reaksiyona sokuldu ve örnekteki antioksidanlar ABTS radikalini indirgedi. 660 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapıldı. Standart olarak vitamin E analogu kullanıldı ve total antioksidan durum µmol Trolox Equiv. /L olarak değerlendirildi.

Toplam oksidan statüsünün toplam antioksidan statüsüne oranı oksidatif stres indeksi olarak kabul edildi. Hesaplama için, ortaya çıkan toplam antioksidan statüsünün birimi µmol/L'ye dönüştürüldü ve oksidatif stres indeksi değeri aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Oksidatif stres indeksi= Toplam oksidan statüsü (µmol H₂O₂ eşdeğeri/L) / Toplam antioksidan statüsü (µmol Trolox eşdeğeri/L)[100-102].

3.7. İstatistiksel Analizler ve Deney Sonuçlarının Sunulması

Elde edilen veriler için IBM SPSS Statistics Versiyon 22 programı kullanılmıştır. Normal dağılan veriler için student t ve ANOVA, normal dağılım göstermeyen veriler için Mann-Whitney U testi ve Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Oransal ilişkileri değerlendirmek için ki-kare testi kullanıldı. Yapılan testlerin sonunda $p < 0.05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Kaçak Oranları

Anastamoz yapılan gruplarda kaçak oranları karşılaştırılmıştır (Tablo 4.1). Kaçak nedeni ile ölen ratlar da tabloya eklendiği için gruplar arası sıçan sayılarında farklılık mevcuttur. Düşük doz E vitamini verilen grupta 2 sıçan, yüksek doz E vitamini verilen grupta ise 3 sıçan yedinci gün öncesi ölmüştür ve relaparotomi yapıldığında bu ratlarda anastomoz kaçağı saptanmıştır. Bunlar dışında 7. günde yapılan laparotomi sonrası zeytinyağı grubunda 2 sıçanda, düşük doz E vitamini grubunda 3 sıçanda, yüksek doz E vitamini verilen 2 sıçanda daha anastomoz kaçağı saptanmıştır. Bu veriler ışığında gruplar arasında kaçak oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildir ($p=0.517$).

Tablo 4.1. Anastamoz yapılan gruplarda kaçak oranları

Değişkenler	Kaçak (-)*	Kaçak (+)*	Toplam
Zeytinyağı (Grup 2)	10(%83.3)	2(%16.7)	n=12
Düşük doz E vitamini(Grup 3)	9(%64.3)	5(%35.7)	n=14
Yüksek doz E vitamini(Grup 4)	10(%66.7)	5(%33.3)	n=15
Toplam	29(%70.7)	12(%29.3)	n=41

* Kaçak (-): Kaçak yok, Kaçak (+): Kaçak var

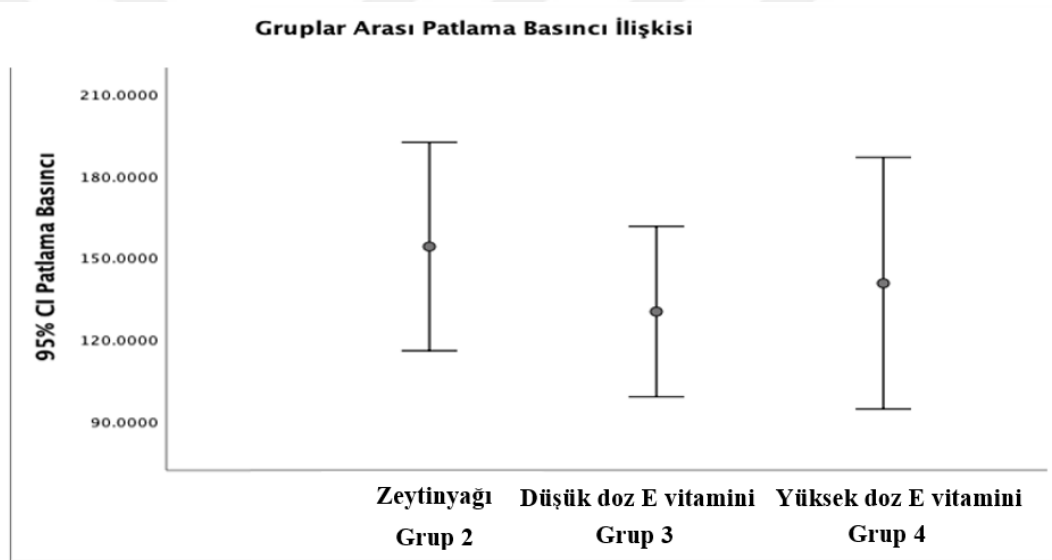
4.2. Patlama Basıncı

Yedinci günde sakrifiye edilen ratların kolon segmentlerinin patlama basıncı karşılaştırılmıştır (Tablo 4.2)(Grafik 4.1). Kaçak gelişen ratlar haricindeki deneklerde patlama basınçları karşılaştırıldığında, anastamoz yapıp yüksek doz E vitamini verilen grupta (n=10) patlama basıncı ortalama 164.89 mmHg (SD=15.01); anastamoz yapıp düşük doz E vitamini verilen grupta (n=9) patlama basıncı 153.33 mmHg (SD=6.94), sadece zeytinyağı verilen grupta (n=10) patlama basıncı 178.26 mmHg (SD=4.90) olarak görülmüştür. Anastamoz yapılan gruplar arasında patlama basınçları açısından anlamlı fark mevcut değildir ($p=0.245$).

Tablo 4.2. Yedinci günde sakrifiye edilen ratlarda kolon patlama basınçları

	Değişkenler*	Zeytinyağı grubu(Grup 2) (n=10)	Düşük doz E vitamini(Grup 3) (n=9)	Yüksek doz E vitamini(Grup 4) (n=10)	p
Patlama Basıncı	Ortalama	178.26	153.33	164.89	0.245
	Standart Sapma	15.51	20.8	47.47	
	Standart Hata	4.90	6.94	15.01	
	Ortanca	177.63	145.44	147.96	
	Minimum	161.10	132.76	108.74	
	25 Çeyreklik	163.27	140.29	147.96	
	75 Çeyreklik	186.66	162.34	188.51	
	Maksimum	204.41	195.13	249.44	

*Gruplar e vitamini verilme durumuna göre ayrılmıştır

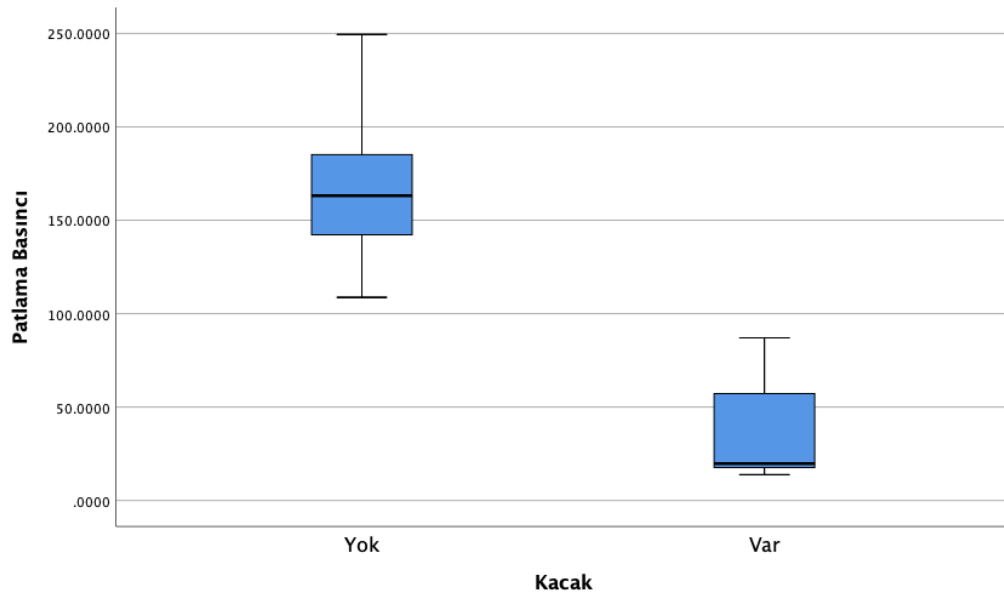
**Grafik 4.1.** Anastomoz yapılan gruplar arası patlama basıncı ilişkisi

Anastomoz kaçağı olan sıçanlardaki (n=7) patlama basıncı 38.6 mmHg (SD=30.2), kaçak olmayan sıçanların (n=29) patlama basıncına göre 165.9 mmHg (SD=32.11) beklendiği üzere anlamlı olarak daha düşüktür (p=0.001)(Tablo 4.3) (Grafik 4.2).

Tablo 4.3. Yedinci günde sakrifiye edilen, kaçak olan ve olmayan ratlarda kolon patlama basıncı

	Değişkenler	Kaçak (-)*(n=29)	Kaçak (+)*(n=7)	p
Patlama Basıncı	Ortalama	165.91	38.61	0.001
	Standart Sapma	32.11	30.3	
	Standart Hata	5.94	11.46	
	Ortanca	163.17	19.7	
	Minimum	108.7	13.8	
	25 Çeyreklik	142.2	16.2	
	75 Çeyreklik	185.13	74.84	
	Maksimum	249.44	87.05	

*Kaçak (-): Kaçak yok, Kaçak (+): Kaçak var

**Grafik 4.2.** Anastomoz kaçağı olan ve olmayan sıçanlar arasındaki patlama basıncı ilişkisi

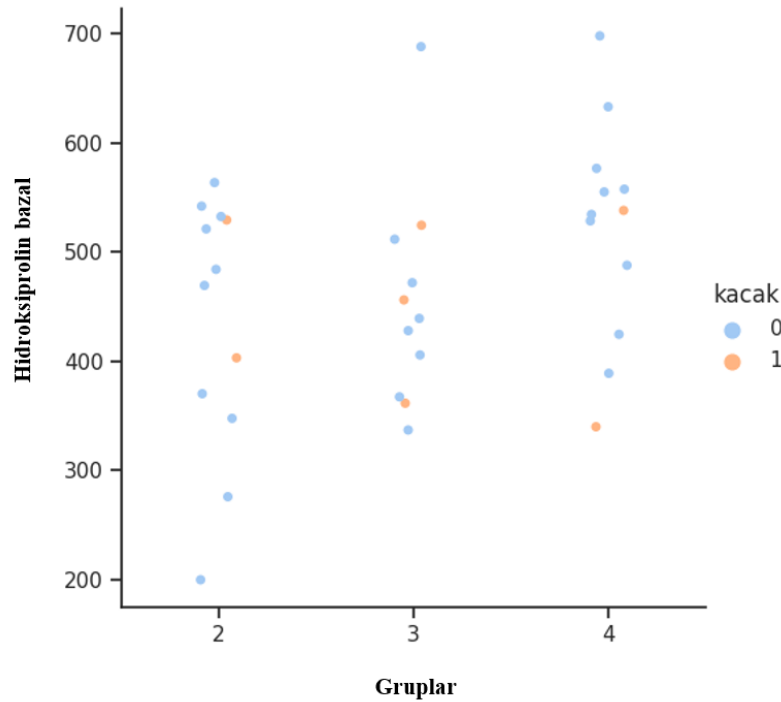
4.3. Hidroksiprolin Düzeyi

Hidroksiprolin seviyesi iki aşamada değerlendirilmiştir. İlk önce anastomozun yapıldığı 0. gün 5 milimetrelik kolon segmenti rezeke edilmiş ve sham grubu dışındaki gruplarda bazal hidroksiprolin seviyeleri ölçülmüştür. Sham grubuna rezeksiyon uygulanmadığı için bazal hidroksiprolin ölçülememiştir. Ameliyat sonrası 7. günde patlama basıncı deneyi yapıldıktan sonra ortasında anastomoz bulunan yine

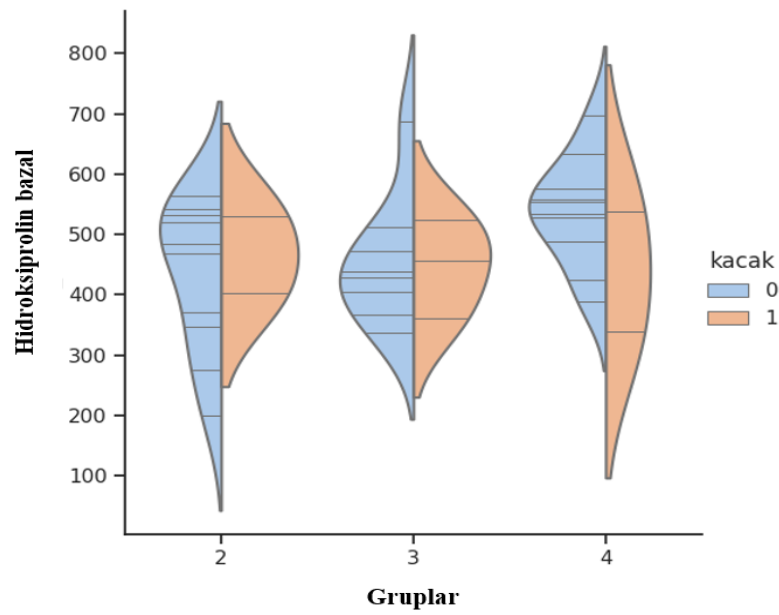
5 milimetrelık kolon segmentleri çıkarılıp anastomozda hidroksiprolin seviyesi bakılmıştır. Devamında ise anastomoz hidroksiprolini bazal hidroksiproline oranlanarak anastomoz öncesi durumla anastomoz hidroksiprolini yüzde olarak karşılaştırılmıştır.

4.3.1. Bazal Hidroksiprolin Düzeyi

Anastomoz yapılmadan önce rezeke edilen 5 milimetrelık kolon segmentlerindeki hidroksiprolin içerikleri karşılaştırılmıştır (Grafik 4.3-4). Ortalama (n=36) bazal hidroksiprolin değeri 471.05 nmol/ml (SD=109.2) olarak ölçülmüştür. Yüksek doz E vitamini verilen grupta (n=12) bazal hidroksiprolin değeri ortalama 521.68 nmol/ml (SD=100.18); düşük doz E vitamini verilen grupta (n=12) 453.59 nmol/ml (SD=98.11), zeytinyağı verilen grupta (n=12) 436.43 nmol/ml (SD=117.01) olarak ölçülmüştür (Tablo 4.4). Her üç grup arasında anlamlı fark izlenmemiştir (p=0.13)(Grafik 4.5).



Grafik 4.3. Bazal hidroksiprolin içeriklerinin spot plot analizi

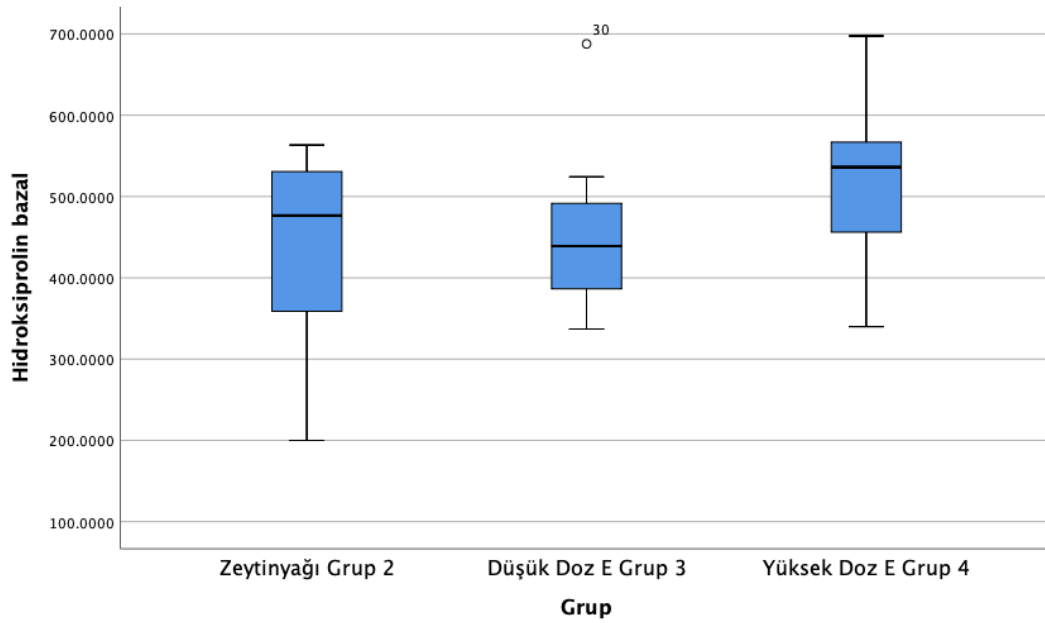


Grafik 4.4. Bazal hidroksiprolin içeriklerinin violin plot analizi

Tablo 4.4. Bazal hidroksiprolin düzeyinin gruplara göre dağılımı

	Değişkenler*	Zeytinyağı grubu (Grup 2) (n=12)	Düşük doz E vitamin (Grup 3) (n=12)	Yüksek doz E vitamin (Grup 4) (n=12)	Total (n=36)	p
Bazal Hidroksiprolin Düzeyi	Ortalama	436.43	453.59	521.68	471.05	0.13
	Standart Sapma	117.01	98.11	100.18	109.2	
	Standart Hata	33.77	29.5	28.92	18.46	
	Ortanca	476.58	439.05	536.06	483.96	
	Minimum	199.89	336.94	339.9	199.89	
	25 Çeyreklik	358.86	367.26	456.09	370.24	
	75 Çeyreklik	530.72	511.51	566.83	529.14	
	Maksimum	563.35	687.78	697.61	697.61	

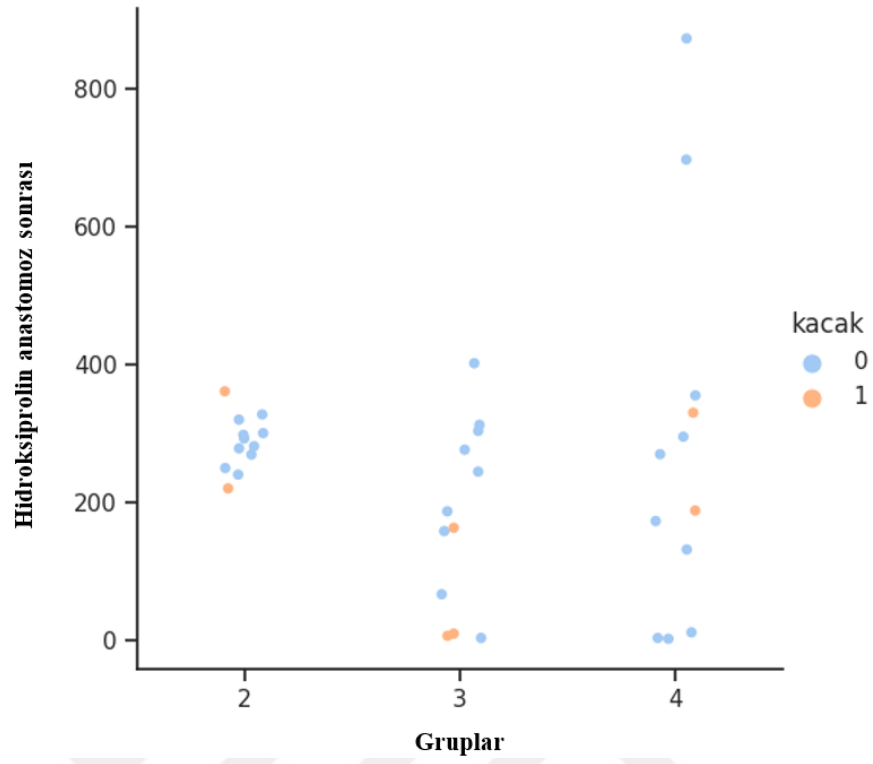
*Gruplar e vitamini verilme durumuna göre ayrılmıştır



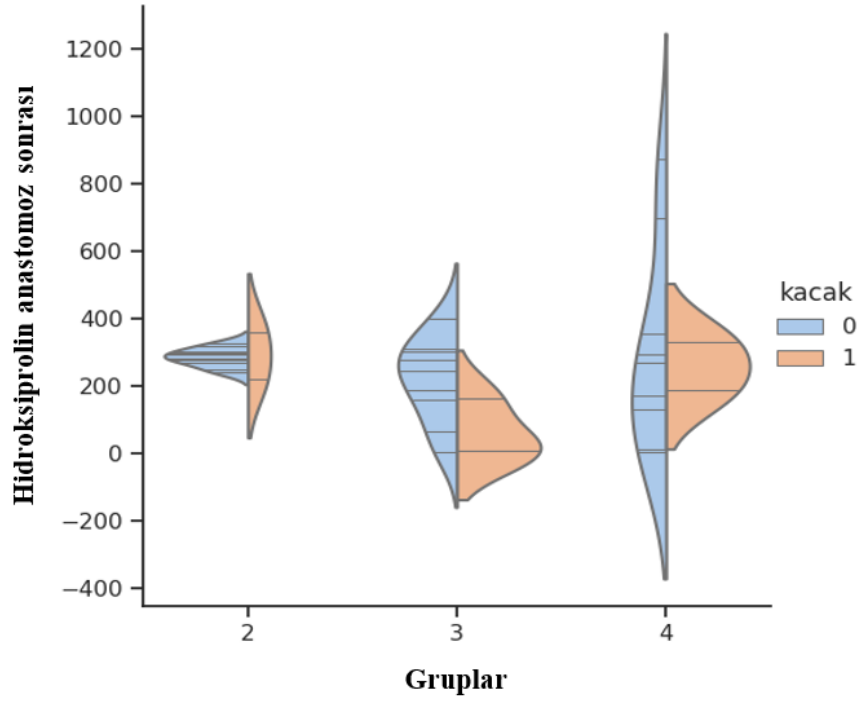
Grafik 4.5. Gruplar arasında bazal hidroksiprolin içeriklerinin karşılaştırılması

4.3.2. Anastomoz Hidroksiprolin Düzeyi

Kaçak gelişen ratlar haricindeki deneklerde, ortasında anastomoz bulunan kolon segmentlerindeki hidroksiprolin seviyeleri hesaplanmıştır (Grafik 4.6-7)(Tablo 4.5). Anastomozdaki hidroksiprolin değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark mevcut değildir ($p=0.163$)(Grafik 4.8). Yine anastomoz kaçağı olanlar ($n=7$) ile olmayanlar ($n=29$) karşılaştırıldığında, iki grup arasında hidroksiprolin seviyesi açısından fark izlenmemiştir ($p=0,436$)(Tablo 4.6)(Grafik 4.9).



Grafik 4.6. Anastomoz sonrası hidrokspirolin düzeylerinin spot plot analizi

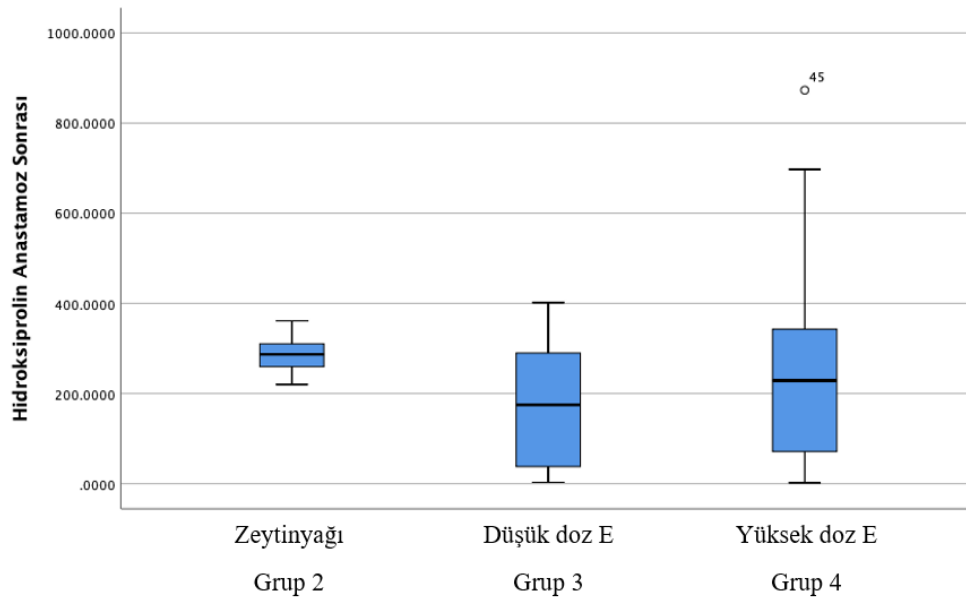


Grafik 4.7. Anastomoz sonrası hidrokspirolin düzeylerinin violin plot analizi

Tablo 4.5. Anastomoz sonrası hidrokspirolin seviyelerinin gruplar arasındaki dağılımı

	Değişkenler*	Zeytinyağı grubu (Grup 2) (n=10)	Düşük doz E vitamini(Grup 3) (n=9)	Yüksek doz E vitamini(Grup 4) (n=10)	p
Anastomoz Sonrası Hidroksiprolin Düzeyi	Ortalama	286.50	117.67	277.43	0.163
	Standart Sapma	39.31	134.72	270.12	
	Standart Hata	11.35	38.89	77.97	
	Ortanca	285.93	174.94	228.9	
	Minimum	220.1	3.14	1.94	
	25 Çeyreklik	259.52	37.95	71.35	
	75 Çeyreklik	310.16	289.97	342.57	
	Maksimum	361.07	401.83	873.15	

*Gruplar e vitamini verilme durumuna göre ayrılmıştır

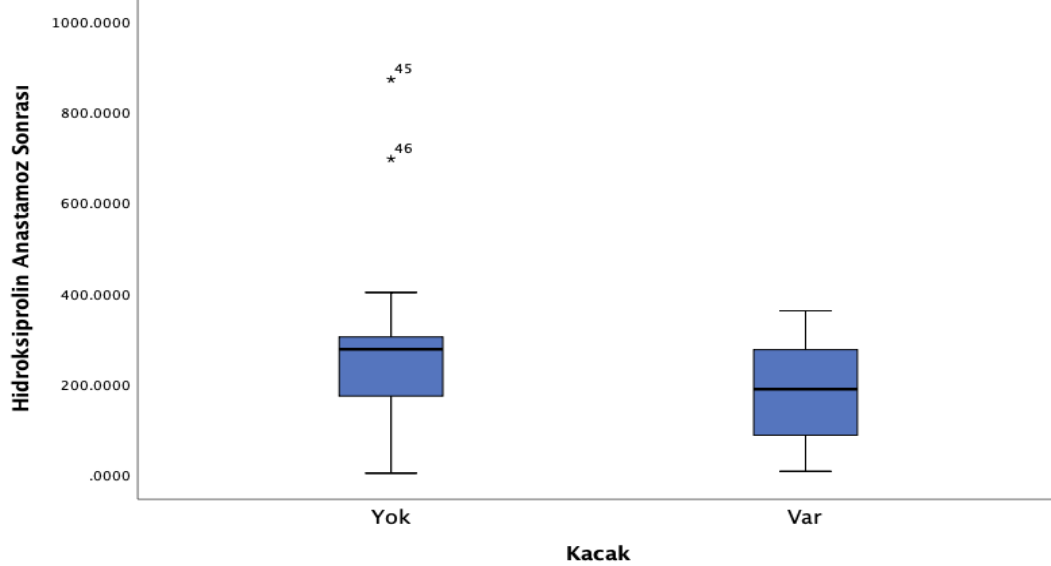


Grafik 4.8. Gruplar arasında anastomoz sonrası hidrokspirolin düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 4.6. Anastomoz sonrası kaçak olan ve olmayan gruplar arasındaki hidrokspirolin düzeyi

	Değişkenler	Kaçak (-)*(n=29)	Kaçak (+)*(n=7)	p
Anastomoz Sonrası Hidrokspirolin Düzeyi	Ortalama	262.80	182.55	0.436
	Standart Sapma	184.58	139.34	
	Standart Hata	34.27	52.66	
	Ortanca	276.34	188	
	Minimum	1.94	6.24	
	25 Çeyreklik	172.83	9.41	
	75 Çeyreklik	303.61	330.02	
	Maksimum	873.15	361.07	

*Kaçak (-): Kaçak yok, Kaçak (+): Kaçak var

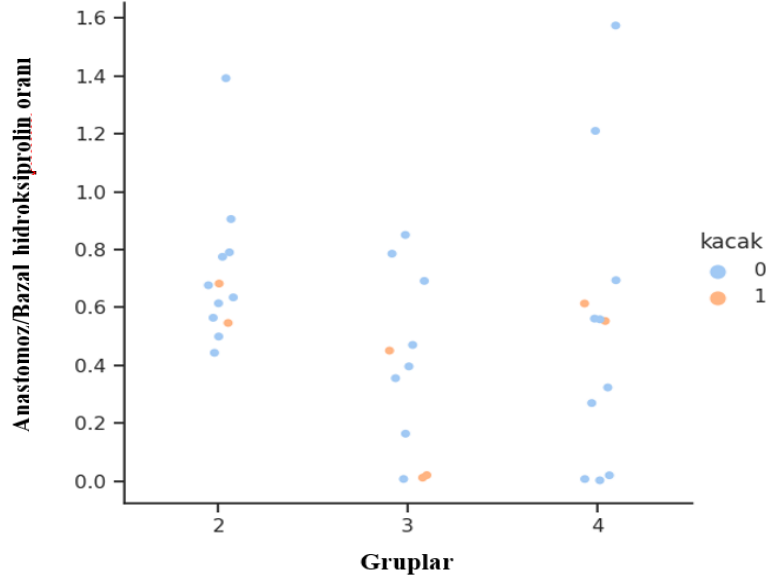


Grafik 4.9. Anastomoz kaçağı izlenen ve izlenmeyen ratlar arasındaki hidrokspirolin seviyesi

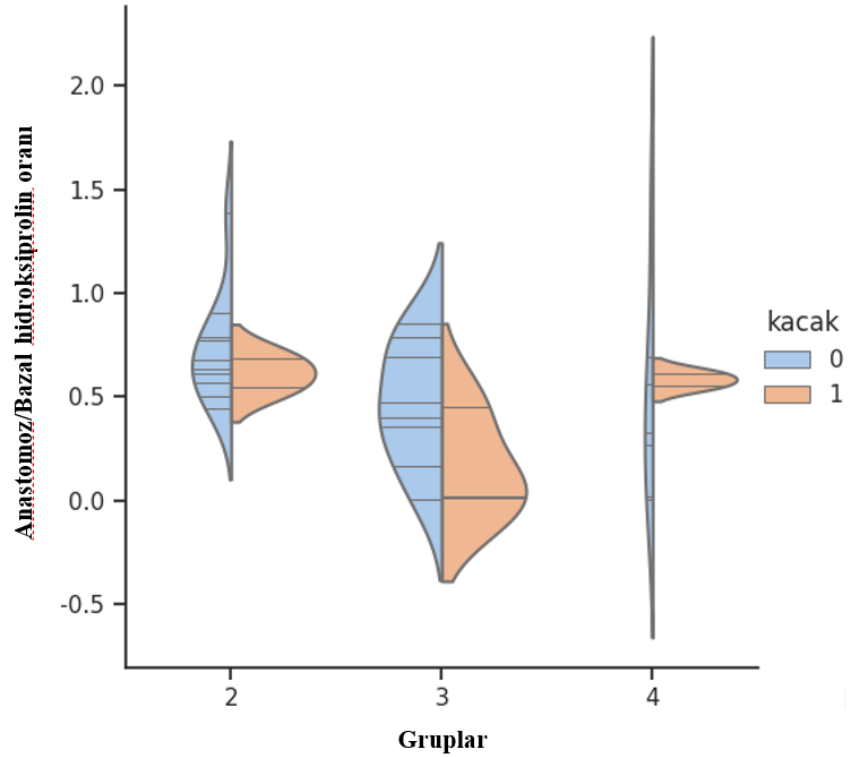
4.3.2. Anastomoz/bazal hidrokspirolin düzeyi

Kaçak gelişen ratlar haricindeki deneklerde, anastomozun 1. haftasında anastomoz öncesi gücün yüzde kaçına ulaştığı değerlendirilmiştir (Grafik 4.10-11)(Tablo 4.7). Anastomozdan sonraki 1. haftada bakılan hidrokspirolin değeri ile bazal değerin birbirine oranları karşılaştırıldığında median 0.55 (0.32-0.69) olarak izlenmiştir. Oranlar sadece zeytinyağı verilen grupta (n=10) 0.65 (0.55-0.78), düşük doz E vitamini verilen grupta (n=9) 0.39 (0.02-0.69), yüksek doz E vitamini verilen

grupta (n=10) 0.55 (0.14-0.65) olarak hesaplanmıştır ve gruplar arasında anlamlı fark mevcut değildir ($p=0.068$)(Grafik 4.12).



Grafik 4.10. Anastomoz yapılan gruplardaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranlarının spot plot analizi

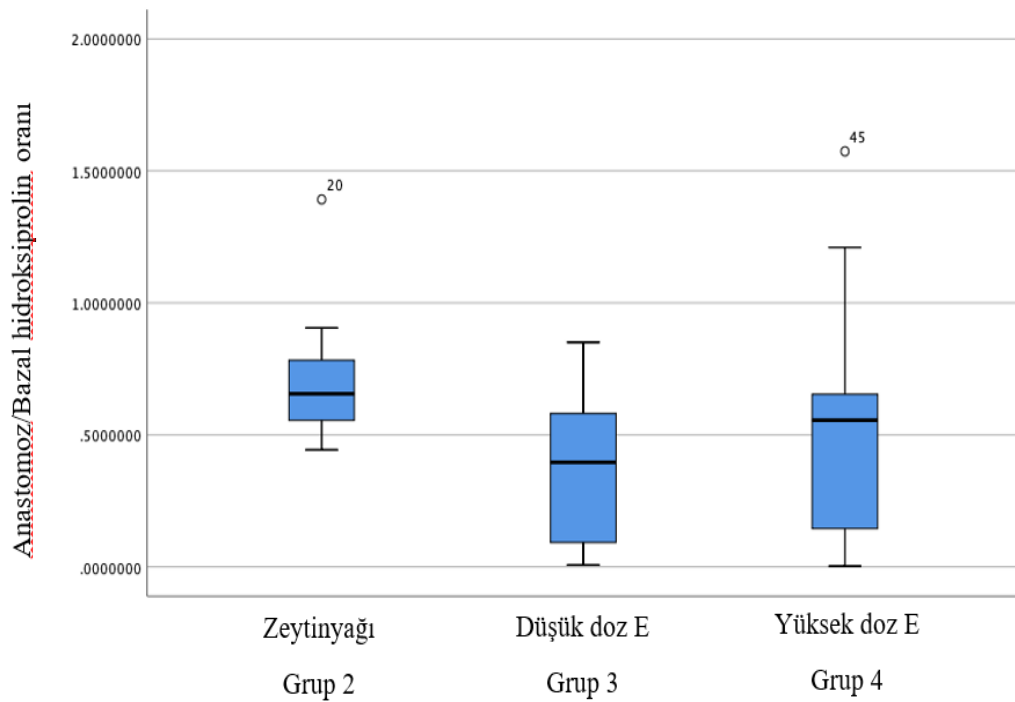


Grafik 4.11. Anastomoz yapılan gruplardaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranlarının violin plot analizi

Tablo 4.7. Anastomoz/Bazal hidroksiprolin oranlarının belirlenmesi

	Değişkenler*	Zeytinyağı grubu(Grup 2) (n=10)	Düşük doz E vitamini(Grup 3) (n=9)	Yüksek doz E vitamini(Grup 4) (n=10)	Total (n=29)	p
Anastomoz/Bazal Hidroksiprolin Oranı	Ortalama	0.7102	0.382	0.532	0.546	0.068
	Standart Sapma	0.251	0.307	0.477	0.374	
	Standart Hata	0.072	0.092	0.137	0.063	
	Ortanca	0.655	0.396	0.555	0.558	
	Minimum	0.443	0.007	0.002	0.002	
	25 Çeyreklik	0.555	0.02	0.144	0.323	
	75 Çeyreklik	0.782	0.691	0.653	0.693	
	Maksimum	1.391	0.85	1.57	1.57	

*Gruplar e vitamini verilme durumuna göre ayrılmıştır

**Grafik 4.12.** Anastomoz yapılan gruplardaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranlarının karşılaştırılması

Yine anastomoz kaçağı olanlar ile olmayanlar karşılaştırıldığında, iki grup arasında anastomoz/bazal hidroksiprolin oranları açısından fark izlenmemiştir ($p=0,322$)(Tablo 4.8).

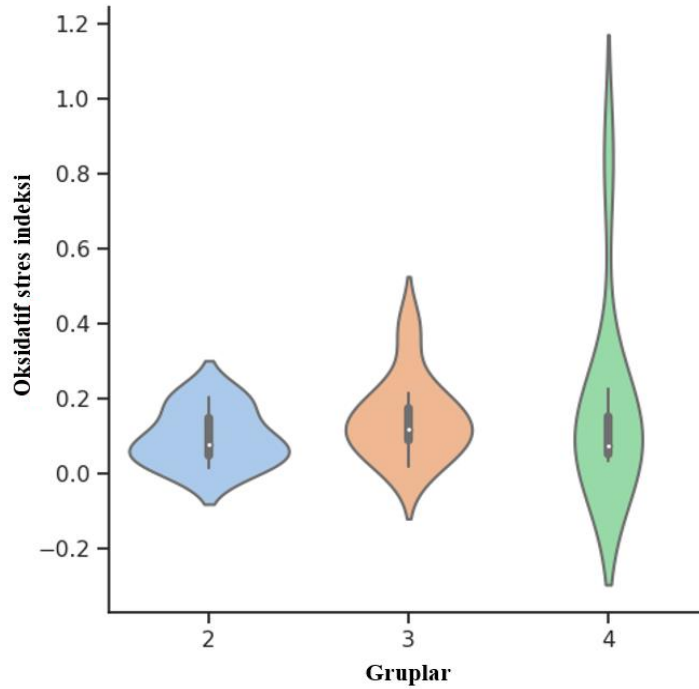
Tablo 4.8. Kaçak olan ve olmayan gruplar arasındaki anastomoz/bazal hidroksiprolin oranının belirlenmesi

	Değişkenler	Kaçak (-)* (n=29)	Kaçak (+)* (n=7)	p
Anastomoz/Bazal Hidroksiprolin Oranı	Ortalama	0.578	0.411	0.322
	Standart Sapma	0.391	0.278	
	Standart Hata	0.07	0.105	
	Ortanca	0.562	0.546	
	Minimum	0.002	0.011	
	25 Çeyreklik	0.339	0.02	
	75 Çeyreklik	0.78	0.61	
	Maksimum	1.57	0.68	

*Kaçak (-): Kaçak yok, Kaçak (+): Kaçak var

4.4. Oksidatif stres indeksi

Yedinci günde sakrifiye edilen ratlarda kanda toplam oksidan statüsü ve toplam antioksidan statüsü bakılarak, oksidatif stres indeksi hesaplandı (Grafik 4.13) (Tablo 4.9). Oksidatif stres indeksi median 0.10 (0.05-0.17) olarak hesaplandı ve tüm gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi ($p=0.706$)(Grafik 4.14).

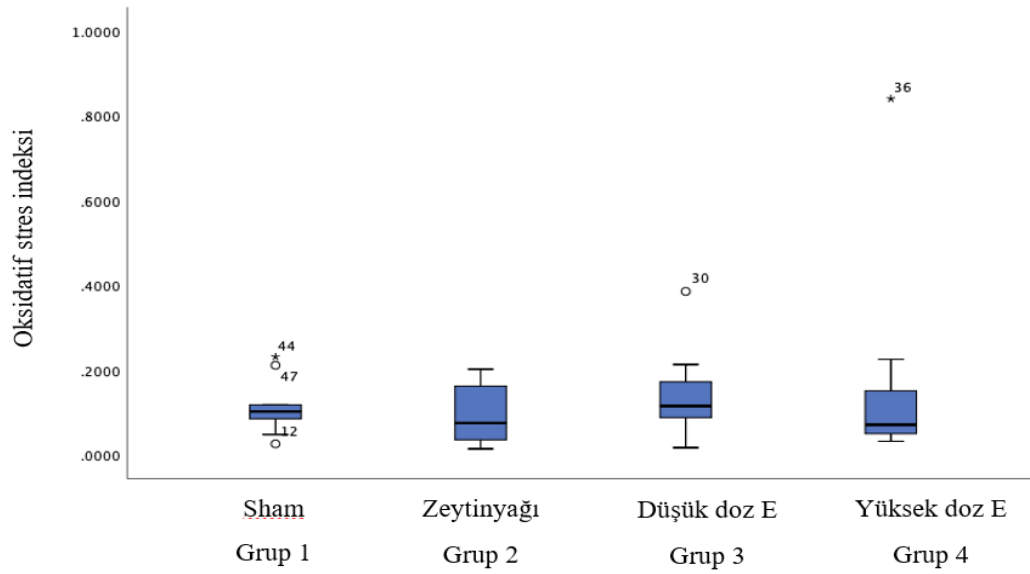


Grafik 4.13. Oksidatif stres indekslerinin violin plot analizi

Tablo 4.9. Gruplar arasında oksidatif stres indeksinin karşılaştırılması

	Değişkenler*	Sham grubu (Grup1) (n=12)	Zeytinyağı grubu(Grup2) (n=12)	Düşük doz E vitamini (Grup 3) (n=12)	Yüksek doz E vitamini (Grup 4) (n=12)	Total (n=48)	p
Oksidatif Stres İndeksi	Ortalama	0.11	0.96	0.14	0.17	0.13	0.706
	Standart Sapma	0.06	0.73	0.10	0.25	0.14	
	Standart Hata	0.22	0.260	0.35	0.85	0.02	
	Ortanca	0.10	0.76	0.11	0.72	0.102	
	Minimum	0.02	0.01	0.01	0.03	0.01	
	25 Çeyreklik	0.08	0.03	0.08	0.05	0.05	
	75 Çeyreklik	0.11	0.16	0.17	0.15	0.17	
	Maksimum	0.23	0.20	0.38	0.84	0.84	

*Gruplar e vitamini verilme durumuna göre ayrılmıştır

**Grafik 4.14.** Gruplar arasında oksidatif stres indekslerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Anastomoz kaçağı gastrointestinal cerrahiden sonra ortaya çıkan en ciddi komplikasyonlardan biridir[103]. Anastomoz kaçağı yaygın peritonit ve septik şoka kadar uzanabilen bir klinik tabloya neden olur[104]. Bu durum hastanın resüsitasyonu ve gelişen organ yetmezliklerinin tedavisinde yoğun bakım desteği gerektirebileceği gibi, tekrarlayan ameliyatlara, uzamış hastanede kalış süresi ve artmış tedavi maliyetine neden olabilir. Anastomoz kaçağı ve tekrar ameliyat gerekliliği kolorektal cerrahide bir kalite göstergesi olarak kabul edilir[105]. Kolorektal malignite nedeniyle yapılan ameliyatlardan sonra anastomoz kaçağı gelişen hastaların uzun dönem fonksiyonel sonuçlarına bakıldığında lokal rekürens arttığı ve 5 yıllık sağkalımın düştüğü gösterilmiştir[106-108]. Genel anlamda bakıldığında gastrointestinal sistem cerrahisi sonrası anastomoz kaçağı geliştiğinde morbidite %28'den %98'e, hastanede kalış süresi ortalama 5 günden 13 güne, 30 günlük mortalite %2.5'tan %8.4'e ve uzun dönem mortalite %20'den %36.4'e çıkmaktadır. Ekonomik yönden incelendiğinde hasta başına düşen maliyet herhangi bir komplikasyonu olmayan hastalar için ortalama 16,085.39 \$ iken, anastomoz kaçağı dışında bir komplikasyonu olan hasta başına 30,409.21 \$, anastomoz kaçağı durumunda ortalama 56,349.12 \$ olarak bildirilmiştir[109]. Kolorektal cerrahi özelinde 30 gün içinde hastane başvuruları anastomoz kaçağı olanlarda 1.3 kat artmış olarak gösterilmiştir. İlk yatış içinde anastomoz kaçağı saptananların, hastanede ortalama 7.3 gün daha fazla kaldığı ve ek olarak 24,129 \$ maliyete sebep olduğu bildirilmiştir. Her 1000 hasta için kolorektal anastomoz kaçağının toplamda hastanede kalışı 9500 gün uzattığı ve 28.6 milyon \$ ek maliyete neden olduğu gösterilmiştir[103].

Gastrointestinal sistemde, yara iyileşmesini hızlandırmak ve güçlü bir anastomoz hattı elde etmek için çeşitli farmakolojik ajanlar lokal ya da sistemik olarak uygulanmış fakat bu ajanların rutin klinik uygulamaya eklenmesini önerecek bir sonuca ulaşamamıştır. Nursal ve arkadaşlarının çalışmasında deneysel kolon anastomozu modelinde eksojen yoldan uygulanan melatoninin etkileri araştırılmış ve melatoninin kolon anastomozu iyileşmesi üzerinde bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir[110]. Yine bölümümüzde yapılan başka bir çalışmada pinealektominin

kolon anastomozu modelinde etkisi incelenmiş olup, pinealektominin kolon anastomozu iyileşmesinde bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir[111].

Bark ve arkadaşları A vitamininin kolon patlama basıncı ve hidrosiprolin miktarını artırarak anastomoz iyileşmesini artırdığını göstermiştir[112]. Danielski ve arkadaşları ise C vitamini uygulamasının yetersiz beslenmiş ratlarda anastomoz iyileşmesini olumlu etkilediğini göstermişlerdir[113].

Bizim çalışmamızda ise E vitamini verilen gruplar ile verilmeyen gruplar arasında kaçak oranları, anastomoz patlama basınçları ve anastomoz yapılan kolon segmentlerindeki hidrosiprolin değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Düşük doz ve yüksek doz E vitamini verilen gruplardaki kaçak oranları kontrol grubuna göre daha fazla olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı izlenmemiştir. E vitamininin antioksidan mekanizmalarla yara iyileşmesini olumlu etkilemekle beraber, antiproliferatif, proapoptotik, antiinflamatuvar, antiangiyojenik özellikleri olması sebebiyle yara iyileşmesini kötü yönde etkileyebileceği de düşünülmüştür. Bundan sonraki çalışmalarda E vitaminin sadece antioksidan özelliğinden ziyade diğer özellikleri ile beraber bütüncül olarak ele alınmasını önermekteyiz. E vitamini verilen grupların hidrosiprolin ölçümlerinde standart sapmaların yüksek olmasını ve örneklerin normal dağılım göstermemesini bu dual etkiden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Anastomoz iyileşmesini birçok faktör etkilemektedir. Bunlardan biri özellikle iyileşmenin inflamatuvar fazında önem kazanan oksidatif streştir[2]. Anastomoz iyileşmesinde birçok madde antioksidan özellikleri nedeni ile çalışılmıştır. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada ozon tedavisinin oksidatif stresi azaltarak anastomoz iyileşmesini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir[114].

Çalışmamızda E vitamini için düşük ve yüksek doz düzeyleri daha önce farklı konularda yapılan deneysel çalışmalar temel alınarak belirlenmiştir. Bu çalışmalarda önerilen dozlar yeterli düzeyde biyoyararlanım sağlayacağı öngörülen dozlardır. Bununla birlikte çalışmamızda kanda antioksidan etki (oksidatif stres indeksi) açısından gruplar arasında fark saptanmamıştır. Bunun çalışmanın sonuçlarını etkileyen önemli bir neden olduğu ve ileride yapılacak çalışmalarda E vitamininin daha yüksek dozlarda ve replasman süresi daha uzun tutarak verilmesinin faydalı olacağı düşünülmüştür.

Anastomoz kaçağı gelişmesinin oksidatif stresi artırması beklenirken çalışmamızda anastomoz kaçağı olanlar ile olmayanlar arasında oksidatif stres indeksi açısından bir fark saptanamamıştır.

Rushfeldt yaptığı bir çalışmada patlama basıncının anastomoz kaçağı riski için uygun bir gösterge olmadığını ve bu yöntemin, hayvan sakrifiye edildiğinde zaten bir sızıntıya sahip olan anastomozlar için uygulanamayacağı bildirmiştir[115]. Bunun aksine bu alandaki araştırmacılar tarafından hala anastomoz gücünü göstermede patlama basıncının uygun bir test olduğu düşünülmektedir (Delphi konsensusu, Haziran 2015)[47].

Bizim çalışmamızda da anastomoz kaçağı olan örneklerin patlama basıncı istatistiksel anlamlı olarak düşük saptanmıştır ve deneyde kaçak oluşabilmesi için belli bir hava basıncına ihtiyaç vardır. Bu sonuçlar literatürü destekler şekilde patlama basıncının anastomoz iyileşmesinin iyi bir göstergesi olduğunu düşündürmüştür.

Yara iyileşmesinde fibroblastlar, inflamasyon sırasında oluşan geçici matriksi kollajenden zengin granülasyon dokusuyla değiştirerek kollajeni anastomoz iyileşmesi için ilginç bir belirleyici haline getirmiştir[9]. Bu nedenle, anastomoz iyileşmesini gösteren belirteçler arasında kollajen içeriğini, sentezini ve yıkımını gösteren analizler kullanılmaktadır[21]. Kollajen miktarının belirlenmesi, genellikle hidroksprolin içeriği ölçülerek gerçekleştirilir, çünkü bu amino asit kollajen dışında sadece birkaç proteinde bulunur[48]. Thompson ve arkadaşlarının yazdığı bir derlemede hidroksprolin içeriğinin gastrointestinal anastomozların gücünü ölçmek için kullanılan bir metot olduğu vurgulanmıştır[9]. Güncel birçok çalışmada anastomoz gücünü belirlemek için hidroksprolin içeriği kullanılmıştır. Raptis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada takrolimusun ratlarda kolonik anastomoz iyileşmesine olan etkileri incelenmiş ve iyileşme parametresi olarak hidroksprolin miktarı kullanılmıştır[116]. Marjanovic ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise farklı kristaloid sıvı tedavilerinin intestinal anastomoz stabilitesine olan etkileri değerlendirilmiş ve hidroksprolin içeriği kullanılmıştır[117]. Hidroksprolin içeriği, kollajen miktarı hakkında bilgilendirici kabul edilmekle beraber, kollajen alt tipleri, kollajenin olgunluğu ve dolayısıyla doku kuvveti hakkında bilgi sağlamaz. Çünkü doku kuvveti daha çok dokuda bulunan kollajen tipi ve kalitesi ile belirlenir[118-120].

Bizim çalışmamızda da gruplar arasında hidroksiprolin içerikleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Anastomoz kaçağı bulunan sıçanlar ile anastomoz kaçağı olmayan sıçanlar kıyaslandığında, hidroksiprolin içeriği bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular hidroksiprolin içeriğinin anastomoz kuvvetini göstermede yeterli olmadığı görüşünü desteklemektedir. Çalışmamızda literatürde önerildiği gibi anastomoz yapılan segment 5 milimetrelik genişlikte rezeke edilmiş ve hidroksiprolin içeriği bütün anastomozda çalışılmıştır. Anastomoz kaçağı olan deneklerde hidroksiprolin içeriğinin sadece kaçak olan bölge rezeke edilerek çalışıldığında daha düşük çıkabileceği kanısındayız.

Literatürde E vitamininin cerrahi sonrası insizyonlarda keloid oluşumunu azaltmasını ve kozmetik görünümü iyileştirmesini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır[121]. Alcantara ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada E vitamininin kemoterapi ve radyoterapiye bağlı mukoziti iyileştirdiği gösterilmiştir[122]. E vitamininin bu özellikleri ve antioksidan özelliği dikkate alındığında anastomoz ya da radyoterapi sonrası gelişen striktürleri azaltacağı düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda E vitamini uygulamasının anastomoz kaçaklarını arttırmadığı ve anastomoz gücünü azaltmadığı gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

Sıçanda kolon anastomozu modelinde E vitamininin yara iyileşmesi üzerine erken dönem etkilerini araştırmayı hedefleyen deneysel çalışmamızın sonuçları E vitamininin kolon anastomozu iyileşmesi üzerine olumlu ya da olumsuz yönde bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte dokuda antioksidan etkinliğin E vitamini grupları ile kontrol grubu arasında farklılık göstermemesi, literatürde önerilen dozlar uygulanmış olmakla birlikte, uygulanan E vitamini düzeylerinin yetersiz kaldığı olasılığını da akla getirmektedir. İlerde yapılacak çalışmalarda daha yüksek dozların da kullanılması gerekir.

Literatürde hep E vitamininin antioksidan özellikleri vurgulanmakla beraber, antiproliferatif, proapoptotik, antiinflamatuvar, antianjiyojenik etkileri de mevcuttur. Bunlara ek olarak E vitamini farklı enzimatik yollarda ve gen ekspresyonunda görev alır. Çalışmada elde edilen sonuçlar E vitamininin gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi üzerine antioksidan etkileri dışında bu mekanizmalarla da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle bu yolların yara iyileşmesi üzerine etkilerinin de araştırılması gerekir.

Bulgularımız anastomoz kuvvetini göstermede patlama basıncının faydalı olduğu, hidroksiprolin düzeylerinin ise yetersiz kaldığı yönündeki görüşü desteklemektedir. Çalışmamızda E vitamininin anastomoz kaçaklarını arttırmadığı ve anastomoz kuvvetini azaltmadığı gösterilmiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Brunicaardi, F.C., D.K. Andersen, T.R. Billiar ve arkadaşları Editors, in Schwartz's Principles of Surgery, 11e. 2019, McGraw-Hill Education: New York, NY.
2. Poyrazoglu, Y., T. Yigit, A. Harlak ve arkadaşları, Effects of Prevention of Oxidative and Nitro-Oxidative Stress on Experimental Rat Colon Anastomosis using Acetylcysteine, Ebselen and 1400w. *Acta Chirurgica Belgica*, 2011. **111**(1): p. 26-31.
3. Stocker, A., Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Ann N Y Acad Sci*, 2004. **1031**: p. 44-59.
4. Jervis, K. ve B. Robaire, The Effects of Long-Term Vitamin E Treatment on Gene Expression and Oxidative Stress Damage in the Aging Brown Norway Rat Epididymis. *Biology of reproduction*, 2004. **71**: p. 1088-95.
5. Biesalski, H.K., Polyphenols and inflammation: basic interactions. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2007. **10**(6): p. 724-728.
6. Agarwal, A. ve S.A. Prabakaran, Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Indian J Exp Biol*, 2005. **43**(11): p. 963-74.
7. Hobson, R., Vitamin E and wound healing: an evidence-based review. *Int Wound J*, 2016. **13**(3): p. 331-5.
8. Jelodar, G., A. Akbari, P. Parvaei ve arkadaşları, Vitamin E protects rat testis, eye and erythrocyte from oxidative stress during exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model. *International Journal of Radiation Research*, 2018. **16**: p. 217-224.
9. Thompson, S.K., E.Y. Chang ve B.A. Jobe, Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. *Microsurgery*, 2006. **26**(3): p. 131-6.
10. Witte, M.B. ve A. Barbul, General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 1997. **77**(3): p. 509-528.
11. Feiken, E., J. Rømer, J. Eriksen ve arkadaşları, Neutrophils express tumor necrosis factor-alpha during mouse skin wound healing. *J Invest Dermatol*, 1995. **105**(1): p. 120-3.
12. Leibovich, S.J. ve R. Ross, The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am J Pathol*, 1975. **78**(1): p. 71-100.
13. DiPietro, L.A., Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. *Shock*, 1995. **4**(4): p. 233-40.
14. Zabel, D.D., J.J. Feng, H. Scheuenstuhl ve arkadaşları, Lactate stimulation of macrophage-derived angiogenic activity is associated with inhibition of Poly(ADP-ribose) synthesis. *Lab Invest*, 1996. **74**(3): p. 644-9.
15. Xiong, M., G. Elson, D. Legarda ve arkadaşları, Production of vascular endothelial growth factor by murine macrophages: regulation by hypoxia, lactate, and the inducible nitric oxide synthase pathway. *Am J Pathol*, 1998. **153**(2): p. 587-98.
16. Ferrara, N. ve T. Davis-Smyth, The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*, 1997. **18**(1): p. 4-25.

17. Levenson, S.M., E.F. Geever, L.V. Crowley ve arkadaşları, The healing of rat skin wounds. *Ann Surg*, 1965. **161**(2): p. 293-308.
18. Thornton, F.J. ve A. Barbul, Healing in the gastrointestinal tract. *Surgical Clinics of North America*, 1997. **77**(3): p. 549-573.
19. Mast, B.A., Healing in other tissues. *Surg Clin North Am*, 1997. **77**(3): p. 529-47.
20. Olivas, A.D., B.D. Shogan, V. Valuckaite ve arkadaşları, Intestinal tissues induce an SNP mutation in *Pseudomonas aeruginosa* that enhances its virulence: possible role in anastomotic leak. *PLoS One*, 2012. **7**(8): p. e44326.
21. Martens, M.F. ve T. Hendriks, Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut*, 1991. **32**(12): p. 1482-7.
22. Graham, M.F., D.E. Drucker, R.F. Diegelmann ve arkadaşları, Collagen synthesis by human intestinal smooth muscle cells in culture. *Gastroenterology*, 1987. **92**(2): p. 400-5.
23. Martens, M.F., C.M. Huyben ve T. Hendriks, Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts. *Gut*, 1992. **33**(12): p. 1664-1670.
24. Fielding, L.P., S. Stewart-Brown, L. Blesovsky ve arkadaşları, Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study. *Br Med J*, 1980. **281**(6237): p. 411-4.
25. Chung, R.S., Blood flow in colonic anastomoses. Effect of stapling and suturing. *Ann Surg*, 1987. **206**(3): p. 335-9.
26. Shikata, J. ve T. Shida, Effects of tension on local blood flow in experimental intestinal anastomoses. *J Surg Res*, 1986. **40**(2): p. 105-11.
27. Udenfriend, S., Formation of hydroxyproline in collagen. *Science*, 1966. **152**(3727): p. 1335-40.
28. Sheridan, W.G., R.H. Lowndes ve H.L. Young, Tissue oxygen tension as a predictor of colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum*, 1987. **30**(11): p. 867-71.
29. Hunt, T.K. ve M.P. Pai, The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. *Surg Gynecol Obstet*, 1972. **135**(4): p. 561-7.
30. Shikata, J., T. Shida, S. Satoh ve arkadaşları, The effect of local blood flow on the healing of experimental intestinal anastomoses. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 1982. **154**(5): p. 657-661.
31. Schrock, T.R., C.W. Deveney ve J.E. Dunphy, Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg*, 1973. **177**(5): p. 513-8.
32. Marjanovic, G., C. Villain, E. Juettner ve arkadaşları Impact of different crystalloid volume regimes on intestinal anastomotic stability. *Ann Surg*, 2009. **249**(2): p. 181-5.
33. Schnüriger, B., K. Inaba, T. Wu ve arkadaşları, Crystalloids after primary colon resection and anastomosis at initial trauma laparotomy: excessive volumes are associated with anastomotic leakage. *J Trauma*, 2011. **70**(3): p. 603-10.

34. Robson, M.C., D.L. Steed ve M.G. Franz, Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*, 2001. **38**(2): p. 72-140.
35. Dubay, D.A. ve M.G. Franz, Acute wound healing: the biology of acute wound failure. *Surg Clin North Am*, 2003. **83**(3): p. 463-81.
36. Kurz, A., D.I. Sessler ve R. Lenhardt, Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical-wound infection and shorten hospitalization. Study of Wound Infection and Temperature Group. *N Engl J Med*, 1996. **334**(19): p. 1209-15.
37. Tadros, T., T. Wobbes ve T. Hendriks, Blood transfusion impairs the healing of experimental intestinal anastomoses. *Annals of surgery*, 1992. **215**(3): p. 276-281.
38. Ahrendt, G.M., U.S. Tantry ve A. Barbul, Intra-abdominal sepsis impairs colonic reparative collagen synthesis. *Am J Surg*, 1996. **171**(1): p. 102-7; discussion 107-8.
39. Hawley, P.R., W.P. Faulk, T.K. Hunt ve arkadaşları, Collagenase activity in the gastro-intestinal tract. *Br J Surg*, 1970. **57**(12): p. 896-900.
40. Ehrlich, H.P. ve T.K. Hunt, Effects of cortisone and vitamin A on wound healing. *Ann Surg*, 1968. **167**(3): p. 324-8.
41. de Roy van Zuidewijn, D.B., T. Hendriks, T. Wobbes ve arkadaşları Healing of experimental colonic anastomoses: effect of antineoplastic agents. *Eur J Surg Oncol*, 1987. **13**(1): p. 27-33.
42. Koruda, M.J. ve R.H. Rolandelli, Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res*, 1990. **48**(5): p. 504-15.
43. de Roy van Zuidewijn, D.B., T. Hendriks, T. Wobbes ve arkadaşları Intraperitoneal cytostatics impair healing of experimental intestinal anastomoses. *British journal of cancer*, 1991. **63**(6): p. 937-941.
44. Verhofstad, M.H. ve T. Hendriks, Diabetes impairs the development of early strength, but not the accumulation of collagen, during intestinal anastomotic healing in the rat. *Br J Surg*, 1994. **81**(7): p. 1040-5.
45. Shandall, A.A., G.T. Williams, M.B. Hallett ve arkadaşları, Colonic healing: a role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production. *Br J Surg*, 1986. **73**(3): p. 225-8.
46. Witte, M.B. ve A. Barbul, Repair of full-thickness bowel injury. *Crit Care Med*, 2003. **31**(8 Suppl): p. S538-46.
47. Bosmans, J.W.A.M., A.C.H.M. Jongen, N.D. Bouvy ve arkadaşları Colorectal anastomotic healing: why the biological processes that lead to anastomotic leakage should be revealed prior to conducting intervention studies. *BMC gastroenterology*, 2015. **15**: p. 180-180.
48. Hendriks, T. ve W.J. Mastboom, Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum*, 1990. **33**(10): p. 891-901.
49. Månsson, P., X.W. Zhang, B. Jeppsson ve arkadaşları, Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *Int J Colorectal Dis*, 2002. **17**(6): p. 420-5.
50. Jiborn, H., J. Ahonen ve B. Zederfeldt, Healing of experimental colonic anastomoses: I. Bursting strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *The American Journal of Surgery*, 1978. **136**(5): p. 587-594.

51. Jiborn, H., J. Ahonen ve B. Zederfeldt, Healing of experimental colonic anastomoses: II. Breaking strength of the colon after left colon resection and anastomosis. *The American Journal of Surgery*, 1978. **136**(5): p. 595-599.
52. Christensen, H. ve H. Oxlund, Growth hormone increases the collagen deposition rate and breaking strength of left colonic anastomoses in rats. *Surgery*, 1994. **116**(3): p. 550-6.
53. Hoepfner, J., B. Wassmuth, G. Marjanovic ve arkadaşları, Anastomotic Sealing by Extracellular Matrices (ECM) Improves Healing of Colonic Anastomoses in the Critical Early Phase. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2010. **14**(6): p. 977-986.
54. Hiradfar, M., R. Shojaeian, N. Zabolinejad ve arkadaşları, "Tie over ring" sutureless compression based gastrointestinal anastomotic method: experimental rat model. *J Pediatr Surg*, 2014. **49**(3): p. 405-9.
55. Hirai, K., Y. Tabata, S. Hasegawa ve arkadaşları, Enhanced intestinal anastomotic healing with gelatin hydrogel incorporating basic fibroblast growth factor. *J Tissue Eng Regen Med*, 2016. **10**(10): p. E433-e442.
56. Fresno, L., D. Fondevila, O. Bambo ve arkadaşları, Effects of platelet-rich plasma on intestinal wound healing in pigs. *Vet J*, 2010. **185**(3): p. 322-7.
57. Potenza, L., C. Calcabrini, R. De Bellis ve arkadaşları, Effects of Reactive Oxygen Species on Mitochondrial Content and Integrity of Human Anastomotic Colorectal Dehiscence: A Preliminary DNA Study. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie*, 2011. **25**: p. 433-9.
58. Anup, R., V. Aparna, A. Pulimood ve arkadaşları, Surgical stress and the small intestine: role of oxygen free radicals. *Surgery*, 1999. **125**(5): p. 560-9.
59. Thomas, S., A. Pulimood ve K.A. Balasubramanian, Heat preconditioning prevents oxidative stress-induced damage in the intestine and lung following surgical manipulation. *Br J Surg*, 2003. **90**(4): p. 473-81.
60. Ramachandran, A., P. Susama ve K. Balasubramanian, Intestinal Mitochondrial Dysfunction in Surgical Stress. *The Journal of surgical research*, 2001. **99**: p. 120-8.
61. Ramachandran, A. ve K.A. Balasubramanian, Protease activation during surgical stress in the rat small intestine. *J Surg Res*, 2000. **92**(2): p. 283-90.
62. Dunnill, C., T. Patton, J. Brennan ve arkadaşları, Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: The functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. *International wound journal*, 2015. **14**.
63. Trachootham, D., W. Lu, M.A. Ogasawara ve arkadaşları, Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*, 2008. **10**(8): p. 1343-74.
64. Shen, H.-M. ve S. Pervaiz, Reactive Oxygen Species in Cell Fate Decisions, in *Essentials of Apoptosis: A Guide for Basic and Clinical Research*, Z. Dong ve X.-M. Yin, Editors. 2009, Humana Press: Totowa, NJ. p. 199-221.
65. Bedard, K. ve K.H. Krause, The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, 2007. **87**(1): p. 245-313.
66. Darr, D. ve I. Fridovich, Free Radicals in Cutaneous Biology. *Journal of Investigative Dermatology*, 1994. **102**(5): p. 671-675.

67. Kurahashi T, F.J., Roles of Antioxidative Enzymes in Wound Healing. *Journal of Developmental Biology*, 2015. **3**(): p. 57-70.
68. Bryan, N., H. Ahswin, N. Smart ve arkadaşları, Reactive oxygen species (ROS)--a family of fate deciding molecules pivotal in constructive inflammation and wound healing. *Eur Cell Mater*, 2012. **24**: p. 249-65.
69. Sies, H., Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*, 1991. **91**(3c): p. 31s-38s.
70. Cerutti, P.A. ve B.F. Trump, Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells*, 1991. **3**(1): p. 1-7.
71. Jervis, K.M. ve B. Robaire, The effects of long-term vitamin E treatment on gene expression and oxidative stress damage in the aging Brown Norway rat epididymis. *Biol Reprod*, 2004. **71**(4): p. 1088-95.
72. Biesalski, H.K., Polyphenols and inflammation: basic interactions. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2007. **10**(6): p. 724-8.
73. Rasool, A.H., K.H. Yuen, K. Yusoff ve arkadaşları, Dose dependent elevation of plasma tocotrienol levels and its effect on arterial compliance, plasma total antioxidant status, and lipid profile in healthy humans supplemented with tocotrienol rich vitamin E. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 2006. **52**(6): p. 473-8.
74. Akbari, A., G. Jelodar, S. Nazifi ve arkadaşları, An Overview of the Characteristics and Function of Vitamin C in Various Tissues: Relying on its Antioxidant Function. *Zahedan J Res Med Sci*, 2016. **18**(11): p. e4037.
75. van Dam, B., V.W.M. van Hinsbergh, C.D.A. Stehouwer ve arkadaşları, Vitamin E inhibits lipid peroxidation-induced adhesion molecule expression in endothelial cells and decreases soluble cell adhesion molecules in healthy subjects. *Cardiovascular Research*, 2003. **57**(2): p. 563-571.
76. Suleiman, S.A., M.E. Ali, Z.M. Zaki ve arkadaşları Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl*, 1996. **17**(5): p. 530-7.
77. Devaraj, S., R. Tang, B. Adams-Huet ve arkadaşları, Effect of high-dose alpha-tocopherol supplementation on biomarkers of oxidative stress and inflammation and carotid atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *The American journal of clinical nutrition*, 2007. **86**(5): p. 1392-1398.
78. Constantinescu, A., D. Han ve L. Packer, Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *J Biol Chem*, 1993. **268**(15): p. 10906-13.
79. Simon, E., J.L. Paul, T. Soni ve arkadaşları Plasma and erythrocyte vitamin E content in asymptomatic hypercholesterolemic subjects. *Clin Chem*, 1997. **43**(2): p. 285-9.
80. Kuypers, F.A., J.J. van den Berg, C. Schalkwijk ve arkadaşları, Parinaric acid as a sensitive fluorescent probe for the determination of lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta*, 1987. **921**(2): p. 266-74.
81. Shukla, A., A.M. Rasik ve G.K. Patnaik, Depletion of reduced glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant defence enzymes in a healing cutaneous wound. *Free Radic Res*, 1997. **26**(2): p. 93-101.
82. Rasik, A.M. ve A. Shukla, Antioxidant status in delayed healing type of wounds. *Int J Exp Pathol*, 2000. **81**(4): p. 257-63.

83. Galeano, M., V. Torre, B. Deodato ve arkadaşları, Raxofelast, a hydrophilic vitamin E-like antioxidant, stimulates wound healing in genetically diabetic mice. *Surgery*, 2001. **129**(4): p. 467-77.
84. Ehrlich, H.P., H. Tarver ve T.K. Hunt, Inhibitory effects of vitamin E on collagen synthesis and wound repair. *Ann Surg*, 1972. **175**(2): p. 235-40.
85. Jenkins, M., J.W. Alexander, B.G. MacMillan ve arkadaşları, Failure of topical steroids and vitamin E to reduce postoperative scar formation following reconstructive surgery. *J Burn Care Rehabil*, 1986. **7**(4): p. 309-12.
86. Appendix E - Vitamin Contents of Feedstuffs (units per kg), in *The Vitamins (Fifth Edition)*, G.F. Combs ve J.P. McClung, Editors. 2017, Academic Press. p. 589-592.
87. Council, N.R., *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*,: Fourth Revised Edition, 1995. 1995, Washington, DC: The National Academies Press. 192.
88. Hakkarainen, J., J. Työppönen ve L. Jönsson, Vitamin E requirement of the growing rat during selenium deficiency with special reference to selenium dependent--and selenium independent glutathione peroxidase. *Zentralbl Veterinarmed A*, 1986. **33**(4): p. 247-58.
89. Jager, F.C. ve U.M. Houtsmuller, Effect of dietary linoleic acid on vitamin E requirement and fatty acid composition of erythrocyte lipids in rats. *Nutr Metab*, 1970. **12**(1): p. 3-12.
90. Bendich, A., E. Gabriel ve L.J. Machlin, Dietary vitamin E requirement for optimum immune responses in the rat. *J Nutr*, 1986. **116**(4): p. 675-81.
91. Ayyildiz, M., M. Yildirim ve E. Agar, The effects of vitamin E on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Exp Brain Res*, 2006. **174**(1): p. 109-13.
92. Hidiroglou, N., G. Butler ve L.R. McDowell, Plasma and tissue vitamin E concentrations in sheep after administration of a single intraperitoneal dose of dl- α -tocopherol₃. *Journal of Animal Science*, 1990. **68**(3): p. 782-787.
93. Martin, M.M. ve L.S. Hurley, Effect of large amounts of vitamin E during pregnancy and lactation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1977. **30**(10): p. 1629-1637.
94. Abdo, K.M., G. Rao, C.A. Montgomery ve arkadaşları, Thirteen-week toxicity study of d-alpha-tocopheryl acetate (vitamin E) in Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol*, 1986. **24**(10-11): p. 1043-50.
95. Harma, M., M. Harma ve O. Erel, Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2005. **192**(2): p. 656-7; author reply 657.
96. Yeni, E., M. Gulum, S. Selek ve arkadaşları, Comparison of oxidative/antioxidative status of penile corpus cavernosum blood and peripheral venous blood. *International Journal of Impotence Research*, 2005. **17**(1): p. 19-22.
97. Yanik, M., O. Erel ve M. Kati, The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr*, 2004. **16**(4): p. 200-3.
98. Erel, O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 2005. **38**(12): p. 1103-1111.
99. Erel, O., A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 2004. **37**(4): p. 277-285.

100. Yumru, M., H.A. Savas, A. Kalenderoglu ve arkadaşları, Oxidative imbalance in bipolar disorder subtypes: a comparative study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009. **33**(6): p. 1070-4.
101. Kosecik, M., O. Erel, E. Sevinc ve arkadaşları, Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol*, 2005. **100**(1): p. 61-4.
102. Harma, M., M. Harma ve O. Erel, Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly*, 2003. **133**(41-42): p. 563-6.
103. Hammond, J., S. Lim, Y. Wan ve arkadaşları, The burden of gastrointestinal anastomotic leaks: an evaluation of clinical and economic outcomes. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*, 2014. **18**(6): p. 1176-1185.
104. Mirnezami, A., R. Mirnezami, K. Chandrakumaran ve arkadaşları, Increased local recurrence and reduced survival from colorectal cancer following anastomotic leak: systematic review and meta-analysis. *Ann Surg*, 2011. **253**(5): p. 890-9.
105. Morris, A.M., L.-M. Baldwin, B. Matthews ve arkadaşları, Reoperation as a quality indicator in colorectal surgery: a population-based analysis. *Annals of surgery*, 2007. **245**(1): p. 73-79.
106. Nesbakken, A., K. Nygaard ve O.C. Lunde, Outcome and late functional results after anastomotic leakage following mesorectal excision for rectal cancer. *Br J Surg*, 2001. **88**(3): p. 400-4.
107. Branagan, G. ve D. Finnis, Prognosis after anastomotic leakage in colorectal surgery. *Dis Colon Rectum*, 2005. **48**(5): p. 1021-6.
108. McArdle, C.S., D.C. McMillan ve D.J. Hole, Impact of anastomotic leakage on long-term survival of patients undergoing curative resection for colorectal cancer. *Br J Surg*, 2005. **92**(9): p. 1150-4.
109. Turrentine, F.E., C.E. Denlinger, V.B. Simpson ve arkadaşları, Morbidity, mortality, cost, and survival estimates of gastrointestinal anastomotic leaks. *J Am Coll Surg*, 2015. **220**(2): p. 195-206.
110. Nursal, T.Z., H. Yakupoglu, N. Renda ve arkadaşları, Pinealectomy does not affect the healing of experimental colonic anastomoses. *J Invest Surg*, 2002. **15**(2): p. 61-8.
111. Ozdogan, M., I. Oruk, N. Renda ve arkadaşları, The Effect of Exogenous Melatonin on Experimental Colonic Anastomosis. *Acta Chirurgica Belgica*, 2005. **105**(3): p. 302-305.
112. Bark, S., G. Rettura, D. Goldman ve arkadaşları, Effect of supplemental vitamin A on the healing of colon anastomosis. *J Surg Res*, 1984. **36**(5): p. 470-4.
113. Danielski, L.G., E. Walczewski, C.R. de Jesus ve arkadaşları, Preoperative vitamin C supplementation improves colorectal anastomotic healing and biochemical parameters in malnourished rats. *Int J Colorectal Dis*, 2016. **31**(11): p. 1759-1766.
114. Ersoz, N., M. Ozler, T. Topal ve arkadaşları, The effect of ozone treatment on experimental colon anastomosis in rats. *European Surgery*, 2016. **48**(2): p. 122-128.
115. Rushfeldt, C.F., B. Sveinbjörnsson, K. Søreide ve arkadaşları, Risk of anastomotic leakage with use of NSAIDs after gastrointestinal surgery. *International Journal of Colorectal Disease*, 2011. **26**(12): p. 1501-1509.

116. Raptis, D., I. Mantzoros, M.G. Pramateftakis ve arkadaşları, The effects of tacrolimus on colonic anastomotic healing in rats. *Int J Colorectal Dis*, 2012. **27**(3): p. 299-308.
117. Marjanovic, G., C. Villain, E. Juetner ve arkadaşları, Impact of Different Crystalloid Volume Regimes on Intestinal Anastomotic Stability. *Annals of Surgery*, 2009. **249**(2).
118. Klein, M., Postoperative non-steroidal anti-inflammatory drugs and colorectal anastomotic leakage. NSAIDs and anastomotic leakage. *Dan Med J*, 2012. **59**(3): p. B4420.
119. de Hingh, I.H., H. van Goor, B.M. de Man ve arkadaşları, Selective cyclooxygenase 2 inhibition affects ileal but not colonic anastomotic healing in the early postoperative period. *Br J Surg*, 2006. **93**(4): p. 489-97.
120. da Costa, M.A., A.C. Campos, J.C. Coelho ve arkadaşları, Oral glutamine and the healing of colonic anastomoses in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2003. **27**(3): p. 182-5; discussion 185-6.
121. Zampieri, N., V. Zuin, R. Burro ve arkadaşları, A prospective study in children: Pre- and post-surgery use of vitamin E in surgical incisions. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2010. **63**(9): p. 1474-8.
122. Alcantara, M.J.E., J.G.P. Pandey ve M.R.C. Sebastian, 338P Vitamin E in the treatment of chemotherapy and radiation-induced mucositis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Annals of Oncology*, 2020. **31**: p. S1372-S1373.