

T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

STEROİD VERİLEREK

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ BOZULAN RATLARDA

KEFİRİN KOLON ANASTOMOZU İYİLEŞMESİNE ETKİSİ

DR. ABDULLAH ÇİME

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. ÇAĞATAY E. DAPHAN

KIRIKKALE

2008

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kütüphanesi
Demirbaş/Kayıt no: T82
Tasnif no: T47/3/6E4/482

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi eğitim sürem boyunca üstün bilgi ve deneyimlerini bizlere aktararak cerrahi nosyon edinmemde büyük pay sahibi olan Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. H. Fatih Ağalar' a şükranlarımı sunarım.

Asistanlık eğitimim boyunca yetişmemde büyük katkıları olan, tezimin belirlenmesinden sonuçlanana kadar katkı ve yardımlarını esirgemeyen, Sayın Doç. Dr. Çağatay E. Daphan' a teşekkür ederim.

Cerrah olarak yetişmemde büyük emekleri olan Sayın Doç. Dr. Oral Saygun' a minnetlerimi sunarım.

Bilgi ve deneyimlerini aktararak eğitimime büyük katkı sağlayan Sayın Yrd. Doç. Dr. Kuzey Aydınuraz'a teşekkür ederim.

Enfeksiyonla ilgili çalışmalarında bana da yer vererek eğitimime katkı sağlayan Enfeksiyon Hastalıkları A.D.' dan Sayın Prof. Dr. Canan Ağalar' a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimime katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. C. Gökhan Osmanoğlu'na teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasında büyük katkı ve yardımları olan Biyokimya A.D.' dan Sayın Prof. Dr. Osman Çağlayan'a, Fizyoloji A.D.' dan Sayın Doç. Dr. Mustafa Edremitlioğlu' na ve Sayın Dr. M. Fatih Andıç'a, Halk Sağlığı A.D.'dan Sayın Yrd. Doç. Dr. Meral Saygun' a teşekkürlerimi sunarım.

Destegini hiçbir zaman esirgemeyen Tülay Akdeniz'e teşekkürlerimi sunarım. Desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Uyumlu bir çalışma içerisinde bulunduğum Genel Cerrahi araştırma görevlilerine, servis ve ameliyathane hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Dr. Abdullah Çime

ÖZET

Çime A., Steroid verilerek bağışıklık sistemi bozulan ratlarda, kefirin kolon anastomozu iyileşmesine etkisi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2008

Kolon anastomoz kaçağı kolorektal cerrahinin yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreden major bir komplikasyonudur. Bağışıklık sistemi bozuklukları risk faktörlerinden biridir. Bir probiotik olan kefirin konak bağışıklık sistemini artırıcı etkisi vardır. Bu çalışmada steroid kullanımı ile bozulan yara iyileşmesini kefir ile düzeltmeyi amaçladık.

Çalışmada 30 adet Wistar ratı sham, metilprednizolon ve metilprednizolon+kefir grubu olarak üçe ayrıldı. Metilprednizolon ve metilprednizolon+kefir grubundaki ratlara preoperatif yedi gün boyunca günlük 8 mg/kg intramüsküler metilprednizolon verildi. İntraperitoneal ketamin+ksilazin anestezisi altında orta hat insizyonla karına girildi. Pelvik refleksiyonun 2-4 cm proksimalinde sol kolon transekte edildi ve uç uca tek tabaka anastomoz yapıldı. Metilprednizolon ve metilprednizolon+kefir grubundaki ratlara 6 gün 8 mg/kg metilprednizolon verilmeye devam edildi. Metilprednizolon+kefir grubundaki ratlara ek olarak postoperatif 2. günden itibaren günde iki kez oral yoldan 3 ml kefir verildi. Postoperatif 7. günde tüm ratlar sakrifiye edilerek abdominal duvarları açıldı, anastomoz yapılan bölge çıkartıldı. Anastomoz ayrılma basıncı ve hidroksiprolin seviyeleri ölçüldü.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede anastomoz patlama basıncı, kuru ağırlık, yaş ağırlık değerleri arasında anlamlı fark bulundu. Sham grubu değerlerinin diğer iki gruba göre daha yüksek, metilprednizolon+kefir grubundaki değerlerin de metilprednizolon grubuna göre yüksek olduğu saptandı ($p<0.05$). Hidroksiprolin değerleri arasında önemli istatistiksel fark saptanmadı ($p>0.05$). Su yüzdesi değerleri arasında sham ve diğer gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.05$).

Metilprednizolon ve metilprednizolon+kefir grupları arasında önemli istatistiksel fark saptanmadı ($p>0.05$).

Bu çalışmada kefirin steroid verilerek bağışıklık sistemi bozulan ratlarda kolon anastomoz iyileşmesine etkisi incelenmiş ve kefirin metilprednizolon etkisi altındaki anastomozda hidroksiprolin düzeylerini değiştirmeden anastomoz patlama basıncı değerlerini arttırdığı görülmüştür. Anastomoz iyileşmesinin bozulan inflamatuvar fazının ve dolayısıyla bozulan granülasyon dokusu oluşumunun kefir verilmesi ile düzeldiği ve devamlılığının sağlandığı, bunun da makrofaj aktivasyonu ile olduğu düşünülmektedir. Bu çıkarımın başka çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Anastomoz iyileşmesi, kefir, steroid, rat

ABSTRACT

Çime A., The effects of kefir on colonic anastomotic healing in immunosuppressed rats, Department of General Surgery, Kirikkale University Medical School, Specialization Thesis, Kirikkale, 2008

Anastomotic leakage is a major complication of colorectal surgery, and causes high morbidity and mortality. Immunosuppression is a risk factor for anastomotic leakage. Kefir is a probiotic which improves immune system. In this study by using kefir we aimed to improve wound healing that was previously impaired by steroids.

30 wistar rats are divided into three groups, as sham, methylprednisolone and methylprednisolone+kefir. Eight mg/kg methylprednisolone was given to methylprednisolone and methylprednisolone+kefir group intramuscularly for 7 days preoperatively. Under general anesthesia induced by intraperitoneal ketamine+xylazine, abdomen was opened with a midline incision. Left colon was transected at a level of 2-4 cm proximal to pelvic reflection and then one layer end-to-end anastomosis was performed. Eighth mg/kg methylpredisalone was given to methylprednisolone and methylprednisolone+kefir groups for additional 6 days. 3 ml of kefir was given by oral route to the methylprednisolone +kefir group twice a day beginning on the second postoperative day. Whole subjects were sacrificed at postoperative 7th day. Abdominal wall was opened, anastomotic region was resected and anastomotic bursting pressure and hydroxyproline levels were measured.

There were statistically significant differences between the groups in anastomotic bursting pressure, mean weight and wet weight values. Anastomotic bursting pressure, mean weight and wet weight values in the sham group were higher than the other groups, and methylprednisolone+kefir group values were higher than methylprednisolone group ($p < 0.05$). There was no statistically significant differences

in hydroxyproline levels ($p>0.05$). Water percentage levels in sham group were significantly higher than the other groups ($p<0.05$).

We studied the effects of kefir on colonic anastomotic healing in immunosuppressed rats and found that, kefir has increased anastomotic bursting pressure values without causing any change in hydroxyproline levels in the anastomoses which were under methylprednisolone effect. It was thought that kefir caused improvement in inflammatory stage of anastomotic healing that was impaired by steroids and caused to a good granulomatous tissue formation by activation of macrophages. These findings should be supported by other studies.

Keywords: Anastomotic healing, kefir, steroid, rat

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar ve GRAFİKLER	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kolon Cerrahisinin Tarihçesi	3
2.2. Kolon Anatomisi	4
2.3. Yara İyileşmesi	5
2.3.1. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi	8
2.4. Gastrointestinal Sistem Anastomoz Kaçağı Risk Faktörleri	10
2.5. Kefir	14
2.6. Steroid tedavisi	17
3. YÖNTEM ve GEREÇLER	19
4. BULGULAR	22
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	34
7. REFERANSLAR	35

SİMGELER ve KISALTMALAR

PDGF: Platelet derived growth factor
TGF- β : Transforming growth factor beta
VEGF: Vascular endothelial growth factor
FGF: Fibroblast growth factor
FU: Fluorouracil
BT: Bilgisayarlı Tomografi
USG: Ultrasonografi
NSAİ: Nonsteroid antiinflatuar
ICAM: İnterselüler adezyon molekülü
IL: İnterlökin
CO₂ : Karbondioksit
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
WHO: World Health Organization
FDA: Food and Drug Administration
kcal: kilokalori
gr: gram
mg: miligram
Ig: İmmünglobulin
TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa
IFN- γ : İnterferon gama
H. pylori: Helicobacter pylori
HIV: Human immunodeficiency virus
ELAM: Endotelyal adezyon molekülü
GM-CSF: Granulocyte macrophage colony stimulating factor
S: Sham
MP: Metilprednizolon
MP+K: Metilprednizolon+kefir
kg: kilogram
ml: mililitre
cm: santimetre

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Anastomoz kaçağı hemoraji ve obstrüksiyonla birlikte kolon cerrahisinin major komplikasyonlarından birisidir. Yüksek morbidite ve mortaliteyle seyretmekte, reoperasyon ve stoma ihtiyacı doğurabilmektedir (1,2). Ayrıca hastanede kalış süresini uzatmakta ve tedavi masrafını önemli derecede artırmaktadır (3).

Anastomoz kaçakları klasifikasyonu şu şekilde yapılabilir:

Klinik grade 1: Acil reoperasyon gereksinimi (peritonit)

Klinik grade 2: Acil operasyon gerektirmeyen (fistül, abse, ateş)

Subklinik grade 3: Klinik etkisi olmayan. Genellikle kontrast madde ile gösterilen (4).

Yapılan çalışmalarda kolorektal cerrahide anastomoz kaçağı oranı farklılık göstermekle birlikte total olarak %0.5 ile %30 arasında değişmektedir (5). Stapler ile yapılan anastomozlarda oran %4 ile %20 arasındadır (6). Klinik olarak %1.8 ile %5 arasında olup aşağı rektal anastomozlarda %15'e kadar yükselmektedir (3). Sağ hemikolektomi sonrası %0.5 ile %7 arasındadır (7). Mortalite oranı %0.8 ile %38 arasındadır (8,9-11).

İleorektal anastomozlarda anastomoz kaçağının daha fazla olduğu gösterilmiştir (7).

Kolorektal kanser nedeniyle opere edilen hastalarda anastomoz kaçağının lokal rekürrens riskini artırdığı ve kötü prognoza yol açtığı gösterilmiştir (5,12-14).

Steroidler uzun süre immünsupresif ajan olarak kullanılmışlardır. Steroidler lenfopeni, monositopeni, eozinopeni ve nötrofili gelişimine neden olurlar. İntrasellüler süperoksit reaktivitesi ve kemotaksis depresyonu yaparak nötrofil fonksiyonlarını azaltırlar. Sitokin sentezini inhibe ederler. Yara iyileşmesinin inflamasyon fazını baskırlar (15).

Kefir, Kafkasya orjinli fermente süt içeceğidir. İçersinde laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayalar bulunmaktadır. Bakteri ve mayaların etrafını çevreleyen polisakkarid matriks bulunmaktadır. Buna kefiran denilmiştir. Kefirin antibakteriyel, antimitotik, antitümöral özellikleri vardır (16).

Bu çalışmanın amacı; steroid verilerek bağışıklık sistemi bozulan ratlarda kefirin kolon anastomozu iyileşmesine etkisinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Cerrahisinin Tarihçesi

Kolon cerrahisi 18. yüzyıldan beri büyük bir gelişim içerisinde. Yaklaşık 300 yıllık bu süreç içerisinde cerrahlar peritoneal kavitedeki yüksek kontaminasyon riski olan kolonda yaptıkları operasyonlarla kolon cerrahisinde büyük değişimlerin kapısını açmışlardır (18).

Kolon operasyonlarının modern tarihi 1710 yılında Alexis Littre'nin anal atrezili yeni doğanda otopsi sırasında kolostomi açmasıyla başlar. Pillore 1776'da rektumun skirröz tümörü nedeniyle çekostomi açmıştır. George Arnaud de Ronsil 1732'de ilk defa sağ hemikolektomi, içerisinde gangrene ileum, çekum ve çıkan kolonun bulunduğu inkarsere skrotal herni nedeniyle yapmıştır. Faget 1739'da bilateral iskiorektal abseye sekonder devitalize rektumu rezeke etmiştir. Duret 1793'te yenidoğanda imperfore anüs nedeniyle sigmoid kolostomi açmış ve bu hasta 45 yıl yaşamıştır. Lisfranc 1826'da, Mourin 1831'de ve aynı tarihte Herbert Mayo kanser nedeniyle rektum rezeksiyonunu başarılı şekilde yaptıklarını rapor etmişlerdir. Reybard 1833'te ilk defa sigmoid kolektomi, sigmoid tümör perforasyonu nedeniyle yapmıştır. Jean Amussat 1839'da rektumu obstrükte eden kanser nedeniyle ilk defa başarılı bir şekilde kolostomi açmıştır. Kroske 1885'te yüksek yerleşimli rektal lezyonları koksiks ve sakrumun bir parçasını rezeke ederek çıkarmıştır. Ernest Miles abdominoperineal rezeksiyonu tanımlamış ve bu prosedür 1914' de British Journal of Surgery' de yayınlanmıştır. Johann von Mickulicz kolon rezeksiyonundan hemen sonra anastomoz yapıldığında peritonit ve anastomoz ayrılması nedeniyle mortalite oranının %30-50 arasında olduğunu, iki basamaklı cerrahi uygulayarak başlangıçta kolostomi açıp, daha sonra anastomoz yapmanın mortaliteyi %15'e düşürdüğünü söylemiştir. Rankin cilde ağızlaştırılan kolon segmentinin gangren ve nekroz nedeniyle peritoneal kontaminasyona yol açabileceğini, dolayısıyla ilk 48 saat içerisinde bu segmentin rezeke edilmesi gerektiğini söylemiştir. Henri Hartman kendi adıyla anılan operasyonu 1923 yılında tanımlamıştır (18).

2.2. Kolon Anatomisi

Embriyolojik olarak bakıldığında ana safra kanalının açıldığı duodenum 2. bölgesinden transvers kolonun orta kesimine kadar olan bölge orta bağırsaktan (midgut), transvers kolonun ortasından anüsün proksimaline kadar olan bölge son bağırsaktan (hindgut) gelişmektedir. Anüsün distali ektodermden gelişir (15).

Kolonun üzerinde 3 adet tenya koli adı verilen longitudinal kaslardan oluşan bantlar bulunur. Bu bantlar apendiks proksimalinde birleşir ve rektumun proksimalinde kaybolurlar (15).

Çekum, çıkan kolon, transvers kolon superior mezenterik arterin dalları olan ileokolik, sol kolik ve orta kolik arterler tarafından; inen kolon, sigmoid kolon, rektum proksimali inferior mezenterik arterin dalları olan sol kolik ve superior rektal arterler tarafından beslenmektedir. Rektumun inferioru ve anal kanal, internal pudental arterin dalları olan orta rektal ve inferior rektal arterler tarafından beslenmektedir. Çekum, çıkan kolon, transvers kolonu superior mezenterik ven, inen kolon, sigmoid kolon, rektum proksimalini inferior mezenterik ven, rektumun inferioru ve anal kanalı orta ve inferior rektal venler aracılığıyla internal iliak ven drene eder. İleokolik, sağ kolik, orta kolik ve sol kolik arterler kolonun mezenterik kenarı boyunca anastomozlar yaparak Drummond'un marjinal arterini oluştururlar. Ayrıca orta kolik ve sol kolik damarlar arasındaki damara Riolan arkı denilmektedir (15,19).

Lenfatik kapillerler submukozal tabakada yer alırlar. Lenfatik damarlar arteriyel anatomiye takip ederler. Kolon ve proksimal rektumun lenfatik drenajı paraaortik lenfatiklerle cisterna chyli'ye, distal rektum ve anal kanalın lenfatik drenajı paraaortik ve lateral lenfatiklerle internal iliak sisteme ve süperfisiyal inguinal nodlara olmaktadır. Lenf nodları bulundukları lokalizasyonlara göre gruplandırılırlar. Epikolik nodlar bağırsak duvarında, parakolik nodlar marjinal artere komşu olarak, intermediate nodlar büyük damarlar boyunca sıralanmaktadır (15,19).

Sağ ve transvers kolonun sempatik lifleri T6-T12 omurilik segmentinden, parasempatikleri ise sağ vagustan köken almaktadır. Sol kolon ve rektum L1-2-3 omurilik segmentinden sempatiklerini alır. Sol kolonun parasempatiklerini sakral sinir verir. Rektumun distali, pelvik taban ve anal kanal sempatiklerini pelvik plexus aracılığıyla sağ ve sol hipogastrik sinirlerden almaktadır. Parasempatikleri ise nervus erigentesler aracılığıyla S2-S4' den gelir (15,19).

2.3. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi kayıtlı tarih boyunca sık sık tarif edilmiştir. Yaradaki yabancı cisimlerin ve ölü dokunun uzaklaştırılması gerektiği bilinirdi. Temizliğin infeksiyonu önlediği ve absenin drene edilmesinin gerekliliği de bilinmekteydi. Yaraya uygulanan çeşitli maddeler (bal) yara supurasyonunu azaltırdı. Asepsis, antiseptikler ve antimikrobiklerle bakterilerin kontrolü yara tedavisinde yeni bir çıkış açmıştır. Ağrının kontrolü, sıvı ve kan replasmanı ve antibiyotikler 20. yüzyılın ilk yarısında yara tedavisi konusundaki esas gelişmelerdir (15).

Yaralar akut ve kronik olmak üzere iki genel sınıfa ayrılabilirler. Akut yaralar anatomik ve fonksiyonel bütünlüğün desteklenmiş olarak yenilenmesiyle sonuçlanan düzgün ve sıralı onarım işleminden geçerler. Kronik yaralar ise anatomik ve fonksiyonel bütünlüğü sağlayacak düzgün ve sıralı bir işlemde geçmezler (15,20).

Yara kapanma tipleri üçe ayrılabilir. Primer kapama, akut olarak ayrılmış dokunun sütürler, staplerler, bantlar, deri greftleri ve fleplerle kapatılmasıdır. Sekonder (kendiliğinden) kapama, yara dudaklarının reepitelizasyon ve kontraksiyonla bir araya gelmesiyle oluşur. Bu tip kapama genellikle fazlaca kontamine yaralarda tercih edilir. Tersiyer (geciktirilmiş primer) kapama, yara dudaklarının birleştirilmesinin yara oluşumundan sonraki birkaç güne kadar geciktirilmesidir. Bu süre içerisinde debridman ve topikal antibiyotiklerin kullanımı ile infeksiyonun kontrolü sağlanır (15,19,20).

Yara iyileşme basamakları:

Normal şartlar altında yara iyileşme safhaları üç özel safhaya ayrılabilir. Bunlar sıralı bir düzen içerisinde tarif edilmelerine rağmen iç içe geçmiş safhalardan oluşmaktadır (20).

İnflamatuvar (Reaktif) faz: Yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı doku hasarından hemen sonra başlar. Bu faz hemostaz, vasküler permeabilitenin artması, kemotaksisle hücrelerin yaraya migrasyonu, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımı ve migrate hücrelerin aktivasyonu, ölü ve devitalize dokuların uzaklaştırılması, mikrobiyal patojenlerin kolonizasyonun ve invaziv infeksiyon oluşturmalarının engellenmesiyle karakterizedir (19-21).

Kan damarlarının hasarlanmasıyla salgılanan katekolaminler sayesinde başlangıçta meydana gelen vazokonstriksiyonu vazodilatasyon ve damar permeabilitesinde artış izler. Doku hasarı sonrasında ortaya çıkan subendotelyal kollajene trombositlerin bağlanmasıyla koagülasyon kaskadı çalışmaya başlar. Bu süreç

boyunca trombosit degranülasyonu sonucunda büyüme faktörleri; özellikle PDGF ve TGF- β salgılanır. Koagülasyon kaskadının işleminin sonucunda fibrinojenin fibrine dönüşümü gerçekleşir. Fibrin matriksinin oluşumu yara iyileşmesinin ilerleyen safhalarında hücrelerin migrasyonu için yapı taşıdır. Fibrin matriksin uzaklaştırılması yara iyileşmesini bozmaktadır (19-21).

Trombositlerden salınan TGF- β ve bakterilerin yıkımı sonucu ortaya çıkan lipopolisakkaritlerin kompleman sistemini (özellikle C5a) aktive etmesiyle inflamatuvar hücrelerin yara bölgesine migrasyonu başlar. İlk 2 gün boyunca fibrin matrikse nötrofil infiltrasyonu gerçekleşir. Nötrofillerin ana özelliği fagositozla veya infeksiyon sonucunda oluşan ölü dokunun uzaklaştırılmasıdır. Ayrıca nörofillerden salgılanan proteazlar ekstraselüler matriksi yıkarak yarayı iyileşme için hazırlarlar (20).

Doku hasarından 48-72 saat sonra yara bölgesine monosit/makrofajlar migrate olurlar. Monosit ve makrofajların migrasyonunda monosit kemoatraktan protein 1'in ekspresyonu önemli role sahiptir. Monosit ve makrofajlar yara iyileşmesinin anahtar regülatuar hücreleridir. Doku hasarının meydana gelişini takiben 3. günde makrofajlar yaradaki dominant hücrelerdir. Makrofajlar yaradaki nekrotik dokuları ve bakterileri fagosit ederler. Ayrıca yara bölgesinde yeni kan damarlarının oluşumunda, fibroblastlar tarafından ekstraselüler matriksin yapımında gerekli olan büyüme faktörlerin yapımında kritik role sahiptirler (19-21).

Yaralanmadan 5-7 gün sonra lenfositler yara bölgesinde izlenmeye başlarlar. İnflamatuvar fazdaki rolleri kesin açıklanamamakla birlikte stimülatör CD4 ve inhibitör CD8 hücrelerin yara iyileşmesinin proliferatif fazında daha etkin oldukları düşünülmektedir (19-21).

Benzer şekilde mast hücrelerinin de yara iyileşmesinin ilerleyen safhalarında etkin olmakla birlikte salgıladığı vazoaktif aminlerin damar permeabilitesinde artışa neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca aberran skar dokusunun gelişimiyle mast hücreleri arasında korelasyon olduğu tesbit edilmiştir (20).

Proliferatif faz (rejeneratif, reperatif): Yara iyileşmesinin proliferatif fazı doku hasarı takiben 4-21. günleri içine alır. Anjiogenezis, fibroplazi ve epitelizeasyon bu safhanın temel taşlarıdır. Fibrin matriks yenilenerek granülasyon dokusuna dönüşür. Granülasyon dokusu oluşumunda fibroblastlar, makrofajlar ve endotelial hücreler önemli role sahiptirler. Bu hücreler, ekstraselüler matriks ve yeni kan damarları granülasyon dokusunun histolojik olarak yapısını oluşturlar (19,20).

Granülasyon dokusu doku hasarından sonraki 4. günden itibaren yapılmaya başlanır. Bu safhada da makrofajlardan büyüme faktörleri salgılanır. Böylece fibroblastların stimülasyonu, migrasyonu, ekstraselüler matriks depozisyonu ve yeni kan damarlarının oluşumu için endotelial hücre stimülasyonu sağlanmış olur. Proliferatif fazda fibrin matriks tip III kollajen ile replase edilir (20,21).

Endotelial hücreler granülasyon dokusunun kritik hücreleridir. Proangiogenetik faktörler makrofajlardan salgılanır (VEGF, FGF-2, anjiopoetin-1, trombospondin). Yeni kan damarlarının oluşumu ve granülasyon dokusunun devamı için, dolayısıyla yara iyileşmesinin proliferatif fazının tamamlanabilmesi için bu faktörler gereklidir (20).

Proliferatif fazın sonlandırılması apoptozisle olmaktadır. Apoptozisin başlamasında moleküler sinyaller rol oynamaktadır. Bu safhanın regülasyonundaki problemler fibrotik bozukluklara yol açabilmektedir (20).

Remodelling fazı: Yara iyileşmesinin en uzun fazı remodelling fazıdır. Doku hasarlanmasını takiben 21. günde başlayıp bir yıla kadar uzayabilmektedir. Bu faz kan damarlarının ve granülasyon dokusunun regrese olmasıyla başlar (20).

Bu faz yara kontraksiyonu ve kollajen remodellingi ile karakterizedir. Yara kontraksiyonu myofibroblastlara dönüşen fibroblastlar tarafından gerçekleştirilmektedir. İntraselüler aktin mikroflamanları kontraksiyonu sağlar. Myofibroblastlar spesifik integrin molekülleriyle kollajen matriksle bağ oluşturlar. Proliferatif fazda fibroblastlar tarafından yapılan tip III kollajen ilerleyen birkaç ay içerisinde tip I kollajenle replase edilir. Tip III kollajenin yıkımında matriks metalloproteinazlar görev alır. Matriks metalloproteinazlar makrofajlar, fibroblastlar ve endotelial hücreler tarafından sekrete edilirler. Kollajen turnover ve kollajen çapraz bağlanması sayesinde yara gerilim kuvveti yavaş yavaş artmaya başlar (20,21).

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve genel olarak ikiye ayrılabilir.

Lokal faktörler: Enfeksiyon, kan akımı, denervasyon, hematoma, mekanik stres, cerrahi teknik, yaranın korunması, kullanılan suture, yaralanan dokunun tipi.

Genel faktörler: Yaş, anemi, antiinflamatuvar ilaçlar, sitotoksik ilaçlar, hormonlar, sistemik enfeksiyon, sarılık, malign hastalık, malnütrisyon, obezite, sıcaklık, hipovolemi, hipoksi, vitamin eksikliği, eser element eksikliği (15,19).

2.3.1. Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi

Gastrointestinal kanal içten dışa doğru mukoza, muskularis propria ve seroza tabakalarından oluşmaktadır. Mukoza absorpsiyon görevi yaparken muskuler tabaka kontraksiyonları oluşturur. Gastrointestinal sistem mukozası tek katlıdır. Bağırsak duvarının çok katlı yapıda olması ve serozanın yaralanmaya verdiği cevap gastrointestinal sistemdeki yara iyileşmesiyle diğer organlardaki yara iyileşmesi arasında farklılıklar doğurur (22).

Gastrointestinal sistemin değişik bölümlerinde de iyileşme farklılık göstermektedir. İnce bağırsak anastomozları kolon anastomozlarına göre daha hızlı iyileşir. Kolondaki inflamatuvar faz bağırsaktakine göre uzun sürer. Postoperatif 7. günde ince bağırsaklarda inflamasyon sona ermiş iken kolona fazla sayıda lökosit migrasyonu izlenmektedir. İnce bağırsakta mukozal bütünlük kolona göre daha hızlı sağlanmaktadır (23-27).

Kolon anastomoz iyileşmesi histolojik olarak 3 bölümde incelenebilir.

I. evre: İnflamasyon ve ödem oluşumuyla karakterizedir. Bu evrede hematoma, ödem, fibrin depozisyonu ve lökositlerin anastomotik bölgeye migrasyonu görülür. Başlangıçta kollajen yıkımı fazlayken 4. günde kollajen yapımının daha fazla olduğu izlenir (0-4 gün).

II. evre: Proliferasyon ve kollajen sentezi ile karakterizedir. İlk evrede meydana gelen inflamasyon ve ödem geriler, fibroblastlar proliferasyona uğrayarak kollajen sentezine başlarlar. Ayrıca mezenşimal hücreler düz kas hücrelerine farklılaşırlar (3-14 gün).

III. evre: Kollajen remodellingi ile karakterizedir. Granülasyon dokusu geriler. Düz kas hücrelerinin sayısı artar (10-180 gün) (28).

Submukozal tabaka intakt gastrointestinal sistemde gerilme kuvveti en fazla olan bölümdür. Ayrıca iyileşme döneminde sütür tutma kapasitesi en iyi olan tabakadır. Dolayısıyla anastomoz ayrılmasında kritik öneme sahiptir. Bu tabakada kollajen ve elastik fibrillerle birlikte sinir fibrillerinin oluşturduğu submukozal plexus, kan ve lenfatik damarlar bulunmaktadır. Submukozal tabakanın biyokimyasal analizi yapıldığında %68 oranında tip I kollajen, %20 oranında tip III kollajen ve %12 oranında tip V kollajen içerdiği görülmüştür. Yapılan deneysel çalışmalarda anastomotik segmentin immüno Floresans incelenmesi sonucunda fibronektin, laminin, ve kollajen subtipleri en fazla postoperatif 7. günde tesbit edilmiştir (22,29,30).

Gastrointestinal anastomozların mukozal komponenti epitelyal hücrelerin migrasyonu hiperplazisi sonucu onarılmaktadır. Bu hücrelerin oluşturduğu granülasyon dokusu lümen içeriğiyle bağırsak duvarı arasında bariyer görevi üstlenmekte ve mukozal defektleri kapatmaktadır. Bu mukozal bariyer kolonda yaklaşık üç gün içinde oluşmaktadır. Mukozal eversiyon ve inversiyon bu işlemin gerçekleşmesini geciktirmektedir (22).

Seroza ince bir konnektif dokudan meydana gelmiştir. Serozanın bütünlüğünün iyi şekilde sağlanması anastomoz kaçak riskini azaltmak için gereklidir. Gastrointestinal sistemin ekstraperitoneal bölümü serozal tabakayla kaplı olmadığından komplikasyonlar açısından yüksek risk taşımaktadır (22).

Bağırsağa yapılan insizyon sonucunda başlangıçta hemostatik vazokonstriksiyon, takiben sekonder vazodilatasyon ve damar permeabilitesinde artış meydana gelir. Tüm bu olayların sonucu bağırsak duvarında ödem meydana gelir. Atılan sütürler ödemli dokunun dolaşımını bozarak iskemik nekroza neden olabilir (22).

Büyük omentum intraperitoneal anastomozlarda sütür hattının ve granülasyon dokusunun etrafını çevreleyerek kritik rol oynamaktadır (22).

Yapılan çalışmalarda iyileşmekte olan bağırsak duvarına 3-5. günlerde farklılaşmamış mezenşimal hücrelerin kapiller invazyonla geldiği, daha sonra bunların düz kas hücreleri ve fagositik histiositlere transforme olduğu izlenmiştir. Gastrointestinal sistemde kollajen sentezinin fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından yapıldığı düşünüldüğünde mezenşimal hücrelerin migrasyonunun önemi görülmektedir (22). Kollajen sentezinin yanında sentezlenen kollajenin kalitesi de önemlidir (29). Kollajen üreten lokal fibroblastların proliferasyonu sonucunda kollajen sentezi 5-7. günlerde en üst düzeye ulaşmaktadır (31).

Kollajen üretiminin azalması, anastomozdan kollajen kaybı ve peritoneal makrofajların fonksiyonunun azalması anastomoz iyileşmesini zayıflatmaktadır. Anastomotik alandaki makrofajların azalması yara iyileşmesini bozan en önemli faktördür (26,32-34).

Anastomoz iyileşmesinin başlangıcındaki birkaç gün, kollajenaz, anastomotik bütünlük ve sütür tutma kapasitesi açısından önemli role sahiptir. Kollajenaz aktivitesi kolonda gastrointestinal sistemin diğer bölümlerine göre daha fazladır (22,35).

Kolon ve rektumun aerobik ve anaerobik mikroorganizma içeriği anastomoz bölgesinin iyileşmesi ve peritoneal kavitenin kontaminasyonu açısından problem

yaratabilir. İntraluminal gaita geçişi ve peristaltik hareketler anastomoz üzerine güç uygulayarak bütünlüğünün bozulmasına sebep olabilir (22).

2.4. Gastrointestinal Sistem Anastomoz Kaçağı Risk Faktörleri

Gastrointestinal sistemde anastomoz iyileşmesinde etkili faktörler lokal ve sistemik olarak ikiye ayrılabilir.

Lokal: Uygun kan akımı, anastomotik gerginliğin olmaması, sağlıklı doku kenarlarının olması, bakteriyel kontaminasyon, distal obstrüksiyon, radyasyon hasarı, bağırsak hazırlığı, hipertermi (15).

Sistemik: Nutrisyon, sepsis, hipovolemi, medikasyon (steroid, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar, 5-FU), immün yetmezlik, kan transfüzyonu, üremi, sarılık (15).

Anastomoz kaçağı çeşitli klinik durumlarla kendini gösterebilir. Peritonit, pelvik abse, drenlerden feçes, gaz, pürülan akıntı gelmesi ve rektum veya rektovajinal fistülden pürülan akıntı gelmesi. Anastomoz kaçağı çeşitli tetkiklerle saptanabilir: Kolon baryum enema, BT, USG, rijid sigmoidoskopi, fleksibl sigmoidoskopi, rektal tuşe, laparotomi (8,36).

Kan akımı ve oksijenasyon: Anastomoz yapılan bağırsak segmentinin iskemik olmaması, yeterli kan akımına sahip olması gerekmektedir. Anastomotik bölgeye yeterli oksijen sağlanamaması lizin ve prolinin hidroksilasyonunu engellemekte, dolayısıyla kollajen sentezini azaltmaktadır (15,19).

Cerrahi teknik: Hangi ameliyat olursa olsun cerrahi teknik ameliyattan başarılı sonuç almak için önemlidir. Dokuların kibar diseksiyonu, uygun aletlerin kullanımı, hemoztazın iyi yapılması en başta dikkat edilmesi gereken hususlardır. Anastomoz tamamlandığında lümenin yeteri genişlikte olması, anastomozun gergin ve torsiyone olmaması, distalde obstrüksiyon olmamasına dikkat edilmelidir. Ayrıca peritoneal kavitenin yıkanması lokal abse oluşma riskini en aza indirecek ve anastomoz iyileşmesine katkıda bulunacaktır (22,37).

Yıllardır evert ve invert anastomoz teknikleri karşılaştırılmış, evert anastomozların adezyon formasyonu ve kaçak açısından daha riskli olmakla birlikte stenoza daha az yol açtığı gösterilmiştir (22,37).

İki tabaka anastomozun tek tabakaya göre daha iyi olduğu söylenmekle beraber iki tabakalı işlemde kullanılan ekstra sütür materyali iyileşmenin erken evrelerinde inflamatuvar yanıtı artırmakta, bunun sonucunda inflamatuvar fazda daha fazla kollajen

yıkımına sebep olmaktadır. Tek tabaka anastomozun daha iyi olduğunu savunanlar ise tek tabaka sonucunda daha az doku hasarı olduğunu, daha geniş lümen elde edildiğini belirtmişlerdir (22,37).

Stapler gastrointestinal cerrahide yaygın olarak kullanılmaktadır. Stapler daha az travmaya, adezyona, inflamatuvar yanıtı sebep olmakla beraber stenoz riskini artırmaktadır (22,37). Stapler ile yapılan anastomozlarda kaçak riskinin daha fazla olduğu gösterilmiştir (36).

Uç uca yapılan anastomozların uç yan yapılan anastomozlara göre anastomoz kaçağı açısından daha riskli olduğu gösterilmiştir (38).

Kullanılan sütür materyali: İdeal sütür materyali minimal inflamatuvar yanıt oluşturmalıdır. Anastomoz iyileşmesinin erken safhalarında sütür tutma kapasitesi azalmaktadır. Postoperatif 48. saatte kolon anastomozunda gerilim kuvveti %72 azalmaktadır. Yapılan çalışmalarda postoperatif 14 ve 21. günlerde anastomoz ayrılma direnci nonabsorbabl sütürlerde absorbabl sütürlere göre önemli derecede fazla bulunmuştur. Sütür materyalinin tipi kollajen ve nonkollajen protein sentezi oranlarını önemli derecede değiştirmemektedir. Anastomoz bölgesinde prolene ve krome katgut en az, ipek en fazla selüler reaksiyona sebep olur. Yüzeyi düzensiz olan sütürler (katgut, ipek, poliglikolik asit) yüzeyi düz olan sütürlere (prolene, teflon kaplı dakron) göre dokuda daha fazla hasar oluşturmaktadır (22,37).

Radyasyon: Preoperatif uzun süreli radyoterapi gastrointestinal sistemde fibroze, striktüre, endarteritis obliteransa sekonder iskekiye ve yapışıklığa sebep olmaktadır. Seromusküler kan akımının azalması anastomotik komplikasyonları artırmaktadır. Bu etkiler radyoterapi verilmeye başlandıktan 4 hafta sonra görülmeye başlar ve tedaviden sonra yaklaşık 4 ay kadar sürmektedir. Yapılan çalışmalarda preoperatif radyoterapinin kaçak riskini artırdığı görülmüştür (22,36-38).

Sepsis: Anastomotik bölgede biriken fibrinopürülan eksuda fibroplazi ve anjiyogenezisle yapışıklığa sebep olmaktadır. Septik hayvan modellerinde kolonda kollajen sentezi etkilenmemekle beraber intraabdominal sepsisi takiben 24. saatte diğer proteinlerde azalma olmaktadır. Sepsiste kollajen yıkımının arttığı tesbit edilmiştir. Ayrıca sepsiste kollajenin sentetik kapasitesi önemli derecede azalmaktadır (37).

Mekanik bağırsak temizliği: Yapılan klinik çalışmalarda kolonun preoperatif mekanik hazırlığı ve intestinal antisepsis kolonik anastomozun iyileşmesini artırmaktadır (22,37).

Medikasyon: NSAİ ilaçların postoperatif 3. günde kollajenolizisin azalmasına yol açtığı gösterilmiş, bu etkilerinde antiprostaglandin E2 etkisinin önemli rol oynadığı gösterilmiştir (37).

Kemoterapi: Kanda lökosit sayısını azalttığı, kollajen sentezini deprese ettiği bilinmektedir (22,37).

Büyüme faktörleri: TGF- β makrofajlar ve fibroblastlar için kemotaktiktir. Ayrıca intestinal düz kas hücrelerinde ve fibroblastlardan kollajen sentezini artırır, kollajenazın salınımını modüle eder (22,37).

Malnutrisyon: Malnutrisyon sürdüğü sürece doku kollajeni yıkılmakta ve kollajen sentezi defektif olmaktadır (37), albüminin 3 g/dl'den düşük olduğu durumlarda kaçak oranının arttığı görülmektedir (5).

Steroid kullanımı: Kortikosteroidlerin iyileşme sürecinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azalttığı, vaskülarizasyonu ve fibroblast sayısını deprese ettiği, lökositlerin intraselüler lizozomlarının membranlarını inflamatuvar fazda stabilize ederek kollajen sentezini inhibe ettiği invivo ve invitro olarak gösterilmiştir (39-46). TGF- β kortikosteroidlerin bu etkilerine mediatörlük etmektedir. Glukokortikoidler moleküler düzeyde TGF- β geninin ekspresyonunu azaltarak bu medyatörün etkilerini bloke etmektedir (47). Ayrıca glukokortikoidler interselüler adezyon molekülü-1'in (ICAM-1) endotelyal ekspresyonunu azaltarak yara bölgesine lökosit migrasyonunu azaltmaktadır (48). Glukokortikoidler yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını engelleyerek daha sonraki fazların oluşumunu geciktirmekte, granülasyon doku formasyonunu zayıflatmaktadır (49).

Yaş: Yaşın 60'ın üzerinde olması risk faktörüdür. Ayrıca anastomoz kaçağı nedeniyle reopere edilen 65 yaş üstü hastaların mortalite açısından daha riskli olduğu bulunmuştur (10). Bu durum yaşlı hastalarda kardiyak ve pulmoner yetmezlik, malnutrisyon, malignite ve medikasyon prevalansının artmasına sekonder olabilir (22).

Omentum: İntestinal anastomozların sağlıklı omental dokuyla çevrenmesi daha iyi sonuç alınmasını sağlayabilir. Bu durum omental dokuyla sütür hattının korunması, neovaskülarizasyon ve granülasyon doku formasyonunun oluşumunu hızlandırma, infeksiyonun kontrolü ve perianastomotik bölgede lenfatik drenajın artmasıyla açıklanabilir (22).

Anastomotik drenler: Dren kullanımı anastomotik bölgede sıvı birikimini dolayısıyla infeksiyon oluşma riskini azaltmaktadır. Ancak drenlerin retrograt olarak

mikroorganizmaları peritoneal kaviteye taşıyabileceği, anastomozu erode edebileceği unutulmamalıdır (22).

Anastomotik segmentin anal verge uzaklığı: Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmekle beraber anastomotik segmentin anal verge yaklaşması kaçak riskini artırmaktadır (1,6,36).

Anastomoz tipi: Yapılan çalışmalarda ileorektal ve kolorektal anastomozların diğer anastomoz tiplerine göre anastomoz kaçığı riskinde önemli artışa sebep olduğu bulunmuştur (2,9,50-53).

Cinsiyet: Yapılan çalışmaların çoğunda erkeklerde anastomoz kaçığının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu durum erkek pelvisinin dar ve derin olması, dolayısıyla teknik olarak operasyonun daha zor olmasından kaynaklanabilir (3,7,36).

Operasyon süresi: Operasyon süresi arttıkça komplikasyon gelişme riski de artmaktadır. Özellikle 120 dk. üzerine çıktığında kaçak oranı daha fazla tesbit edilmiştir (7).

Operasyon endikasyonu: Benign nedenlerden dolayı yapılan anastomozlarda, özellikle Crohn hastalığı ve divertiküler hastalıkta kaçak oranının diğer endikasyonlar nedeniyle yapılan ameliyatlara göre daha fazla olduğu gösterildiği gibi malign hastalıklar nedeniyle yapılan ameliyatlarda kaçak oranının daha fazla olduğu çalışmalar mevcuttur (1,7,53). Ayrıca genel olarak ve kanser spesifik sağkalım süresinde anastomoz kaçığı önemli faktörlerdendir (54).

Alkol ve sigara kullanımı: Bir içimde alınan alkol miktarı 9-13 gr. Olarak kabul edildiğinde haftada 35 içimin kaçak oranını önemli derecede artırdığı tesbit edilmiştir. Ayrıca nikotinin doku oksijenasyonunu azalttığı, kollajen depozisyonunda ve doku gerilim kuvvetinde azalmaya sebep olduğu bilinmektedir. Sigara içimi ayrıca trombosit adezyon ve agregasyonunda artmaya sebep olarak mikrotrombozları tetiklemekte ve doku iskemisine neden olabilmektedir (50,55).

Kan transfüzyonu: Transfüzyon immün sistemi baskılamakta, dolayısıyla kolonik anastomozun iyileşmesini azaltmakta ve intraperitoneal sepsis insidansını artırmaktadır. Kan transfüzyonu lenfosit blastogenesi ve lenfositlerin diğer immün hücrelerle etkileşimini azaltmaktadır. Transfüzyon sonucunda lenfositlerden IL-2 yapımı azalmakta, anastomoz iyileşmesini negatif yönde etkilemektedir (37). Transfüzyon yapılan miktar arttıkça anastomoz kaçak oranları da artmaktadır (37,53).

Sistemik hastalık: Diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, serebrovasküler hastalık, karaciğer hastalığı, böbrek hastalığı olanlarda anastomoz kaçak riski artmaktadır (3,7,22).

2.5. Kefir

Kefir kökeni Kafkasya olan fermente bir süt ürünüdür. Kefir kelimesinin orjininin Türkçe bir kelime olan keyif olduğu söylenmektedir. Kefir, kefir tanelerinin sütle fermentasyonu sonucunda oluşan bir içecektir. Kefir tanesi laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayaları barındırmaktadır (16,56). Kefir içeriğinde vitaminler, mineraller, esansiyel aminoasitler bulunmaktadır (56). Kefir tanesinin sütü fermente etmesi sonucunda laktik asit, asetik asit, CO₂, etil alkol gibi maddeler oluşmaktadır (57).

Kefir doğal bir probiotiktir. Probiotik yeterli miktarda yenildiğinde insan ya da hayvan sağlığını olumlu yönde etkileyen mikroorganizmalara verilen isimdir. Probiotiklerin tarihçesine bakıldığında, Kitab-ı Mukaddes'te Hz. İbrahim'in uzun süre yaşaması fazla miktarda fermente süt ürünlerini tüketmesine bağlandığı görülür. Ayrıca Roma tarihçisi Plinius ishal tedavisinde femente süt ürünlerinin kullanılmasını önermiştir (57).

1912 yılında Nobel Tıp ödülünü kazanan Rus bilim adamı Elie Metchnikoff bilim dünyasında probiotikleri keşfeden insan olarak bilinmektedir. Metchnikoff Bulgarların uzun yaşam süresine sahip olmalarını fermente süt ürünlerini tüketmelerine bağlamış, fermente süt ürünlerinde bulunan asit yapan mikroorganizmaların bağırsaktaki patojen mikroorganizmaları nötralize ettiğini saptamıştır. Probiotiklerle ilgili ilk klinik çalışma 1921'de yapılmış, probiotiklerin konstipasyon üzerinde etkileri araştırılmıştır. 1950'lerde ABD Tarım Bakanlığı domuzlarda E.coli infeksiyonunun neden olduğu diyarede kullanılmak üzere bir probiotik ürününe lisans vermiştir. 1974'te lactobacillusun serum kolesterol seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. 1994'te WHO antibiyotik rezistansı gelişimi nedeniyle probiotiklerin ileride en önemli immün defans sistemi olarak kullanılabileceğini belirtmiştir. Ayrıca FDA probiotiklerin kullanımının güvenli olduğunu açıklamıştır (58-60). Kefirin 100 gr'ındaki içeriği aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (61):

Enerji	65 kcal
Yağ	%3.5
Protein	%3.3
Laktoz	%4
Su	%87.5
Mineral içeriği	
Kalsiyum	0.12 gr
Fosfor	0.10 gr
Magnezyum	0.012 gr
Potasyum	0.15 gr
Sodyum	0.05 gr
Klor	0.1 gr
Esansiyel aminoasitler	
Triptofan	0.05 gr
Fenilalanin + trozin	0.35 gr
Lözin	0.34 gr
İzolözin	0.21 gr
Treonin	0.17 gr
Metionin + sistin	0.12 gr
Lizin	0.27 gr
Valin	0.22 gr
Vitaminler	
A	0.06 mg
Karoten	0.02 mg
B1	0.04 mg
B2	0.17 mg
B6	0.05 mg
B12	0.5 mg
Niasin	0.09 mg
C	1 mg
D	0.08 mg
E	0.11 mg
Eser elementler	
Demir	0.05 mg
Bakır	12 mg
Mangan	5 mg
Çinko	0.36 mg
Molibden	5.5 mg

Tablo 2.1. Kefirin 100 gr'ındaki içeriği.

Kefirde bulunan mikroorganizmalar şunlardır: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus lactis subsp lactis*, *leuoconostoc*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus parakefir*, *Acetobacter aceti*, *Candida kefir*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces delbrueckii*,

Torulopsis holmii, *Candida holmii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida friedricchii*, *Pichia fermentum*, *Kluyveromyces marxianus* (62) *Saccharomyces turicensis*, *Saccharomyces unisporus*, *Lactobacillus lactis subsp cremoris*, *Lactobacillus lactis subsp diacetylactis* (63).

Probiotikler etkilerini iki mekanizmayla gerçekleştirebilir. Mikroorganizmaları direkt etkisi ve mikroorganizmalarca üretilen metabolitlerin indirekt etkisi. Fermente süt ürünlerindeki en önemli metabolit peptitlerdir (57).

Kefir peritoneal ve pulmoner makrofajların fagositik aktivitesini artırmaktadır. Peyer plaklarındaki hücrelerden ve makrofajlardan sitokin salınımını artırır (64,65). Kefirin oral olarak uygulanmasından sonra ince bağırsakta IgA+ hücrelerde, kolonda hem IgA+ hem de IgG+ hücrelerde artış saptanır. Ayrıca serumda IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α ve IFN- γ seviyelerinde artış görülür. Kefirin oral verilmesi intestinal epitel bütünlüğünü, fonksiyonunu ve mukozal immün yanıtı artırmaktadır. Kefirdeki eikopolisakkarit içerik kolonda daha fazla mukozal immün stimülasyona yol açmaktadır (57,66-68). Bunun sebebi kolonda artan IgG+ hücrelerin mukozal immün sistemi daha aktif hale getirmesidir (57,69). Probiotik bakterilerin immünmodülatör kapasiteyi artırmasında hücre duvarının bütünlüğünün korunmasına yardım ederek katkıda bulunduğu görülmüştür (70,71).

Kefirin skatrizan aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Bu etkisinde neovaskülarizasyonu artırması, epitel granülasyonunu hızlandırması önemli rol oynamaktadır (16).

Probiotik bakteriler enteropatojen organizmaların invazyonunu engellemektedir. Çeşitli mekanizmalar bu etkide rol oynamaktadır: Mukozal bariyer fonksiyonuna yardımcı olma, patojenlerle rekabet, immün cevabın modülasyonu, luminal pH'nın azaltılması, laktik asit ve bakteriosinlerin sentezi (72,73). Ayrıca *Lactobacillus kefir*'in yüzeyinde bulunan S-layer proteini probiotik aktivitede önemli rol oynamaktadır. S-layer *E.coli*'nin bazal membran komponentlerine adezyonunu engeller (72).

Kefirin içeriğinde bulunan lipidlerden izole edilen sfingomyelinin *invivo* ve *invitro* olarak immün sistemi stimüle ettiği gösterilmiştir (63).

Yapılan çalışmalarda kefirin tümör hücrelerinin büyümesini geciktirdiği saptanmıştır (63). Bu etkisinde salınan sitokinler (IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α) önemli rol oynamaktadır. Ayrıca β -glukoronidaz, glikozidaz, azoredüktaz, nitroredüktaz, ornitin dekarboksilaz gibi karsinojenik enzimleri düzeyleri azalmakta, ras-p21 onkogen aktivitesi azalmakta, glutatyon transferaz, sitokrom P-450 redüktaz aktivitesi

artmaktadır (59,74,75). Kolonda aberan kriptlerin oluşumunu engelleyerek antineoplastik etkinlik gösterir (76,77).

Kefirin oral verilmesinden sonra total eozinofil sayısını ve IgE yapımını azaltarak antialerjik etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (59,68,78).

Kefir enteropatojenlerin epitelyal hücrelere invazyonunu engelleyici etkisinden dolayı diyarede kullanılmaktadır. Bu etkisini intestinal müsin sentezini artırarak yaptığı düşünülmektedir (58,59,79,80).

Laktoz intoleransında intestinal laktaz aktivitesini artırıcı etkisinden dolayı kullanılabilir (58,60,80).

Hepatik ensefalopatide portal basıncı düşürerek kanama riskini azaltabilirler. Ayrıca fekal üreaz aktivitesini azaltıp serum amonyak miktarını düşürerek hastanın klinik durumunu düzeltebilir (58).

Konak immün sistemini güçlendirerek ve glikolipid reseptörleri için yarışarak H.pylori infeksiyonunun tedavisine yardım etmektedir. Antibiyotiklerle %72 oranında eradike edilen H.pylori'nin tedaviye Lactobacillus eklenildiğinde eradikasyon oranının %87'ye çıktığı görülmüştür (59).

Probiotiklerin alınmasının inflamatuvar bağırsak hastalığında remisyon dönemini uzattığı görülmüştür (59). Ayrıca bağırsağın yüksek konstrasyonda bakteriyel içeriğe sahip bölgelerinin inflamatuvar bağırsak hastalığında daha fazla etkilendiği, probiotiklerin kullanımı ile bu bölgedeki etkilerin azaldığı bildirilmiştir (81,82).

HIV+'lerde görülen diyare ve malabsorbsiyon ataklarının etkilerini azalttığı görülmüştür (59,83).

2.6. Steroid Tedavisi

Kortikosteroidler fizyolojik olarak adrenal bezlerden salgılanmaktadır. Adrenal kortekste kortizol, aldosteron ve androjenler üretilir (84,85).

Kortikosteroidler antiinflamatuvar, antialerjik, immünsupresif etkilerinden dolayı kullanılmaktadırlar. Klinik olarak 1940'lı yılların sonuna doğru kullanılmaya başlanmış, o günde bu güne etkinliği daha fazla, yan etkisi daha az olan türevler kullanıma girmiştir (84,85).

Sentetik kortikosteroidler karaciğerde metabolize edilirler. Plazmada yüksek oranda (%95) transkordine bağlanırlar (84,85).

Glukokortikoidler insüline antagonistik etkinlik gösterirler. Karaciğerde glukoneogenezde rol alan enzimleri indükleyerek, hücrelerde protein sentezini inhibe ederek, proteolizi artırıp glukoza dönüşecek aminoasitleri artırarak glukoneogenezi artırır (84,85).

Glukokortikoidler karaciğer dışındaki dokularda protein sentezini inhibe ederek antianabolik etkinlik gösterirler. Ayrıca dokularda proteolizi artırarak katabolik etkinlik gösterirler. Üre ve amonyak oluşumunu artırarak negatif azot bilançosuna sebep olurlar (84,85).

Glukokortikoidler yağ hücresine glukoz girişini azaltarak lipolizi artırır. Yüksek dozda kullanılmaları durumunda insülin seviyesini ve iştahı artırarak lipogenik etki de gösterirler (84,85).

Glukokortikoidler inflamasyonun erken dönemlerinde kapiller dilatasyonu, ödemi, lökosit migrasyonunu ve fagositozu; inflamasyonun geç dönemlerinde ise fibrozisi, kapiller proliferasyonu, kollajen akümüasyonu inhibe ederler (84,85).

Glukokortikoidler endotelial lökosit adezyon molekülü-1 (ELAM-1) ve interselüler adezyon molekülü-1'in (ICAM-1) sentezini azaltarak lökositlerin postkapiller venüllerin endoteline adezyonunu engellerler. Ayrıca fosfolipaz A2 enzimini inhibe ederek kemotaktik ve vazoaktif özelliklere sahip olan prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienler gibi arasıdonik asit metabolitlerinin salınımını azaltırlar. Dolayısıyla lökositlerin dokuya migrasyonunu inhibe ederler. Akut faz reaktanlarının, IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, interferon- γ , GM-CSF, TNF- α gibi sitokinlerin salınımını inhibe ederler (84,85).

Glukokortikoidler nötrofillerden doku plazminojen aktivatörü salınımını inhibe edip fibrinolizi azaltırlar (84).

Proteolitik enzimlerin depolandığı hücre organeli olan lizozomların membranlarını stabilize ederek antiinflamatuvar etkinliğe katkıda bulunurlar (84,85).

Tip I alerjik reaksiyon sırasında bazofil ve plazmositlerden histamin, lökotrien C4 ve kallikrein salınımını azaltarak antialerjik etki gösterirler (84).

İnflamasyonun geç döneminde çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin fibroblastlar üzerindeki mitojenik etkisini engelleyerek yara iyileşmesini bozarlar (84).

3. YÖNTEM ve GEREÇLER

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D. Laboratuvar'ında yürütüldü. Kırıkkale Üniversitesi Yerel Etik Kurul'unun 18.04.2008 tarihli ve 08-14/24 numaralı onayını aldı.

Deney grupları:

Bu çalışmada ratlar; sham (S), metilprednizolon uygulanan (MP) ve metilprednizolon ve kefir uygulanan (MP+K) olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Her grup için 10'ar rat kullanıldı.

I. grup (S grubu): Genel anestezi altında 10 adet ratın sol kolonları transekte edilerek uç uca anastomoz yapıldı. Postoperatif 7. günde ratlar sakrifiye edilerek anastomoz bölgesi ortada kalacak şekilde kolonları transekte edildi. Deney sırasında bu gruptaki ratlardan ölen olmadı.

II. grup (MP grubu): Postoperatif 7. günde ratlar sakrifiye edilerek anastomoz bölgesi ortada kalacak şekilde kolonları transekte edildi. Ratlar sakrifiye edildikleri güne kadar metilprednizolon almaya devam ettiler. Bu grupta postoperatif dönemde 1 rat öldü.

III. grup (MP+K grubu): Bu gruptaki 10 rata preoperatif 7 gün boyunca, immünsupresyon dozu olan 40 mg/kg kortizon eşdeğeri 8 mg/kg metilprednizolon günlük 8 mg/kg dönüşümlü olarak her iki gluteal bölgeden intramüsküler uygulandı (17). Postoperatif 2. günden itibaren sakrifiye edildikleri güne kadar ratlara günde iki kez 3 ml kefir (Eker, Bursa, Türkiye) oral olarak verildi (86). Ratlar sakrifiye edildikleri güne kadar metilprednizolon almaya devam ettiler. Bu grupta postoperatif dönemde 1 rat öldü.

Cerrahi girişim:

Tüm ratlara intraperitoneal ketamin (Ketalar, Parke-Davis, Eczacıbaşı, İstanbul; 90 mg/kg) ve ksilazin (Rompun, Bayer, Leverkusen, Almanya; 10 mg/kg) ile anestezi uygulandı. Ratların abdominal bölgeleri traş edilip betadinle boyandıktan sonra orta hat insizyonu ile karına girildi. Pelvik refleksiyonun 2-4 cm proksimalinde sol kolon, mezenterik damarlara zarar vermeden transekte edildi (Şekil 3.1.). Daha sonra yuvarlak iğneli 6/0 monofilaman polipropilen ile (Prolene, Ethicon, UK) 3 mm aralıklarla yaklaşık 9-10 adet tek tabaka seromüsküler sütürlerle uç uca anastomoz yapıldı (Şekil 3.2.). Abdominal duvar keskin iğneli 3/0 ipek ile iki tabaka kapatıldı. Postoperatif 7.

günde tüm ratlar eter inhalasyonu ile sakrifiye edilerek abdominal duvarları açıldı; anastomoz yapılan bölge merkezde olacak şekilde yaklaşık 5-6 cm'lik kolon segmenti transekte edildi (86-96).



Şekil 3.1. Anastomoz yapılacak olan kolon segmenti.



Şekil 3.2. Anastomoz yapılan kolon segmenti.

Anastomoz patlama basıncı:

Postoperatif 7. günde tüm ratlar eter inhalasyonu ile sakrifiye edilerek abdominal duvarları açıldı; anastomoz yapılan bölge merkezde olacak şekilde yaklaşık 5-6 cm'lik kolon segmenti transekte edildi (86-96) (Şekil 3.3).

Transekte edilen kolon segmentinin distal ucu 2/0 poliglaktin ile bağlanarak, proksimal ucuna 16-G kateter yerleştirildi. Kateter infüzyon pompasına bağlanarak;

kateterden 2 ml/dk hızında izotonik tuz solüsyonu infüze edildi. İntraluminal basınç anastomotik bölgeden kaçak olana kadar ölçüldü ve elde edilen basınç anastomoz ayrılma basıncı olarak kaydedildi (86-96) (Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Anastomoz bölgesini içeren kolon segmenti.



Şekil 3.4. Anastomotik segmentte patlama basıncı ölçümü.

Yaş ağırlık, kuru ağırlık, su yüzdesi ve OH-prolin ölçümü:

Anastomoz bölgesinden alınan doku örnekleri tartıldı ve yaş ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra 60°C'da 3 gün bekletilerek kurutuldu. Tekrar tartılarak kuru ağırlıklar tesbit edildi. Yaş ağırlık ve kuru ağırlığın farkının yaş ağırlığa bölünmesiyle su yüzdesi bulundu. Dokular 7 N hidroklorik asit (HCL) içerisinde 110°C'da 8 saat hidrolize edildikten sonra hidroksiprolin düzeyi belirlendi (97).

İstatistiksel değerlendirme:

Sonuçların değerlendirilmesi için Mann Whitney U Testi uygulandı. $P<0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Anastomotik bölgeyi içeren kolon segmentlerinde anastomoz patlama basıncı ölçüldü. Anastomoz bölgesinden alınan dokulardan yaş ağırlık, kuru ağırlık, su yüzdesi ve OH-prolin değerleri ölçüldü (Tablo 4.1).

Deneyisel çalışma sırasında metilprednizolon ve metilprednizolon+kefir gruplarından birer rat öldü.

Gruplar	OH-prolin (µg/mg)	Patlama bas. (mmHg)	Yaş ağırlık (mg)	Kuru ağırlık (mg)	Su yüzdesi (%)
S-1	9,385	207,267	129,3	41	68,2
S-2	8,847	202,447	124,5	39,9	67,2
S-3	5,700	186,731	102,4	31	69,7
S-4	12,957	204,521	124,5	40,5	67,4
S-5	14,581	245,059	122,5	38,5	68,5
S-6	9,819	203,830	125,2	42,8	65,8
S-7	7,443	200,259	139,1	43,6	68,6
S-8	8,933	200,557	113,9	40,5	64,4
S-9	5,945	177,365	111,0	39,4	64,5
S-10	6,910	193,027	118,1	37,3	68,4
MP-1	1,706	127,067	84,1	18,5	78,0
MP-2	6,600	169,533	81,4	20,2	75,1
MP-3	3,103	154,861	62,1	15,0	75,8
MP-4	6,987	170,100	93,9	20,5	78,1
MP-5	11,730	179,985	97,3	19,9	79,5
MP-6	4,407	164,500	81,8	19,2	76,5
MP-7	6,365	175,204	83,8	21,7	74,1
MP-8	9,639	171,101	99,8	22,4	77,5
MP-9	2,158	138,692	87,7	19,4	77,8
MP+K-1	8,520	184,531	99,8	22,4	77,5
MP+K-2	7,301	184,112	105,7	27,0	74,4
MP+K-3	5,116	172,486	105,9	26,0	75,4
MP+K-4	6,455	180,652	113,0	24,2	78,5
MP+K-5	7,199	185,256	109,1	21,8	80,0
MP+K-6	6,963	181,642	89,3	24,1	73,0
MP+K-7	7,034	176,725	94,0	26,2	72,1
MP+K-8	5,629	173,355	93,0	22,6	79,1
MP+K-9	13,396	258,914	109,7	23,5	78,5

Tablo 4.1. OH-prolin, patlama basıncı, yaş ağırlık, kuru ağırlık, su yüzdesi değerleri. (S: Sham, MP: Metilprednizolon, MP+K: Metilprednizolon+Kefir)

Tüm gruplara ait oh-prolin, patlama basıncı, yaş ağırlık, kuru ağırlık ve su yüzdesi değerleri Tablo 4.2.'de sunulmuştur.

Parametre	Grup	N	Mean (SD)
OH-prolin (µg/mg)	S	10	9,052 (2,879)
	MP	9	5,855 (3,380)
	MP+K	9	7,512 (2,416)
Patlama basıncı (mmHg)	S	10	202,106 (17,692) *, #
	MP	9	161,227 (17,742) **
	MP+K	9	188,630 (26,778)
Yaş ağırlık (mg)	S	10	121,050 (10,250) *, #
	MP	9	85,766 (11,188) **
	MP+K	9	102,166 (8,444)
Kuru ağırlık (mg)	S	10	39,450 (3,498) *, #
	MP	9	19,644 (2,123) **
	MP+K	9	24,200 (1,841)
Su yüzdesi (%)	S	10	67,270 (1,808) *, #
	MP	9	76,933 (1,696)
	MP+K	9	76,500 (2,855)

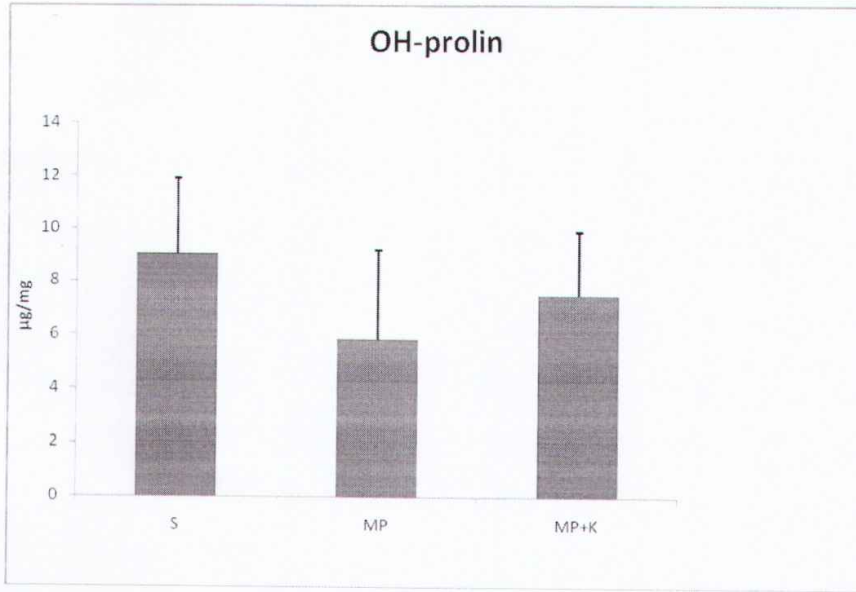
Tablo 4.2. Deney gruplarında temel istatistiksel değerler. (S: Sham, MP: Metilprednizolon, MP+K: Metilprednizolon+Kefir)

* $p < 0.05$ = S ve MP arasında fark var

$p < 0.05$ = S ve MP+K arasında fark var

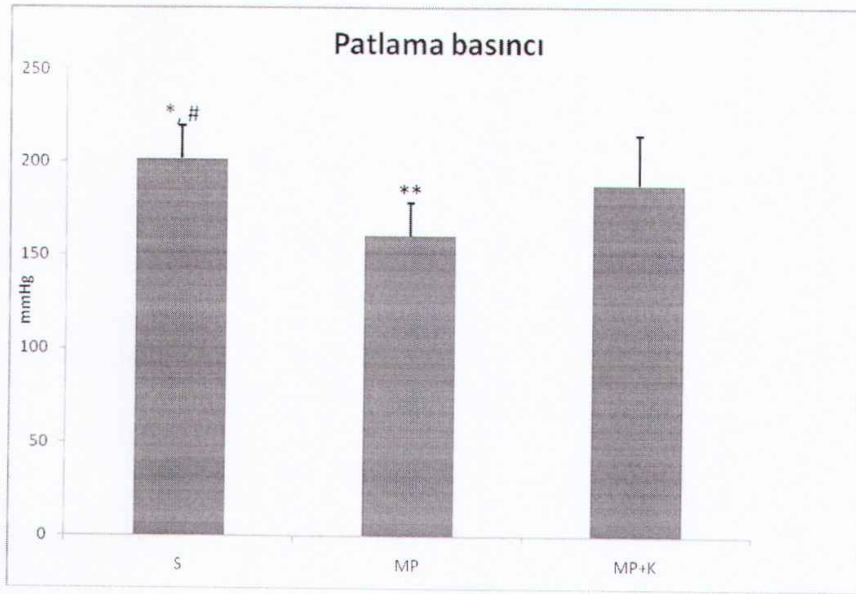
** $p < 0.05$ = MP ve MP+K arasında fark var

Yapılan istatistiksel değerlendirmede S, MP ve MP+K grupları arasında OH-prolin değerleri arasında önemli istatistiksel fark saptanmadı (Grafik 4.1).



Grafik 4.1. Deney gruplarında OH-prolin değerleri. (S: Sham, MP: Metilprednizolon, MP+K: Metilprednizolon+Kefir)

Anastomoz patlama basınçları, yaş ağırlık, kuru ağırlık değerleri için yapılan istatistiksel değerlendirmede önemli fark saptandı ($p < 0.05$). Su yüzdesi değerleri için yapılan istatistiksel değerlendirmede S grubu ve diğer gruplar arasında önemli fark saptandı ($p < 0.05$). MP ve MP+K grupları arasında önemli istatistiksel fark saptanmadı (Grafik 4.2 ve 4.3).

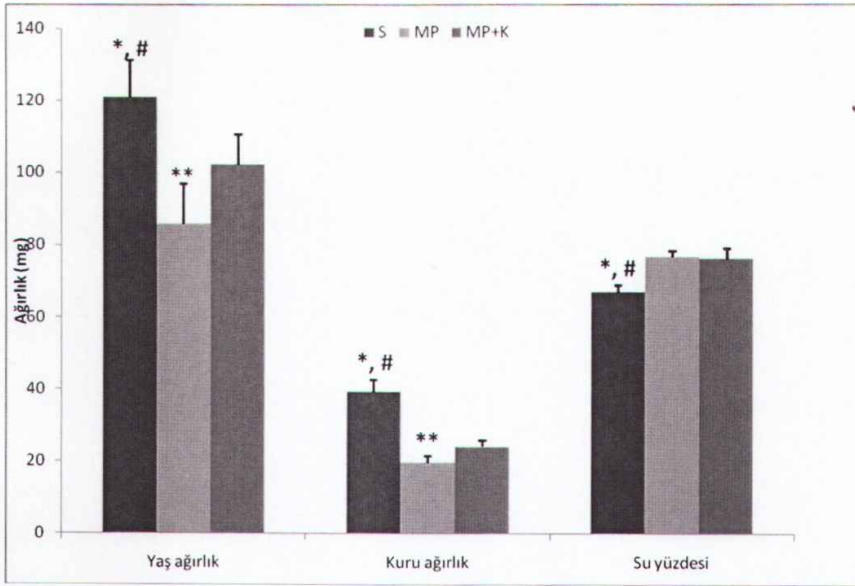


Grafik 4.2. Deney gruplarında patlama basıncı değerleri. (S: Sham, MP: Metilprednizolon, MP+K: Metilprednizolon+Kefir)

* $p < 0.05$ = S ve MP arasında fark var

$p < 0.05$ = S ve MP+K arasında fark var

** $p < 0.05$ = MP ve MP+K arasında fark var



Grafik 4.3. Deney gruplarında yaş ağırlık, kuru ağırlık ve su yüzdesi değerleri.

(S: Sham, MP: Metilprednizolon, MP+K: Metilprednizolon+Kefir)

* $p < 0.05$ = S ve MP arasında fark var

$p < 0.05$ = S ve MP+K arasında fark var

** $p < 0.05$ = MP ve MP+K arasında fark var

5. TARTIŞMA

Gastrointestinal sistemde anastomoz kaçığı yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden, hastanede kalış süresini ve tedavi masraflarını artıran, kolorektal cerrahinin major komplikasyonlarından birisidir (1,2,3). Yapılan çalışmalarda kolon anastomoz kaçık oranı total olarak %0.5 ile %30 arasında bulunmuştur (5). Kaçık sonrası mortalite oranı %0.8 ile %38 arasındadır (8-11).

Gastrointestinal sistemin çok tabakalı yapıya sahip olması nedeniyle, bu sistemdeki yara iyileşmesi diğer organlara göre farklılık göstermektedir (22). Ayrıca gastrointestinal sistemin değişik bölümlerinde de yara iyileşmesi farklılık göstermektedir. İnce bağırsak anastomozları kolon anastomozlarına göre daha çabuk iyileşmektedir. Kolondaki inflamatuvar faz ince bağırsağa göre daha uzun sürmektedir. İnce bağırsakta mukozal bütünlük kolona göre daha az zamanda sağlanmaktadır (23-27). Submukozal tabaka gerilme kuvveti en fazla ve sütür tutma kapasitesi en iyi olan tabaka olması nedeniyle gastrointestinal sistemde yara iyileşmesinde kritik öneme sahiptir (22,29,30).

Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesi uygun kan akımı, anastomotik gerginliğin olmaması, sağlıklı doku kenarlarının olması, bakteriyel kontaminasyon, distal obstrüksiyon, radyasyon hasarı, bağırsak hazırlığı, hipertermi gibi lokal ve nutrisyon, sepsis, hipovolemi, medikasyon (steroid, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, 5-FU), immün yetmezlik, kan transfüzyonu, üremi, sarılık gibi sistemik çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (15).

Glukokortikoidler yara iyileşmesini etkileyen sistemik faktörler arasında sayılabilir. Glukokortikoidler antiinflamatuvar, antialerjik, immünsupresif etkilerinden dolayı kullanılmaktadırlar. İnsüline antagonistik etkinlik gösterirler ve glukoneogenezi artırır. Protein sentezini inhibe ederek antianabolik etkinlik gösterirler. Lipolizi artırır, intraselüler lizozomların membranlarını stabilize ederek inflamatuvar hücrelerden sitokin salınımını azaltırlar. Ayrıca TGF- β geninin ekspresyonunu azaltarak bu medyatörün etkilerini bloke etmekte, yara bölgesine inflamatuvar hücre migrasyonunu engellemektedirler. Akut faz reaktanlarının, IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, interferon- γ , GM-CSF, TNF- α gibi sitokinlerin salınımını inhibe ederler. Dolayısıyla glukokortikoidler yara iyileşmesinin inflamatuvar fazını engelleyerek daha sonraki fazların oluşumunu geciktirmekte, granülasyon doku formasyonunu zayıflatmaktadır (84,85).

Biz de çalışmamızda, glukokortikoidlerin inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu engelleyerek, sitokin sentezini ve fagositozu azaltarak, protein sentezini inhibe ederek, neovaskülarizasyonu azaltarak ve granülasyon dokusunun oluşumunu geciktirerek kolon anastomozlarının iyileşmesini kötü yönde etkilemelerinden dolayı metilprednizolonu kullandık (84,85).

Gastrointestinal sistemde anastomoz iyileşmesi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda çeşitli maddelerin anastomoz iyileşmesi üzerine etkileri araştırılmıştır (86-96).

Probiotikler kullanılarak yapılan fazla sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda probiotiklerin enteropatojen organizmaların bağırsak duvarına invazyonunu engellediği (72,73), H.pylori infeksiyonunun tedavisine yardımcı olduğu, skatrisan aktivitesi olduğu (59), hepatik ensefalopatide klinik durumu düzeltebileceği (58), immün sistemi stimüle ettiği (63-65,70), antialerjik etkinliğe sahip olduğu (59,68,78), laktoz intoleransında kullanılabileceği (58,60,80), HIV+'lerde görülen diyare ve malabsorbsiyon ataklarının etkilerini azalttığı (59,83), tümör hücrelerinin büyümesini geciktirdiği (63), antineoplastik etkinlik gösterdiği saptanmıştır (76,77). Probiotiklerle yapılan yara iyileşmesi çalışmaları sınırlı sayıdadır. Yapılan bu çalışmalarda probiotiklerin granülasyon doku yapımını hızlandırdığı, yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği görülmüştür (16).

Kefir, kefir tanelerinin sütle fermentasyonu sonucunda oluşan, laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayaları barındıran doğal bir probiotiktir (16,56). İçindeki mikroorganizmaların direkt etkisi ve mikroorganizmalarca üretilen metabolitlerin indirekt etkisiyle etkilerini gösterebilir (57). Kefirin oral olarak uygulanmasından sonra kolonda hem IgA+ hem de IgG+ hücrelerde artış saptanır. Peyer plaklarındaki hücrelerden ve makrofajlardan sitokin salınımını artırır (64,65). Ayrıca serum sitokin seviyelerinde artış görülür. Kefirin oral verilmesi intestinal epitel bütünlüğünü, fonksiyonunu ve mukozal immün yanıtı artırmaktadır. Kefirin skatrisan aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Bu etkisinde neovaskülarizasyonu artırması, epitel granülasyonunu hızlandırması önemli rol oynamaktadır (16). Kefirin içerisinde bulunan laktik asit bakterileri hem homolitik hem de heterolitik fermentasyon gerçekleştirmektedir. Homolitik fermentasyonda glikolitik yol kullanılmakta, her glukoz molekülü için 2 mol ATP üretilmektedir. Heterolitik fermentasyonda pentoz fosfat yolu kullanılmakta, her glukoz molekülü için 1 mol ATP üretilmektedir. Kolonik epitel hücreleri enerji ihtiyaçlarının % 60-70'ini bakteriyel fermentasyon ürünlerinden

karşılarmaktadır. Probiotik içeriğindeki bakteriler kısa zincirli yağ asitleri üretmektedirler. Kısa zincirli yağ asitleri kolon epitelyal hücreleri tarafından emildikten sonra, epitel hücrelerinin su ve elektrolit absorpsiyonunu stimüle etmekte, dolayısıyla epitelyal hücrelerin proliferasyonunu sağlamaktadır (98). Dolayısıyla glukokortikoid verilerek bozulan yara iyileşmesi basamaklarında düzelme sağlaması olasıdır.

Bu çalışmada kefirin makrofaj aktivasyonu yaparak, sitokin sentezini artırarak (64,65), neovaskülarizasyonu stimüle ederek, granülasyon dokusunun gelişimini hızlandırarak, kısa zincirli yağ asitlerinin üretimiyle epitelyal hücrelerin proliferasyonuna katkı sağlayarak, fermentasyon ürünlerinin üretimiyle epitelyal hücrelerin enerji ihtiyaçlarını karşılayarak kolon anastomozları üzerinde iyileştirici etkisi olduğu düşünülmüş ve kullanılmıştır (98).

Gastrointestinal sistemde yara iyileşmesini değerlendirmek için iki temel yöntem anastomoz gücünün ve anastomotik bölgede kollajen depozisyonunun ölçülmesidir. Anastomoz gücünün ölçülmesinde longitudinal ayrılma kuvveti ve anastomoz patlama basıncı kullanılabilir. Longitudinal ayrılma kuvveti anastomotik bölgeyi içeren kolon segmentinin her iki ucundan tutularak çekilmesi ve anastomotik bölge ayrılana kadar uygulanan kuvvetin ölçülmesine dayanır. Bu methodun dezavantajı sirküler yönde kuvvet uygulanmaması dolayısıyla kolon duvarının tamamına eşit güç uygulanmamasıdır. Anastomoz patlama basıncı lümen içerisine kanül yerleştirilerek her iki ucun bağlanmasından sonra sabit hızda sıvı infüzyonu yapılarak anastomotik bölgenin patlaması esasına dayanır. Bu methodda kolon duvarına hem sirküler hem de longitudinal yönde kuvvet uygulandığı için elde edilen sonuçlar daha değerlidir. Kollajen depozisyonunu göstermek için en fazla kullanılan yöntem OH-prolin düzeylerinin çalışılmasıdır. Bu yüzden anastomoz patlama basıncı ve OH-prolin değerleri kefirin anastomoz iyileşmesine etkisini göstermek için kullanılmıştır (29,37).

Çalışmada S ve MP, S ve MP+K, MP ve MP+K grupları OH-prolin seviyeleri açısından karşılaştırılmış, karşılaştırılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Çalışmada S ve MP, S ve MP+K, MP ve MP+K grupları anastomoz patlama basıncı değerleri açısından karşılaştırılmış, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş, S grubundaki değerlerin diğer iki gruptan da yüksek olduğu, MP+K grubundaki değerlerin de MP grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmada S ve MP, S ve MP+K, MP ve MP+K grupları yaş ağırlık değerleri açısından karşılaştırılmış, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş, S

grubundaki değerlerin diğer iki gruptan da yüksek olduğu, MP+K grubundaki değerlerin de MP grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmada S ve MP, S ve MP+K, MP ve MP+K grupları kuru ağırlık değerleri açısından karşılaştırılmış, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş, sham grubundaki değerlerin diğer iki gruptan da yüksek olduğu, MP+K grubundaki değerlerin de MP grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Çalışmada S ve MP, S ve MP+K, MP ve MP+K grupları su yüzdesi değerleri açısından karşılaştırılmış, sham grubu ile diğer iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş, MP ve MP+K grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. S grubundaki değerlerin diğer iki gruba göre daha düşük olduğu görülmüştür.

Dolayısıyla yapılan çalışmada kefirin OH-prolin seviyelerini değiştirmeden anastomoz patlama basıncını artırdığı görülmüştür.

Gastrointestinal sistemde anastomotik iyileşmede kollajenin miktarı önemli rol oynamakla birlikte kollajenin kalitesi ve kollajen çapraz bağlanması da önemlidir (29,37). Submukozal tabakanın biyokimyasal analizi yapıldığında %68 oranında tip I kollajen, % 20 oranında tip III kollajen ve % 12 oranında tip V kollajen içerdiği görülmüştür (20,22,29). Yara iyileşmesinin proliferatif fazında fibroblastlar tarafından tip III kollajen retimektedir. Tip III kollajen ise yara iyileşmesinin remodelling fazında yıkılıp tip I kollajen ile replase edilmektedir. Tip III kollajenin yıkımında makrofajlar, fibroblastlar ve endotelyal hücreler tarafından sekrete edilen matriks metalloproteinazlar görev alır (20,21). Kefirin makrofajları aktive ettiği bilimektedir (64,65,70). Dolayısıyla kefirin kollajen dönüşümünü artırdığı düşünülebilir. Bunu göstermek için kollajen subtiplerinin oranları çalışılabilir. Kollajen apraz bağlanmasının derecesinin ölçümü de anastomotik iyileşme için önemli faktörlerdendir. Kollajenin nötral solventlerde çözünmesi az oranda çapraz bağlanmayı, asit solventlerde çözünmesi orta derecede çapraz bağlanmayı, solventlerde çözünmemesi yüksek oranda çapraz bağlanmayı göstermektedir (29,37). Lizil oksidaz enzimi kollajenin yapısındaki lizin ve hidroksilizini oksitleyerek çapraz bağlar oluşturmaktadır. Lizil oksidaz enziminin kofaktörü ise bakırdır. Kefir içeriğinde de bakır bulunmaktadır. Dolayısıyla kefirin lizil oksidaz enzim aktivitesini artırdığı düşünülebilir.

Anastomotik bütünlüğün sağlanması kollajen sentezi kadar fibronektin laminin gibi ekstraselüler matriksin yapımında görev alan nonkollajen proteinlerin sentezi de önemlidir. Fibronektin, laminin düzeyleri çalışılarak kefirin nonkollajen

protein sentezi üzerine etkisi gösterilebilir. Granülasyon dokusu doku hasarından sonraki 4. günden itibaren yapılmaya başlanır ve bu safhada makrofajlardan growth faktörler salgılanır (20,21). Peritoneal makrofajların fonksiyonunun azalması anastomoz iyileşmesini zayıflatmaktadır. Anastomotik alandaki makrofajların azalması yara iyileşmesini bozan en önemli faktördür (26,32-34). Kefirin makrofajları aktive ettiği bilindiğine göre ekstraselüler matriksin yapımını artırdığı düşünülebilir. Yeni kan damarlarının oluşumu ve granülasyon dokusunun devamı için, dolayısıyla yara iyileşmesinin proliferatif fazının tamamlanabilmesi için proanjiogenetik faktörler gereklidir. Proanjiogenetik faktörler ise makrofajlardan salgılanır (20). Kefir makrofaj stimülasyonu yaparak bu etkiye katkıda bulunabilir.

Vinderola ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel çalışmada farelere 2, 5, 7 günlük sürelerle pastörize ve nonpastörize kefir verilmiş, çeşitli sitokinlerin değerlerine bakılmıştır. Bu çalışmada pastörize kefirin IgA+ hücrelerde daha fazla artışa neden olduğu görülmüştür. Ayrıca kefirin sitokin seviyelerinde sham grubuna göre önemli derecede artışa neden olduğu tesbit edilmiştir (70).

Yine Vinderola ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada kefir 2, 5, 7 günlük sürelerle verilmiş, bu çalışmada da sitokin seviyelerinde artış saptanmış ve bu artış makrofaj aktivasyonuna bağlanmıştır (64).

Perdigon ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus bulgaricus* verilen farelerde makrofaj aktivasyonu olduğu görülmüştür (65).

Gastrointestinal sistemde düz kas hücrelerinin de kollajen yapımında görev aldığı bilinmektedir (22). Düz kas hücre proliferasyon düzeyleri gösterilerek kollajen sentezine katkısının nasıl etkilendiği gösterilebilir.

Bu çalışmada kefirin steroid verilerek bağışıklık sistemi bozulan ratlarda kolon anastomoz iyileşmesine etkisi incelenmiş ve kefirin metilprednizolon etkisi altındaki anastomozda, OH-prolin düzeylerini değiştirmeden anastomoz patlama basıncı değerlerini MP+K grubunda MP grubuna göre daha üst düzeylere çıkardığı görülmüştür. Metilprednizolon verilerek bozulan anastomoz iyileşmesinin inflamatuvar fazının ve dolayısıyla oluşumu geciken ve bozulan granülasyon dokusunun kefir verilmesi ile makrofaj aktivasyonu oluşturularak düzeldiği ve devamlılığının sağlandığı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada kefirin steroid verilerek bağışıklık sistemi bozulan ratlarda kolon anastomoz iyileşmesine etkisi incelenmiş ve kefirin metilprednizolon etkisi altındaki anastomozda OH-prolin düzeylerini değiştirmeden anastomoz patlama basıncı değerlerini MP+K grubunda MP grubuna göre daha üst düzeylere çıkardığı görülmüştür. Metilprednizolon verilerek bozulan anastomoz iyileşmesinin inflamatuvar fazının ve dolayısıyla oluşumu geciken ve bozulan granülasyon dokusunun kefir verilmesi ile makrofaj aktivasyonu oluşturularak düzeldiği ve devamlılığının sağlandığı düşünülmektedir.

Granülasyon dokusunun yapısını oluşturan hücrelerin ve matriks proteinlerinin ölçülmesi, ayrıca kollajen subtiplerinin oranları ortaya konularak kefirin iyileşmekte olan anastomozu nasıl etkilediğinin başka çalışmalarla ortaya konulması gereklidir.

7. REFERANSLAR

- 1- Platell C, Barwood N, Dorfmann G, Makin G. The incidence of anastomotic leaks in patients undergoing colorectal surgery. *Colorectal Disease* 2006;9: 71-79.
- 2- Jex RK, van Heerden JA, Wolff BG, Ready RL, Ilstrup DM. Gastrointestinal anastomoses. Factors affecting early complications. *Ann Surg.* 1987 Aug;206(2):138-41.
- 3- Mäkelä JT, Kiviniemi HO, Laitinen ST. Elective surgery for recurrent diverticulitis. *Hepatogastroenterology.* 2007 Jul-Aug;54(77):1412-6.
- 4- Killingback M, Barron P, Dent O. Elective resection and anastomosis for colorectal cancer: a prospective audit of mortality and morbidity 1976-1998. *ANZ J Surg.* 2002 Oct;72(10):689-98.
- 5- Konishi T, Watanabe T, Kishimoto J, Nagawa H. Risk factors for anastomotic leakage after surgery for colorectal cancer: results of prospective surveillance. *J Am Coll Surg.* 2006 Mar;202(3):439-44. Epub 2006 Jan 4.
- 6- Vignali A, Fazio VW, Lavery IC, Milsom JW, Church JM, Hull TL, Strong SA, Oakley JR. Factors associated with the occurrence of leaks in stapled rectal anastomoses: a review of 1,014 patients. *J Am Coll Surg.* 1997 Aug;185(2):105-13.
- 7- Lipska MA, Bissett IP, Parry BR, Merrie AE. Anastomotic leakage after lower gastrointestinal anastomosis: men are at a higher risk. *ANZ J Surg.* 2006 Jul;76(7):579-85.
- 8- Nicksa GA, Dring RV, Johnson KH, Sardella WV, Vignati PV, Cohen JL. Anastomotic leaks: what is the best diagnostic imaging study? *Dis Colon Rectum.* 2007 Feb;50(2):197-203.
- 9- Hyman N, Manchester TL, Osler T, Burns B, Cataldo PA. Anastomotic leaks after intestinal anastomosis: it's later than you think. *Ann Surg.* 2007 Feb;245(2):254-8.
- 10- Alves A, Panis Y, Pocard M, Regimbeau JM, Valleur P. Management of anastomotic leakage after nondiverted large bowel resection. *J Am Coll Surg.* 1999 Dec;189(6):554-9.
- 11- Rullier E, Laurent C, Garrelon JL, Michel P, Saric J, Parneix M. Risk factors for anastomotic leakage after resection of rectal cancer. *Br J Surg.* 1998 Mar;85(3):355-8.
- 12- Bell SW, Walker KG, Rickard MJ, Sinclair G, Dent OF, Chapuis PH, Bokey EL. Anastomotic leakage after curative anterior resection results in a higher prevalence of local recurrence. *Br J Surg.* 2003 Oct;90(10):1261-6.

- 13- Branagan G, Finnis D; Wessex Colorectal Cancer Audit Working Group. Prognosis after anastomotic leakage in colorectal surgery. *Dis Colon Rectum*. 2005 May;48(5):1021-6.
- 14- Petersen S, Freitag M, Hellmich G, Ludwig K. Anastomotic leakage: impact on local recurrence and survival in surgery of colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 1998;13(4):160-3.
- 15- Schwartz S, Sires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC. Wound healing. *Principles of Surgery* 2005;8:223-248
- 16- Rodrigues KL, Caputo LR, Carvalho JC, Evangelista J, Schneedorf JM. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 May;25(5):404-8.
- 17- Gupta A, Jain GK, Raghubir R. A time course study for the development of an immunocompromised wound model, using hydrocortisone. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 1999 Aug;41(4):183-7.
- 18- Cotlar AM. Historical landmarks in operations on the colon--surgeons courageous. *Curr Surg*. 2002 Jan-Feb;59(1):91-5.
- 19- Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. Wound Healing. *Sabiston Textbook of Surgery* 2004;1(8):183-207
- 20- Thorne CH, Beasley RW, Aston SJ, Bartlett SP, Gurtner GC, Spear SL. Wound Healing: Normal and Abnormal. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* 2007;1(2):15-22
- 21- Clark RA. Basics of cutaneous wound repair. *J Dermatol Surg Oncol*. 1993 Aug;19(8):693-706.
- 22- Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am*. 1997 Jun;77(3):549-73.
- 23- Hesp WL, Hendriks T, Schillings PH, Lubbers EJ, de Boer HH. Histological features of wound repair: a comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Br J Exp Pathol*. 1985 Oct;66(5):511-8.
- 24- Hesp FL, Hendriks T, Lubbers EJ, deBoer HH. Wound healing in the intestinal wall. A comparison between experimental ileal and colonic anastomoses. *Dis Colon Rectum*. 1984 Feb;27(2):99-104.
- 25- Form DM, Pratt BM, Madri JA. Endothelial cell proliferation during angiogenesis. In vitro modulation by basement membrane components. *Lab Invest*. 1986 Nov;55(5):521-30.

- 26- Hendriks T, Vereecken TH, Hesp WL, Schillings PH, de Boer HH. Loss of collagen from experimental intestinal anastomoses: early events. *Exp Mol Pathol.* 1985 Jun;42(3):411-8.
- 27- Martens MF, Hendriks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut.* 1991 Dec;32(12):1482-7.
- 28- Herrmann JB, Woodward SC, Pulaski EJ. Healing of colonic anastomoses in the rat. *Surg Gynecol Obstet.* 1964 Aug;119:269-75.
- 29- Hendriks T, Mastboom WJ. Healing of experimental intestinal anastomoses. Parameters for repair. *Dis Colon Rectum.* 1990 Oct;33(10):891-901.
- 30- Brasken P, Lehto M, Renvall S. Changes in the connective tissue composition of the submucosal layer of colonic anastomosis. An immunohistologic study in rats. *Acta Chir Scand.* 1989 Aug;155(8):413-9.
- 31- Franzén L, Ghassemifar R, Schultz G. Specific binding of EGF in connective tissue repair. *Eur J Cell Biol.* 1993 Apr;60(2):346-50.
- 32- Cetinkaya K, Dinc S, Gulcelik MA, Renda N, Ustun H, Caydere M, Alagol H. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor improves impaired anastomotic wound healing in rats treated with intraperitoneal mitomycin-C. *Surg Today.* 2005;35(4):290-4.
- 33- Mastboom WJ, Hendriks T, de Boer HH. Collagen changes around intestinal anastomoses in germ-free rats. *Br J Surg.* 1989 Aug;76(8):797-801.
- 34- Shirafuji T, Oka T, Sawada T, Tamura K, Kishimoto K, Yamamoto S, Nagayasu T, Takahashi T, Ayabe H. The importance of peripheral blood leukocytes and macrophage infiltration on bronchial wall wound healing in rats treated preoperatively with anticancer agents. *Surg Today.* 2001;31(4):308-16.
- 35- Chowcat NL, Savage FJ, Hembry RM, Boulos PB. Role of collagenase in colonic anastomoses: a reappraisal. *Br J Surg.* 1988 Apr;75(4):330-4.
- 36- Matthiessen P, Hallböök O, Andersson M, Rutegård J, Sjö Dahl R. Risk factors for anastomotic leakage after anterior resection of the rectum. *Colorectal Dis.* 2004 Nov;6(6):462-9.
- 37- Koruda MJ, Rolandelli RH. Experimental studies on the healing of colonic anastomoses. *J Surg Res.* 1990 May;48(5):504-15.
- 38- Peeters KC, Tollenaar RA, Marijnen CA, Klein Kranenbarg E, Steup WH, Wiggers T, Rutten HJ, van de Velde CJ; Dutch Colorectal Cancer Group. Risk factors for

anastomotic failure after total mesorectal excision of rectal cancer. *Br J Surg.* 2005 Feb;92(2):211-6.

39- Furst MB, Stromberg BV, Blatchford GJ, Christensen MA, Thorson AG. Colonic anastomoses: bursting strength after corticosteroid treatment. *Dis Colon Rectum.* 1994 Jan;37(1):12-5.

40- Phillips JD, Kim CS, Fonkalsrud EW, Zeng H, Dindar H. Effects of chronic corticosteroids and vitamin A on the healing of intestinal anastomoses. *Am J Surg.* 1992 Jan;163(1):71-7.

41- Mastboom WJ, Hendriks T, de Man BM, de Boer HH. Influence of methylprednisolone on the healing of intestinal anastomoses in rats. *Br J Surg.* 1991 Jan;78(1):54-6.

42- Harvey W, Grahame R, Panayi GS. Effects of steroid hormones on human fibroblasts in vitro. I. Glucocorticoid action on cell growth and collagen synthesis. *Ann Rheum Dis.* 1974 Sep;33(5):437-41.

43- Eubanks TR, Greenberg JJ, Dobrin PB, Harford FJ, Gamelli RL. The effects of different corticosteroids on the healing colon anastomosis and cecum in a rat model. *Am Surg.* 1997 Mar;63(3):266-9.

44- Del Rio JV, Beck DE, Opelka FG. Chronic perioperative steroids and colonic anastomotic healing in rats. *J Surg Res.* 1996 Dec;66(2):138-42.

45- Ehrlich HP, Tarver H, Hunt TK. Effects of vitamin A and glucocorticoids upon inflammation and collagen synthesis. *Ann Surg.* 1973 Feb;177(2):222-7.

46- Cali RL, Smyrk TC, Blatchford GJ, Thorson AG, Christensen MA. Effect of prostaglandin E1 and steroid on healing colonic anastomoses. *Dis Colon Rectum.* 1993 Dec;36(12):1148-51.

47- Mantzoros I, Kanellos I, Demetriades H, Christoforidis E, Kanellos D, Pramateftakis MG, Zaraboukas T, Betsis D. Effects of steroid on the healing of colonic anastomoses in the rat. *Tech Coloproctol.* 2004 Nov;8 Suppl 1:s180-3.

48- Polat A, Nayci A, Polat G, Aksöyek S. Dexamethasone down-regulates endothelial expression of intercellular adhesion molecule and impairs the healing of bowel anastomoses. *Eur J Surg.* 2002;168(8-9):500-6.

49- Jones SC, Banks RE, Haidar A, Gearing AJ, Hemingway IK, Ibbotson SH, Dixon MF, Axon AT. Adhesion molecules in inflammatory bowel disease. *Gut.* 1995 May;36(5):724-30.

- 50- Sørensen LT, Jørgensen T, Kirkeby LT, Skovdal J, Vennits B, Wille-Jørgensen P. Smoking and alcohol abuse are major risk factors for anastomotic leakage in colorectal surgery. *Br J Surg*. 1999 Jul;86(7):927-31.
- 51- Isbister WH. Anastomotic leak in colorectal surgery: a single surgeon's experience. *ANZ J Surg*. 2001 Sep;71(9):516-20.
- 52- Collopy BT. Colorectal anastomotic leak rates are measures of technical skill in surgery. *ANZ J Surg*. 2001 Sep;71(9):508-10.
- 53- Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE. Factor contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg*. 1973 May;177(5):513-8.
- 54- Walker KG, Bell SW, Rickard MJ, Mehanna D, Dent OF, Chapuis PH, Bokey EL. Anastomotic leakage is predictive of diminished survival after potentially curative resection for colorectal cancer. *Ann Surg*. 2004 Aug;240(2):255-9.
- 55- Pickleman J, Watson W, Cunningham J, Fisher SG, Gamelli R. The failed gastrointestinal anastomosis: an inevitable catastrophe? *J Am Coll Surg*. 1999 May;188(5):473-82.
- 56- Otles S, Cagindi O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition* 2003;2(2):54-59
- 57- Vinderola G, Perdigon G, Duarte J, Farnworth E, Matar C. Effects of the oral administration of the products derived from milk fermentation by kefir microflora on immune stimulation. *J Dairy Res*. 2006 Nov;73(4):472-9. Epub 2006 Jul 7.
- 58- Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol*. 2006 Jun;100(6):1171-85.
- 59- Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev*. 2003 Oct;16(4):658-72.
- 60- Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut*. 1991 Apr;32(4):439-42.
- 61- Renner E, Renz-Schaven. *Nährwerttabellen für milch und milchprodukte*. Germany Verlag 1986
- 62- Garrote GL, Abraham AG, De Antoni GL. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *J Dairy Res*. 2001 Nov;68(4):639-52.
- 63- de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Farnworth E, Perdigon G. Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine*. 2006 Apr;34(1-2):1-8. Epub 2006 May 12.
- 64- Vinderola G, Perdigon G, Duarte J, Thangavel D, Farnworth E, Matar C. Effects of kefir fractions on innate immunity. *Immunobiology*. 2006;211(3):149-56.

- 65- Perdigon G, de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, de Ruiz Holgado AA. Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. *Infect Immun*. 1986 Aug;53(2):404-10.
- 66- Thoreux K, Schmucker DL. Kefir milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *J Nutr*. 2001 Mar;131(3):807-12.
- 67- de Moreno de LeBlanc A, Chaves S, Carmuega E, Weill R, Ant  ine J, Perdig  n G. Effect of long-term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. *Immunobiology*. 2008;213(2):97-108.
- 68- Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr*. 2000 Feb;130(2S Suppl):403S-409S.
- 69- Vinderola CG, Perdig  n G, Duarte J, Farnworth E, Matar C. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefir* on the gut mucosal immunity. *Cytokine*. 2006 Dec;36(5-6):254-60.
- 70- Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D, Perdig  n G, Farnworth E, Matar C. Immunomodulating capacity of kefir. *J Dairy Res*. 2005 May;72(2):195-202.
- 71- Matsumoto M, Hara K, Benno Y. The influence of the immunostimulation by bacterial cell components derived from altered large intestinal microbiota on probiotic anti-inflammatory benefits. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007 Apr;49(3):387-90.
- 72- Golowcycz MA, Mobili P, Garrote GL, Abraham AG, De Antoni GL. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Int J Food Microbiol*. 2007 Sep 30;118(3):264-73.
- 73- Bengmark S. Colonic food: pre- and probiotics. *Am J Gastroenterol*. 2000 Jan;95(1 Suppl):S5-7.
- 74- Gorbach SL. Probiotics and gastrointestinal health. *Am J Gastroenterol*. 2000 Jan;95(1 Suppl):S2-4.
- 75- Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr*. 2000 Feb;130(2S Suppl):396S-402S.
- 76- Brady LJ, Gallaher DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J Nutr*. 2000 Feb;130(2S Suppl):410S-414S.
- 77- Wollowski I, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. *Am J Clin Nutr*. 2001 Feb;73(2 Suppl):451S-455S.

- 78- Lee MY, Ahn KS, Kwon OK, Kim MJ, Kim MK, Lee IY, Oh SR, Lee HK. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. *Immunobiology*. 2007;212(8):647-54.
- 79- Fernández MF, Boris S, Barbés C. Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *J Appl Microbiol*. 2003;94(3):449-55.
- 80- Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeir J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr*. 2001 Feb;73(2 Suppl):430S-436S.
- 81- Campieri M, Gionchetti P. Probiotics in inflammatory bowel disease: new insight to pathogenesis or a possible therapeutic alternative? *Gastroenterology*. 1999 May;116(5):1246-9.
- 82- Macfarlane GT, Cummings JH. Probiotics, infection and immunity. *Curr Opin Infect Dis*. 2002 Oct;15(5):501-6.
- 83- Cunningham-Rundles S, Ahrné S, Bengmark S, Johann-Liang R, Marshall F, Metakis L, Califano C, Dunn AM, Grassey C, Hinds G, Cervia J. Probiotics and immune response. *Am J Gastroenterol*. 2000 Jan;95(1 Suppl):S22-5.
- 84- Kayaalp O. Kortikosteroidler, kortikosteroid antagonistleri ve ACTH. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji 2005;78:1079-1107
- 85- Bertram BG. Adrenocorticosteroids and adrenocortical antagonists. *Basic and Clinical Pharmacology* sixth edition;38:592-607
- 86- Seehofer D, Rayes N, Schiller R, Stockmann M, Müller AR, Schirmeier A, Schaeper F, Tullius SG, Bengmark S, Neuhaus P. Probiotics partly reverse increased bacterial translocation after simultaneous liver resection and colonic anastomosis in rats. *J Surg Res*. 2004 Apr;117(2):262-71.
- 87- Ishimura K, Moroguchi A, Okano K, Maeba T, Maeta H. Local expression of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 on wound healing of intestinal anastomosis during endotoxemia in mice. *J Surg Res*. 2002 Nov;108(1):91-7.
- 88- Migaly J, Lieberman J, Long W, Fisher C, Rolandelli RH. Effect of adenoviral-mediated transfer of transforming growth factor-beta1 on colonic anastomotic healing. *Dis Colon Rectum*. 2004 Oct;47(10):1699-705.
- 89- de Hingh IH, Siemonsma MA, de Man BM, Lomme RM, Hendriks T. The matrix metalloproteinase inhibitor BB-94 improves the strength of intestinal anastomoses in the rat. *Int J Colorectal Dis*. 2002 Sep;17(5):348-54.

- 90- Topçu O, Karaday K, Kuzu MA, Ulukent S, Erkek B, Alaçayır I. Enteral and intraluminal short-chain fatty acids improves ischemic left colonic anastomotic healing in the rat. *Int J Colorectal Dis.* 2002 May;17(3):171-6.
- 91- Sakallıoglu AE, Yagmurlu A, Dindar H, Hasirci N, Renda N, Deveci MS. Sustained local application of low-dose epidermal growth factor on steroid-inhibited colonic wound healing. *J Pediatr Surg.* 2004 Apr;39(4):591-5.
- 92- Erdem E, Dinç S, Erdem D, Ustün H, Caydere M, Alagöl H. Effects of intraperitoneal chemotherapy and GM-CSF on anastomotic healing: an experimental study in rats. *J Surg Res.* 2002 Nov;108(1):1-6.
- 93- Kanellos I, Mantzoros I, Demetriades H, Kalfadis S, Kelpis T, Sakkas L, Betsis D. Healing of colon anastomoses covered with fibrin glue after immediate postoperative intraperitoneal administration of 5-fluorouracil. *Dis Colon Rectum.* 2004 Apr;47(4):510-5. Epub 2004 Feb 26.
- 94- Efron DT, Most D, Shi HP, Tantry US, Barbul A. Modulation of growth factor and cytokine expression by nitric oxide during rat colon anastomotic healing. *J Gastrointest Surg.* 2003 Mar-Apr;7(3):393-9.
- 95- Witte MB, Vogt N, Stuelten C, Gotoh T, Mori M, Becker HD. Arginase acts as an alternative pathway of L-arginine metabolism in experimental colon anastomosis. *J Gastrointest Surg.* 2003 Mar-Apr;7(3):378-85.
- 96- Kiyama T, Tajiri T, Tokunaga A, Yoshiyuki T, Barbul A. Tacrolimus enhances colon anastomotic healing in rats. *Wound Repair Regen.* 2002 Sep-Oct;10(5):308-13.
- 97- Bergman I, Loxley R. New spectrophotometric method for the determination of proline in tissue hydrolyzates. *Anal Chem.* 1970 Jun;42(7):702-6.
- 98- Chichlowski M, Croom J, McBride BW, Havenstien GB, Koci MD. Metabolic and physiological impact of probiotics or direct-fed-microbials on poultry: A brief review of current knowledge. *International Journal of poultry Science* 007;6(10):694-704