

**TC.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KARIN İÇİ YAPIŞIKLIK MODELİNDE  
AKTİVE PROTEİN C'NİN KARIN İÇİ  
YAPIŞIKLIK ÜZERİNE ETKİLERİ**

**DR. METEHAN APAYDIN**

**UZMANLIK TEZİ**

**KIRIKKALE**

**2010**



**TC.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL KARIN İÇİ YAPIŞIKLIK MODELİNDE  
AKTİVE PROTEİN C'NİN KARIN İÇİ  
YAPIŞIKLIK ÜZERİNE ETKİLERİ**

**DR. METEHAN APAYDIN**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**YRD. DOÇ. DR. KUZEY AYDINURAZ**

**KIRIKKALE**

**2010**

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

Genel Cerrahi Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/12/2010

Prof.Dr. H.Fatih Ağalar

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi AD. Başkanı

Jüri Başkanı

Doç.Dr. Oral SAYGUN

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi AD.

Üye

Yrd.Doç.Dr. Kuzey AYDINURAZ

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi AD.

Üye

## TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimim süresince cerrahinin teorik ve pratik temel prensiplerini öğreten, sabır, hoşgörülerini ile beni iyi ve doğru bir cerrah olmam yönünde teşvik eden çok değerli hocalarım; Başta Prof. Dr. Fatih AĞALAR olmak üzere Prof. Dr. Çağatay Erden DAPHAN, Doç. Dr. Oral SAYGUN, Yrd. Doç. Dr. Kuzey AYDINURAZ, Yrd. Doç. Dr. Şener BALAS ve Op. Dr. Sedat DÖM'e teşekkür eder, minnet ve saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan kaçınmayan Prof. Dr. Canan AĞALAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık süresince klinikte birlikte çalıştığım başta Dr. İ. Tayfun ŞAHİNER olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, hastanemiz hemşire ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince bana vermiş oldukları destek, sevgi, saygıyla her zaman yanımda olan sevgili eşim Gülpınar Apaydın'a, kızlarım Begüm ile Aslıhan'a, anne ve babama sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Metehan APAYDIN

## ÖZET

**Apaydın M, deneysel karın içi yapışıklık modelinde Aktive Protein C'nin karın içi yapışıklık üzerine etkileri, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2010**

Karın ameliyatlarından sonra gelişen karın içi yapışıklıklar hem hasta hem de hekim açısından önemli bir sorun oluşturur. Karın içinde gelişen bu yapışıklıklar hasta konforunu bozan karın ağrısı ve bulantı gibi bulgular yaratabileceği gibi, ameliyat gerektiren daha ciddi tıkanıklara neden olarak yüksek maliyet, iş gücü kaybı, morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Yapışıklık oluşumundan sorumlu olan başlıca mekanizmalardan biri de yetersiz fibrinolitik aktivitedir. Aktive Protein C (APC) PAI-1'i inaktive, TAFI'ü inhibe ederek, tPA'ü dolayısıyla fibrinolizi artırır. Bu çalışmada PAI-1 düzeyini inhibe ederek, tPA düzeyini dolayısı ile de fibrinolizi artıran APC'nin karın içi yapışıklara etkisi araştırıldı. Çalışma her biri 15 rattan oluşan 3 grupta yürütüldü (sham, kontrol, APC). Tüm gruplardaki ratlara aseptik koşullarda median laparotomi yapıp visseral peritonda serozal hasar meydana getirildi. Sham grubundaki ratlara ek bir işlem yapılmazken, kontrol grubundaki ratlara ek olarak intraperitoneal 5 cc SF verildi. APC grubundaki ratlara ise 100 µg/kg dozunda APC intraperitoneal olarak uygulandı. Tüm gruplardaki ratlardan 0.saat ve postoperatif 2. saat kan numunesi alınıp serum PAI-1 düzeyleri çalışıldı. Tüm ratlar postoperatif 21. günde sakrifiye edilerek, karın içi yapışıklıklar makroskopik olarak değerlendirildi. Kan PAI-1 düzeyleri ve karın içi yapışıklar istatistiksel olarak Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi kullanılarak SPSS programı ile değerlendirildi. Aktive Protein C'nin intraperitoneal uygulanmasından sonra yapışıklıkların anlamlı derecede azaldığı görüldü (p<0.05). Deneklerden alınan kan numunelerinde APC grubunun PAI-1 düzeylerinin diğer gruplara nazaran anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi (p<0.05). APC'nin bu etkileri PAI-1'i azaltarak dolayısı ile de fibrinolizi artırarak oluşturduğu düşünülmüştür. APC'nin karın içi yapışıklıkları engelleme mekanizmasının daha iyi anlaşılması için daha kapsamlı deneysel ve klinik araştırmalar gereklidir.

**Anahtar Kelimeler: Aktive Protein C, plazminojen aktivatör inhibitör, PAI-1, karın içi yapışıklık, rat.**

## ABSTRACT

### **The Effect of Activated Protein C on Intraabdominal Adhesion Formation In An Experimental Intraabdominal Adhesion Model, Kırıkkale University Medical Faculty, Department of General Surgery, Speciality Thesis, Kırıkkale, 2010**

Intraabdominal adhesion formation after abdominal surgery is an important issue for both the patients and the surgeons. These adhesions may result in wide spectrum of complaints ranging from abdominal discomfort, pain, nausea, vomiting to severe intestinal obstruction requiring emergent surgery with increased health costs, morbidity and mortality. Inadequate fibrinolytic activity is one of the major mechanisms responsible for intraabdominal adhesions. Activated protein C (APC) increases fibrinolysis via increasing TPA (Tissue plasminogen activator) by inactivating plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and inhibiting thrombin activator fibrinolysis inhibitor (TAFI). The effects of APC on intraabdominal adhesion formation was searched in this experimental study. The study was conducted in three groups consisting of 15 rats each (n=45). Peritoneal serosal injuries were created in all groups after median laparotomy under aseptic conditions. Intraperitoneal physiologic saline and intraperitoneal APC were administered to control group and to APC group respectively. Sham group received nothing intraperitoneally. Serum PAI-1 levels were measured from the samples taken at 0 and 2th postoperative hours. All subjects were sacrificed at 21th postoperative day and intraabdominal adhesions were examined macroscopically. Degree of adhesions were observed to be significantly lower in intraperitoneal APC administered group. In addition, measured PAI-1 levels in APC group were significantly lower than sham and control groups ( $p<0.05$ ). APC increases fibrinolysis which prevents intraabdominal adhesion formation, by inhibiting PAI-1. More detailed experimental and clinical studies are needed to further understand the mechanisms of action of APC in the prevention of intraabdominal adhesions.

**Key Words: Activated Protein C, Plasminogen Activator Inhibitor, Adhesion, Rat, Intraabdominal Adhesions, PAI-1**

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
TABLolar ve RESİMLER	xi
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periton Fizyolojisi	4
2.2. Peritoneal İyileşme-Yapışıklık Oluşumu	4
2.3. Peritoneal Yapışıklık Oluşumunun Engellenmesi	7
2.4. Hemostaz	11
2.4.1.Primer Hemostaz	
2.4.2.Koagülasyon Sistemi	
2.4.3.Fibrinolitik Sistem	
2.5. Aktive Protein C	16
3.GEREÇ-YÖNTEM	19
3.1. Anestezi Uygulama	19
3.2. Kan Örneği Alımı ve Biyokimyasal Ölçümler	19
3.3. Cerrahi Girişim ve İlaç Kullanımı	20
3.4. Karın İçi Yapışıklıkların Değerlendirilmesi	23
3.5. İstatistiksel Analiz	24



4.BULGULAR	25
4.1. Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 Düzeyleri	25
4.2. Karın İçi Yapışıklıkların Değerlendirilmesi	27
5.TARTIŞMA	31
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	35
7.KAYNAKLAR	36

**KISALTMALAR**

ADP: Adenosin Difosfat

APACHE: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation

APC: Aktive Protein C

ATP: Adenosin Trifosfat

DA: Drotrecogin Alfa

DIC: Dissemine İntravasküler Koagülasyon

EPCR: Endotelyal Hücre Protein C Reseptörü

FDA: Food and Drug Administration

FV: Faktör V

FVIII: Faktör VIII

ICAM-1:İnterselüler Adhezyon Molekülü-1

IL: İnterlökin

KD: Kilodalton

NF-kB: Nükleer Faktör Kappa B

PAA: Plazminojen Aktivatör Aktivitesi

PAF: Platelet Aktive Edici Faktör

PAI: Plazminojen Aktivatör İnhibitör

PC: Protein C

PGE: Prostaglandin E

R-tPA: Rekombinant Doku Plazminojen Aktivatörü

TAFI: Trombinle Aktive Edilen Fibrinoliz İnhibitörü

TF: Doku Faktörü

TFPI: Doku Faktör Yolu İnhibitörü

TNF $\alpha$ : Tümör Nekroze Edici Faktör-Alfa

t-PA: Doku Plazminojen Aktivatörü

u-PA: Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü

VCAM-2: Vasküler Cell Adhezyon Molekülü-2

vWF: Von Willebrand Faktör

$\mu$ g: Mikrogram

**TABLULAR ve RESİMLER****TABLULAR LİSTESİ****Sayfa No**

Tablo 3.1. Modifiye Diamond Skalası	24
Tablo 4.1. Sham Grubu Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri	25
Tablo 4.2. Kontrol Grubu Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri	26
Tablo 4.3. APC Grubu Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri	26
Tablo 4.4. Modifiye Diamond Skalasına Göre Sham Grubu Adezyon Skorları	27
Tablo 4.5. Modifiye Diamond Skalasına Göre Kontrol Grubu Adezyon Skorları	28
Tablo 4.6. Modifiye Diamond Skalasına Göre APC Grubu Adezyon Skorları	29

**RESİMLER LİSTESİ**

Resim 3.1.Rat Kuyruk Veninden Kan Örneklerinin Toplanması	20
Resim 3.2. Orta Hat Laparatomisi	21
Resim 3.3.Serozal Hasarlanma	22
Resim 3.4.Karın Kapatılması	23
Resim 4.1.Sham Grubu Karın İçi Yapışıklık	28
Resim 4.2.Kontrol Grubu Karın İçi Yapışıklık	29
Resim 4.3.APC Grubu Karın İçi Yapışıklık	30

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Karın ameliyatlarından sonra gelişen karın içi yapışıklıklar hem hasta hem de hekim açısından önemli bir sorun olmaktadır [1]. Karın içi yapışıklıklar ameliyat sonrası gelişen mekanik obstrüksiyonun en önemli nedenleri arasında yer almaktadır [2-4]. Karın içi organlarda gelişen bu adezyonlar hasta konforunu bozan ağrı, bulantı gibi bulgular yaratabileceği gibi ameliyat gerektiren daha ciddi tıkanıklara neden olarak yüksek maliyet, iş gücü kaybı, morbidite ve mortaliteyle sonuçlanır [3-4].

Karın ameliyatları sonrası yapışıklık oluşumunda birçok faktör rol oynar [2]. Bunların en başında ameliyat esnasında yapılan cerrahi manipülasyonlar, kaba ve kötü cerrahi teknik gelir [3, 5]. Bunların yanı sıra ameliyat esnasında karın içi organlarda gelişen doku hasarı ve iskemisi, vasküler yaralanma, peritoneal-serozal yüzeylerin yaralanması, yabancı cisimlerin karın içinde bırakılması, yetersiz kanama kontrolü, kimyasal-termal reaksiyonlar, peritoneal endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık, peritonit ve intra-peritoneal serbest kan, pıhtı varlığı karın içi yapışıklıkları artıran faktörlerdir [2, 5].

Karın içi yapışıklığın mekanizması incelendiğinde aslında normal iyileşme sürecinin bir varyantı olduğu görülür. Yapışıklık oluşumundaki temel sorun peritoneal iyileşme esnasında özellikle fibrinolitik sistemin yetersiz kalmasıdır [2, 6, 7]. Fibrinolitik aktivitenin inhibisyonu sonucunda lökosit ve peritoneal kaynaklı enzimler fibrinöz eksudayı çözmede yetersiz kalırsa, fibröz yapışıklıklar ilerleyerek fibröz ağ örgüsüne dönüşür [2-7]. Sonuçta oluşan bu fibröz ağ örgüsü, fibrositlerin göçü ve kollajen birikimi ile daha da büyüyerek kapillerlerin regresyonu ve fibroblastların alanı doldurmasıyla fibröz adezyonlara dönüşür ve sonuçta kalıcı yapışıklık oluşur [2-7].

Yetersiz fibrinolitik aktivitenin birçok nedeni vardır. Cerrahi travma plazminojen aktivatör (PA) aktivitesini azaltırken, plazminojen aktivatör inhibitör (PAİ) aktivitesini artırarak yapışıklık oluşumuna predispozan etki yapar [2, 7]. Normal iyileşme sürecinde doku hasarına cevap olarak oluşan plazminojen aktivatör aktivitesinin (PAA) düzeyi, başlangıçta fibrinöz yapıda olan yapışıklıkların rezorbe mi olacağını ya da organize- kalıcı olacağını belirlemektedir [2-3, 7].

Drotrecogin alfa (DA) insan kökenli aktive protein C (APC)'nin rekombinant yapıdaki bir formudur [8, 64]. Aminoasit dizilimi insan APC'si ile aynıdır ve yaklaşık 55 kilo dalton molekül ağırlığındadır [64].

Protein C vücutta zimojen (inaktive) formda bulunur. Dolaşım sisteminde, hemostaz ve inflamasyonun regülasyonunda önemli rol oynar. Kanda yaklaşık 4µg/ml konsantrasyonda bulunur [8].

Aktive Protein C koagülasyon faktörlerinden FaktörVa (FVa) ve FaktörVIIIa (FVIIIa)'yı inhibe ederek antikoagulan etki gösterir. Protein S, Protein C'nin kofaktörüdür [14-15].

Dolaşım sisteminde trombin, trombomodulin etkileşimi ile trombin-trombomodulin kompleksi oluşur. Endotelial hücre PC reseptörü ile kompleksin birleşimi sonucunda inaktive formdaki PC aktive forma dönüşür [8, 11]. Trombomodulin ile bağlanan trombin etkisizleşir, fibrinojeni fibrine dönüştüremez. Koagülan aktivite tamamlanamaz ve trombinin trombosit aktivasyonu dolayısı ile tromboz önlenir [12-13]. APC doku faktörünü inhibe eder ve koagülasyonu azaltır [8, 10-11].

APC indirekt olarak profibrinolitikdir. APC plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)'i inaktive, trombin aktivatör fibrinolizis inhibitör (TAFI)'ü inhibe ederek TPA (tissue plasminogen activator) düzeyini ve fibrinolizisi artırır [10, 14].

APC'nin önemli özelliklerinden biri de antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileridir [8,15]. Protein C, Aktive Protein C'ye dönüştüğünde, trombin inhibe edilir ve trombin yoluyla oluşan inflamatuvar etkiler önlenmiş olur [13, 15]. APC inflamatuvar sitokin yapımını (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10) ve nötrofil aktivasyonunu önler, direkt olarak kemotaksisi inhibe eder [9, 13, 15]. Endotel hücresinde bulunan adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) sentezini önleyerek antiinflamatuvar etkiye katkıda bulunur [13-15].

APC'nin endotel hücre bariyer fonksiyonunu koruyucu (sitoprotektif) etkisi de bulunur [13-15]. APC antiapoptotik etkilidir. Bu etkiyi endotelial protein C reseptör (EPCR)-protease-aktive reseptör 1 (PAR-1) bağımlı yolla ve antiapoptotik

genlerin sentezini artırıp, pro-apoptotik genlerin sentezini azaltarak yapar [13-15]. APC ayrıca NF-kB sentezini azaltarak antiinflamatuvar ve antiapoptotik etki gösterir [13-15]. Nükleer faktör kappa B (NF-kB) proinflamatuvar gen oluşumunda, apoptozisde ve trombin kaynaklı inflamatuvar sistemde görev alır [13-15].

Bu çalışmada Aktive Protein C'nin karın içi yapışıklıklara etkisi araştırılmıştır.

## **2.GENEL BİLGİLER**

### **2.1. PERİTON FİZYOLOJİSİ**

Periton, embriyonun mezodermal tabakasından gelişen, kan damarları, kollajen, fibroblast, makrofaj, lenfosit ve mast hücrelerini içeren bir bağ dokusu ve bunun üzerine örten tek katlı mezotel hücre tabakasından oluşan, seröz yapıda bir membrandır. Periton parietal ve visseral olarak iki bölümden oluşur. Karın boşluğunu ve içindeki organların yüzeyini örter [2, 16].

Peritoneal, plevral ve perikardial kavite embriyolojik olarak benzer kökenlidir ve mesotelial hücrelerden oluşmaktadır [3, 17]. Erişkin insanlarda peritonun ortalama yüzeyi 1,8 m<sup>2</sup> olup yaklaşık olarak vücut yüzey alanına eşittir [16].

Peritonun yapısında ince bir film şeklinde seröz sıvı bulunmaktadır. Bu sıvı normal şartlarda 100 ml'den azdır ve içeriği temel olarak plasma ultrafiltratına benzer [16]. Peritoneal sıvı abdominal kavitede sürekli sirkülasyon halindedir ve lenfatik sisteme drene olur [3]. Peritoneal sıvı içerdiği makrofaj, mesotelial hücreler nedeniyle peritoneal iyileşmede aktif rol oynar [3]. Peritoneal kavite erkeklerde kapalı bir sistemdir. Bayanlarda ise fallop tüpleri aracılığıyla dış ortama açılır [16].

### **2.2. PERİTONEAL İYİLEŞME-YAPIŞIKLIK OLUŞUMU**

Karın içi yapışıklık oluşumu normal peritoneal iyileşme sürecinin bir varyantıdır. Bu süreç, peritonun travmaya uğraması ve hasarlanması ile başlar. Periton travması ve hasarlanmasına yol açan başlıca faktörler ameliyata bağlı travma, peritonun enfeksiyonları, yabancı cisimler, allerjik reaksiyonlar, kimyasal ve termal reaksiyonlardır [6].

Peritoneal zedelenme ve iskemiye sekonder olarak periton zarında hasarlanma meydana gelmesi sonucunda vasküler permeabilitede artma ile iyileşme süreci başlar. Vasküler permeabilite artışına yol açan vazoaaktif maddeler histamin, kininlerdir ve sıklıkla stromal mast hücrelerinden salgılanırlar [3].



Vasküler geçirgenliğin artışına bağı olarak peritoneal kavite içerisinde seroanginöz, proteinden zengin, inflamatuvar hücrelerin de bulunduğu fibrin matrisi oluşur. Bu inflamatuvar eksuda içerisinde peritoneal lökositler, mesotelial hücreler, makrofajlar yer alırlar [2–3].

Mesotelial hücreler, lökositler ve makrofajlardan salgılanan kemotaktif, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar maddeler sürecin şekillenmesinde rol oynarlar. Bu sitokinlerin başlıcaları IL–1, IL–6, IL–8, IL–10, TNF-alfa, IFN-gama dır [3, 17].

Peritoneal hasarlanma sonrasında mesotelial hücrelerden eşzamanlı olarak doku plazminojen aktivatör (TPA) ve plazminojen aktivatör inhibitör (PAI), intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), integrinler, hyalüronik asid, nitrik oksit ve prostaglandinler de salgılanırlar [17].

Düzgün ilerleyen bir peritoneal iyileşme-yapışıklık sürecinde oluşan fibrinöz yapı eritilir ve oluşan fibrin yıkım ürünleri absorbe edilir. Fibrinin tamamıyla yıkıldığı durumlarda iyileşme ile süreç tamamlanır. Fibrinin eritilemediği durumlarda fibrin kalıcı hale gelip organize olarak peritoneal yapışıklık ile süreç tamamlanır [2–3].

Peritoneal hasarlanma sonrası oluşan inflamatuvar hücrelerin aktiviteleri dinamik bir süreçtir. Hasarlanmanın ilk 1.–2. günü polimorfonükleer nötrofiller (PMNL) ortama hakimdir. Takiben monositler diferansiye olmaya başlayarak makrofajlar oluşur ve 3. günde peritoneal makrofajlar çoğunluğu oluşturmaya başlar, 4.–7. günlerde peritoneal yüzeyde mesotelial hücrelerin sayısı belirginleşir, 5.–7. günlerde fibroblastlar hasarlanma bölgesinde belirginleşen hücrelerdir [2–3, 17].

Peritoneal dokuda iyileşme tüm zar boyunca eş zamanlı başlar. Üç gün içerisinde bağ doku hücreleri hasarlanma bölgesini sarar, 5. günden sonra submezotelial hücrelerden köken alan mezotelial hücreler tek kat şeklinde peritoneal yarayı kapamış olur [2–3].

Postoperatif yapışıklık gelişimi kompleks etkileşimler ve biokimyasal faktörler sonucu inflamasyon, doku onarımı, angienez ve innervasyon gibi süreçlerin sonucudur [18–19].

Peritoneal hasarlanma sonrası eşzamanlı olarak inflamatuvar hücreler, proinflamatuvar sitokinler, kompleman ve koagulasyon kaskadı aktive olmakta ve bu faktörlerin etkileşimi sürecin gidiş yönünü belirlemektedir [19].

Peritoneal yapışıklık gelişiminde çeşitli vazoaktif aminlerin de önemli rolü bulunmaktadır. Mesotelial mast hücreleri peritoneal yaralanma sonrası yaralanma bölgesine göç ederek aktive olurlar ve histamin, serotonin, bradikinin salgırlar. Salgılanan bu vazoaktif aminlerin etkisiyle vazodilatasyon ve permeabilite artışı olur. Bunun sonucu olarak da fibrinojenden zengin sıvı hasarlanma bölgesine göç ederek peritoneal iyileşme-yapışıklık sürecine etki ederler [2, 6, 16].

Peritoneal yaralanma sonrası iyileşme ve yapışıklık gelişimi çoğunlukla zedelenme, iskemi inflamasyon, vasküler permeabilite artışı şeklinde ilerler. Diğer bir yol ise yaralanma sonrası kanama, koagulasyon sisteminin doku faktörü yoluyla aktive olması ve sonuçta fibrin oluşmasıdır. Bu iki yolda birbiri ile yakın etkileşim içinde, birbiri ile dengede ve eşzamanlı olarak görev alırlar [3.19].

Peritoneal fibrinolitik aktivite normalde peritoneal hasarlanmadan sonra aktive olmakta ve giderek işlevi artmaktadır. Fibrin matriksin eritilmesi için peritoneal fibrinolitik aktiviteye ihtiyaç vardır. Peritoneal iyileşme ve yapışıklık oluşumunda fibrinolitik sistem anahtar role sahiptir. Fibrinolitik sistemin asıl unsuru, plazmada inaktif formda bulunan plazminojenin fibrini eritmek üzere plazmin haline dönüşme sürecidir [17,19].

Fibrinolitik sistemin dengesini sağlamak için aktivatör ve inhibitör faktörler vardır.

Doku plazminojen aktivatör (tPA) ve ürokinaz plazminojen aktivatör (uPA) plazminojen aktivatör sistemleridir. TPA majör olarak peritoneal-mesotelial hücrelerden salgılanır.[17–19]

Bilinen majör inhibitör faktör plasminojen aktivatör inhibitördür (PAI). PAI direk olarak tPA ve uPA'e bağlanarak plasmin oluşumunu engeller. Cerrahi travma PA aktivitesini azaltırken, PAI aktivitesini artırarak yapışıklılık oluşumunda predispozan etki yapar. Yapılan deneysel hayvan modellerinde peritoneal yapışıklık

gelişiminde tPA ve PAI'ünün rolü gösterilmiş ve PAI sisteminin inhibisyonunun peritoneal yapışıklığı azalttığı anlaşılmıştır [17–20].

Tromboplastin kaynaklı fibrin üretimi ve PAA inhibitör aktivitesinin fazla olduğu durumlarda fibrinolizis tamamlanamaz. Fibrinolitik aktivitenin inhibisyonu sonucunda lökosit ve peritoneal kaynaklı enzimler fibrinöz eksudatı çözmede yetersiz kalırsa fibröz adezyonlar ilerleyerek fibröz ağ örgüsüne dönüşür. Fibrositlerin göçü ve kollajen birikimi ile bu fibrin örgüsü büyüyerek kapillerlerin regresyonu ve fibroblastların alanı doldurması ile fibröz yapışıklıklara dönüşür. Oluşan bu yapışıklar kalıcıdır [2–3, 17–19].

### **2.3. PERİTONEAL YAPIŞIKLIK OLUŞUMUNUN ENGELLENMESİ**

Ameliyat sonrası oluşan peritoneal yapışıklıkların engellenmesi için beş ana mekanizma vardır. Bu mekanizmalar peritoneal yaralanma ve iyileşme basamakları dikkate alınarak kurulmuştur [3, 16, 21–22].

1. Fibrin oluşumunun engellenmesi
2. Lezyon bölgesinde oluşan fibrinlerin uzaklaştırılması
3. Fibroproliferatif yanıtın engellenmesi
4. Visseral yüzeylerin mekanik olarak birbirinden ayrı tutulması
5. Temel cerrahi prensiplere uyulması

#### **1. Fibrin oluşumunun engellenmesi**

Karın içi yapışıklıkları engellemede ilk basamak fibrin oluşumunu engellemektir. Bu basamağı engellemenin temel yolu koagülasyon sisteminin inhibe edilmesi ve fibrin oluşumunun önüne geçilmesidir. Bu amaçla aspirin, heparin, düşük molekül ağırlıklı heparin, oral antikoagulanlar, sodyum sitrat, aprotinin gibi maddeler kullanılmıştır. Bu maddelerden bazıları yapışıklıkları azaltmada etkili olmakla birlikte kanama gibi ciddi ve istenmeyen yan etkilerden dolayı güncel pratik uygulamaya geçirilememiştir [5, 19, 21, 23].

## **2. Lezyon bölgesinde oluşan fibrinlerin uzaklaştırılması**

Karın içi yapışıkları engellemede önemli bir yöntem de ortamda oluşan fibrinin ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Fibrinolizisi artırmak amacıyla çeşitli farmakolojik ve mekanik yöntemler denenmiştir ve denenmektedir. Yapışıklık oluşumunu belirleyen asıl faktörler zarar görmüş iki yüzeyin teması ve fibrinolizisin yeterli olup olmamasıdır. Fibrin matriks ortamdan uzaklaştırılmazsa, fibrin matriksin kapladığı iki peritoneal yüzey arasında yapışıklık oluşumu gerçekleşecektir. Karın içinde yapışıklığı engelleyen başlıca etken fibrinolitik enzim olan plazmindir. Plazmin fibrin peptid bağlarını parçalayarak fibrin matriksin uzaklaştırılmasında rol oynar.

Bu bilgi ve gelişmeler doğrultusunda karın içi yapışıklık oluşumunu önleyici çabalar son dönemde daha çok fibrinolitik ilaçlar üzerinde yoğunlaşmıştır [3, 18, 24]. Teorik olarak fibrinolitik ajan karın içi yapışıklık profilaksisinde ideal olmasına rağmen pratikte ümit kırıcı farklı sonuçlar alınmıştır. Fibrinolizin, streptokinaz ve ürokinaz gibi plazminojen aktivatörleri ile alınan sonuçlar yeterli olmamıştır [3, 25]. Son zamanlarda rekombinant doku plazminojen aktivatörü (R-TPA) ile ilgili çalışmalar yapılmış ve yapılan bu deneysel çalışmalarda yapışıklık oluşumunun önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir [18, 24, 26].

## **3. Fibroproliferatif yanıtın engellenmesi**

Yapışıklık gelişiminde önlemede bir diğer yöntem de fibroproliferatif yanıtın engellenmesidir. Anti-inflamatuvar ilaçlar inflamasyon ve fibroblast proliferasyonunu engelleyerek fibrozisi durdurmaya çalışırlar [22, 27]. NSAİ ve steroidler bu amaçla en çok kullanılan ilaçlardır. Sitotoksik ilaçlar da bu basamakta etki göstererek yapışıklığı engellemeye çalışırlar [28]. Bu ilaçlarla amaçlanan inflamatuvar yanıtın azaltılarak karın içi yapışıklığın önlenmesidir. NSAİ ve steroidler arasıidonik asit metabolizması yolu ile prostaglandinler ve tromboksan üretimini engelleyerek etki gösterirler. Prostaglandinler inflamasyonda, lökosit kemotaksisinde, trombosit agregasyonunda ve ödem gelişiminde önemli rolleri vardır. Kortikosteroidler fibroblast proliferasyonunu, fibrin ve kollajen birikimini engeller. Bu ilaçlar çeşitli deneysel hayvan modellerinde kullanılmış, tüm

çalışmalarda olmamakla birlikte bazı çalışmalarda karın içi yapışıklığı azalttığı gösterilmiştir. Deneysel modellerde karın içi yapışıklarda kortikosteroid kullanımının sonuçları farklılıklar içermektedir [21–22, 27, 29–31].

Cohen ve arkadaşlarının ratlarda steroid içeren solusyonların intraperitoneal olarak verilmesi ile oluşturulan deneysel karın içi yapışıklık modelinin başarılı olduğu bildirilmiştir. Ancak bazı araştırmacıların sonuçlarında farklılıklar vardır [32].

NSAI ve kortikosteroid ilaçların etkinliği ve güvenliği için yapılan çalışmaların yetersizliği nedeniyle bu ilaçların karın içi yapışıkları önlemede kullanımı sınırlıdır. Ayrıca steroidlerin immunsupresyon ve yara iyileşmesine olumsuz etkilerinden dolayı da cerrahi hastalarda kullanımı risklidir [33].

#### **4. Visseral yüzeylerin mekanik olarak birbirinden ayrı tutulması**

Yapışıklıkları engellemede önemli basamaklardan biri visseral yüzeylerin birbirinden ayrı tutulmasını sağlamaktır. Peritoneal yapışıklık gelişiminde en kritik zaman peritoneal yüzey hasar sonrası 3.-5. günler arasındır [33]. Bu süre içerisinde bariyer yapıcı maddeler karın içerisinde rezorbe olmadan durarak, hasarlanmış peritoneal ve serozal yüzeylerin birbirleriyle temasını engelleyerek karın içi yapışıklığı engellerler. Fiziksel bariyerler katı ve sıvı şekillerde kullanılmaktadır. Katı bariyerler olarak ilk önceleri omental, peritoneal greftler ve amniotik membranlar kullanılmıştır. Diğer kullanılan maddeler polytetrafluoroethylene, okside rejenere selüloz, hyaluronik asid-karboksimetil selüloz (Seprafilm®), biobozunur polimer film poliglaktid (Surgiwrap®) ve benzeri maddelerdir. Sıvı olarak kullanılan maddeler serum fizyolojik, ringer laktat, hyalüronik asid, viskz solusyonlar, dextran, icodextrin (Adept®), vazelin, hint yağı, zeytinyağı, lanolin gibi maddelerdir. Onkotik basıncı üzerinden etki eden maddeler ise intraperitoneal sıvıyı artırarak hasarlanmış yüzeylerin temas sürelerini azaltarak etki ederler [5, 19, 28, 33].

Hellebrekers ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada cerrahi sonrası karın içi yapışıklığı önlemede 5 farklı bariyer kullanılarak sonuçlar incelenmiştir. Polietilenglikol ve polibutinterefilate polimerleri (Polyactive®), polytetrafluoroethylene (Preclude peritoneal membrane®), hyaluronik asid-

karboksimetil selüloz (Seprafilm®) ve Fibrin glue (Tissucol®) maddeleri kullanarak yaptığı deneysel çalışmada Preclude peritoneal membran ve Seprafilm maddelerinin istatistiksel olarak intraperitoneal yapışıklığı azalttığı görülmüştür [34].

Şu an için ideal bariyer ajan bulunmamaktadır. İdeal bariyer ajan, yapışıklığı engelleyen, rezorbe olabilen, biyolojik olarak uyumlu, hasarlanmış yüzeylere etkili, sistemik etkisi olmayan, immünojenik ve inflamatuvar etkisi olmayan, laparoskopik de uygulanabilen madde olmalıdır [5, 19].

## **5. Temel cerrahi prensiplere uyulması**

Cerrahi esnasında dokulara gereksiz temas, manipülasyon, termal travma ve koagulasyondan uzak durulmalıdır. Peritoneal boşluktaki serbest kan miktarını ve kontaminasyonu en aza indirmek gereklidir. Peritoneal boşluk içerisinde pudra, absorbe olmayan sutür, gazlı bez parçaları gibi yabancı cisimlerden kaçınmak önemlidir. Cerrahi işlem sırasında dokuların yüzeylerinin kurummasını engellemekte başlıca prensiplerdendir [5, 16].

Laparoskopik cerrahi sonrası karın içi yapışıklık açık ameliyata göre daha azdır. Bunun da en önemli sebebi peritoneal hasarın daha az oluşmasıdır [19].

## 2.4. HEMOSTAZ

Hemostaz travma sonrası kanamayı durduran, damarın normal fonksiyonunu devam ettirmesi için damarda oluşan pıhtının temizlenmesini sağlayan birbiri ile yakından ilişkili karmaşık fizyolojik bir mekanizmadır [12, 35–38].

Hemostaz mekanizmasının 3 fazı bulunmaktadır.

1-Primer hemostaz

2-Sekonder hemostaz (Koagulasyon)

3-Fibrinoliz

Hemostaz mekanizmasının komponentleri vasküler sistem, koagulasyon sistemi, trombositler ve fibrinolitik sistemdir. Hemostazın normal olabilmesi için bu sistemlerin denge halinde çalışması gereklidir [38]. Bu sistemlerdeki dengesizlikler anormal kanamaya veya tromboza neden olur [12, 38]. Kanın pıhtılaşması ve pıhtının eritilmesi (fibrinolizis) birbiri ile yakından ilişkilidir [39].

Vasküler sistemde hasar oluştuğunda 1–2 saniye içerisinde refleks olarak vazokonstriksiyon oluşur, takiben hasarlanan alanda kan akımı yavaşlar. Trombositler, hasarlanan alanı reseptörleri ile fark ederek adezyon ve agregasyon ile geçici olarak kanamayı önleyen bir trombosit tıkaç oluştururlar [40]. Buraya kadar olan süreç primer hemostaz olarak adlandırılır [12]. Bunu takiben koagulasyon sisteminin aktive olduğu fibrin pıhtısının oluşturulmasına ise sekonder hemostaz denilir [12]. Endotel hasarının küçük olduğu yaralanmalarda trombosit tıkaç tek başına kanamayı durdurabilir [41]. Hasar büyük ise koagulasyon sistemi de devreye girer ve kalıcı fibrin tıkaç oluşur.

Hemostaz fosfolipid yüzey üzerinde fonksiyon görmek üzere programlanmıştır. Bu özelliği ile hemostaz lezyon bölgesinde sınırlanırlandırılır, sistemik hale gelmesi engellenir [39].Fibrin tıkaçın eritilmesi ve damar açıklığını düzenleyen tamir mekanizması da fibrinolitik sistemdir [12, 35].

### **2.4.1. Primer Hemostaz**

Primer hemostaz damar duvarı endotelial hücre ve trombositlerin majör olarak görev aldığı karmaşık etkileşim sonucunda oluşan trombositten zengin, dayanıksız, beyaz renkli pıhtı oluşumu ile sonuçlanır [12].

Pıhtı oluşumu damar yaralanmasına yanıt olarak vazokonstriksiyon ile başlar. Trombositler yaralanma sonucu açığa çıkan subendotelial kollajen fibrillerine, kollajen reseptörleri ile yapışırlar [12]. Bu reseptörler direkt glikoprotein Ia/IIa reseptörü aracılığı ile veya glikoprotein Ib-IX/V reseptörü ile endoteldeki von Willebrand faktöre bağlanarak olur. Trombositler ise kollajene bağlanarak aktive olurlar. Şekil değişikliğine uğrayan trombositler granül içeriklerini (ADP, ATP, büyüme faktörleri, vWF,  $\beta$  tromboglobulin, fibrinojen, fibronektin, kalsiyum, serotonin) salgılayarak yeni trombositlerin aktif hale gelmesini sağlarlar [39]. Adezyonu trombositlerin agregasyonu takip eder. Agregasyon esnasında plateletlerden salınan ADP, prostaglandin G<sub>2</sub>, tromboksan A<sub>2</sub>, PAF ve serotonin agregasyonu aktive ederler [12]. Aktivasyon ayrıca koagulasyon sisteminde oluşan trombin ile de artar. Aktive olmuş trombositler glikoprotein IIb/IIIa reseptörleri ve fibrin ile birlikte agrege olur. Primer hemostaz primer trombosit tıkaçı oluşumu sonlanır [40–44].

### **2.4.2. Sekonder Hemostaz (Koagulasyon sistemi)**

Primer trombosit tıkaçın oluşumu ile eşzamanlı olarak çoğunluğu karaciğerde inaktif enzim olarak sentezlenen plazma proteinleri ardışık olarak aktive olur ve sonuçta da plazmada fibrinojenden fibrin oluşur [12]. Koagulasyon faktörlerinin çoğunluğu serin proteaz özelliğindedir. Vasküler sistemde zimojen (inaktif) olarak bulunur ve proteazlar tarafından aktive duruma getirilir [35]. Önceki yıllarda koagulasyon sistemi F10 seviyesinde birleşen ekstrensek ve intrensek yol olarak sınıflandırılıyordu. Günümüzde anlatım kolaylığı ve laboratuvar testlerinin yorumlanma kolaylığı sağlarsa da, koagulasyon sisteminin invivo şartlarda sadece doku faktörü (TF) üzerinden aktive olduğu bilinmektedir [39]. Koagulasyon sisteminin başlatıcısı olan TF 45 kD ağırlığında membran reseptörüdür. TF hemen



hemen bütün hücre membranlarından ve özellikle de endotel hücreleri, perivasküler subendotelial fibroblastlar, nötrofiller, monositlerden kaynaklanmaktadır. Vasküler travma, doku travması, endotoksinler, inflamasyon, enfeksiyonlar ve malignensiler TF salınımına yol açarak koagülasyon sistemini aktive edebilmektedir [12, 39].

TF'ün açığa çıkmasıyla kanda bulunan FVII ile reaksiyonla TF/FVIIa kompleksi oluşur. TF/FVIIa kompleksinde FX'u aktive eder [41, 45]. FVIIa-TF kompleksi, direkt etkiyle ve alternatif bir yol olan FIX üzerinden FX'u aktive ederek trombin ve fibrin oluşumuna neden olur. FX aktivasyonu sonrası protrombinden trombin oluşumu FXa, FVa, membran fosfolipidleri ve kalsiyumla birlikte oluşturulan protrombinaz kompleksinin etkisiyle gelişir [46-47].

Trombin kuvvetli bir trombosit agonistidir. Trombinin fibrinojene etkimesi ile fibrinojenden fibrinopeptid A ve fibrinopeptid B ayrılarak fibrin monomerleri oluşur. Fibrin monomerleri de polimerize olarak çözünür fibrin polimerine dönüşür [12]. Çözünür halde üretilen fibrin FXIIIa tarafından çapraz bağlar ile stabilize edilerek çözünür olmayan fibrin haline getirilir [41, 48].

### **Koagülasyon sisteminin düzenlenmesi;**

Vasküler sistemde oluşan hasar, TF'ün açığa çıkması ile ilerler, fibrin ve trombositlerden oluşan hemostatik pıhtının yaralanma bölgesinde sınırlı kalabilmesi için düzenleyici aktivatör, inhibitör mekanizmalar devreye girer [12, 35].

1.Kan akımı ve koagülasyon faktörlerinin karaciğer tarafından yıkılması: Kan akımı yoluyla koagülasyon faktörleri seyreltilir. Karaciğer faktörleri yıkarak inhibisyona katkıda bulunur [49].

2. Anti trombin III (AT III): Karaciğerde ve endotel hücrelerinden üretilir. Trombini etkisizleştirir. Aktive olmuş koagülasyon faktörlerinin en önemli fizyolojik inhibitörlerindedir. AT III bir serin proteaz inhibitörüdür. F Xa, IXa, XIa ve XIIa ve trombin proteazları inhibe ederek etki eder [12]. Heparin ve endotel yüzeyinde bulunan heparine benzer heparan sülfat molekülleri AT III'ün etkisini artırır. Heparinin antikoagulan etki mekanizması da AT III üzerinden olmaktadır [38, 50].

3.Doku faktör yolu inhibitörü (TFPI): TF-FVIIa kompleksini ve FX'a bağlanarak kalsiyum varlığında FX'u inhibe ederek koagülasyonu engeller [54].TF salınımı ile

eş zamanlı olarak trombositler, endotel hücreleri ve makrofajlardan TFPI salınarak koagülasyon dengesi sağlanır. Heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin TFPI salınımını artırır [38, 47].

4. Protein C- Protein S: Protein C ve S koagülasyon sisteminde vitamin K'ya bağımlı inhibitör yapılarıdır. Trombin koagülasyon sisteminin aktivasyonu, inhibisyonu, hücre proliferasyonu ve inflamasyonda rol olan etkin bir faktördür [35]. Trombin FV, FVIII, FXI, FXIII ve trombositleri aktive ederek koagülasyonu artırır. Trombin trombomodulin isimli endotel hücre reseptörü ile birleşerek protein C 'yi aktive eder. Protein C kofaktörü protein S ile birlikte FVa ve FVIIIa'ı inaktive ederek koagülasyonu inhibe eder [12, 38].

### 2.4.3. Fibrinolitik Sistem

Fibrinoliz, plazmada inaktif formda bulunan plazminojenin fibrini eritmek üzere plazmin haline dönüşmesi sürecidir [51-52]. Plazminojen karaciğer tarafından sentezlenir. Plazminojen aktivatörlerince plazmine dönüştürülmesi ile fibrinolitik sistemin en önemli son ürünü oluşur [12, 39]. Hemostaz sürecinde fibrinoliz koagülasyon sistemi kadar öneme sahiptir. Fibrinolitik sistem koagülasyonun sınırlı kalmasını ve koagülasyon sonrası damar tıkanıklığını engellemek için çalışır [52-53]. Fibrinolitik sistem ek olarak vasküler duvar hasarının tamirinde, anjiogenezde ve ekstrasellüler matriksin yıkılmasında fonksiyon yapar. Plazmin fibrin yıkımı dışında FV, FVII, FXIII, vWF ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin yıkımında görev alır [54]. Plazmini aktive ve inhibe eden mediatörler bulunmaktadır [12].

Plazminojenin en önemli aktivasyonunu sağlayan ajan endotel hücresinden salınan doku plazminojen aktivatörüdür (t-PA) [55]. Plazminojen ayrıca ürokinaz-plazmin aktivatörü (u-PA), streptokinaz ve bazı sürüngen venomlarıyla da aktive olabilmektedir [51, 56].

Fibrinin plazmin tarafından yıkılması ile fibrin yıkım ürünleri oluşur. En önemli ve spesifik fibrin yıkım ürünü D-dimerdir [12]. Fibrin yıkım ürünleri koagülasyonu ve trombosit agregasyonunu inhibe eder. Kanda yükselmiş D-dimer düzeyi trombin aktivasyonu ile fibrin pıhtının oluştuğunu aynı zamanda da plazmin oluşarak fibrin pıhtının parçalanmakta olduğuna işaret eder [57].

Fibrinolizin sınırlı kalması için inhibisyon mekanizmaları vardır. Alfa-2 antiplazmin, Plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI) ve Trombin ile aktive edilen fibrinoliz inhibitörü (TAFI) inhibisyon mekanizmalarını oluşturur [51-52, 58-59].

Alfa-2 antiplazmin: Plazmada ve trombositlerde bulunur. Çoğunlukla karaciğerde sentez edilir. Görevi plazmine bağlanıp bunun fonksiyonunu engellemektir. Hem serbest haldeki plazmine, hem de fibrine bağımlı plazmine etki edebilir [12]. Fakat serbest haldeki plazmine affinitesi daha fazladır. Sonuçta oluşan plazmin- alfa-2 antiplazmin kompleksi karaciğerde yıkılır [55].

Plazminojen aktivatör inhibitörleri: PAI-1, PAI-2, PAI-3, Proteinaz neksin olmak üzere bilinen 4 adet inhibitör vardır. Etki mekanizması ve fonksiyonu daha iyi bilinenler PAI-1 ve PAI-2 dir. Diğerlerinin etkisi tam olarak bilinmemektedir [55, 60-61].

PAI-1: Plazmin aktivatör inhibitör-1, fibrinolitik sistemin önemli bir inhibitörüdür. Plazmada ve trombositlerde bulunmaktadır. Vücutta endotel hücresi, trombositler, makrofajlar, monositler ve düz kas hücrelerinde sentez edilirler [12]. PAI-1 aktivasyonu fibrin tarafından olmakta, tPA ve uPA'e bağlanarak inhibisyon oluşturmaktadır [52, 55, 60-62].

PAI-2: Gebe plazmasında yüksek düzeyde ölçülür. Erkek ve gebe olmayan kadınlarda seviyesi düşüktür. Plasental plazminojen aktivatör inhibitör olarak da bilinir. Gebelikte fibrinolizin düzenlenmesinde görevli olduğu bilinmektedir. TPA ve uPA'ü inhibe ederek etki eder. Plasenta, monosit ve makrofaj hücrelerinden sentez edilir. Aktivitesi PAI-1 den 10 kat daha düşüktür [55, 60, 63].

Trombin ile aktive edilebilen fibrinoliz inhibitörü (TAFI): Trombin ile aktive edildikten sonra fibrinolizi inhibe etmektedir. Karboksipeptidaz sisteminin üyesidir. Karaciğerde sentez edilir, 45 kDa ağırlığındadır. Trombin-trombomodulin kompleksi doza bağlı olarak TFAI ve Protein C aktivasyonuna etki eder. Düşük seviyelerde TAFI'yi aktive eder. Fakat yüksek seviyelerde Protein C aktivasyonu gerçekleşir ve trombin miktarı azalarak TAFI inhibe edilmiş olur [35, 58-59].

## 2.5. AKTİVE PROTEİN C

Protein C (PC), vitamin K'ya bağımlı olarak karaciğerde sentez edilir ve serin proteaz yapıdadır [8-9].

Drotrecogin alfa (DA) insan Aktive Protein C'nin rekombinant yapıdaki bir formudur [8, 64]. Aminoasit dizilimi insan APC'nin aynısıdır ve takriben 55 kilo dalton molekül ağırlılığındadır [64].

Protein C vücutta zimojen (inaktive) formda bulunur, dolaşım sisteminde hemostaz ve inflamasyonun regülasyonunda önemli rol oynar ve yaklaşık 4 µg/ml konsantrasyonda bulunur [8]. APC'nin yarı ömrü yaklaşık 20 dakikadır. Plasma serin proteaz inhibitörlerince inaktive edilir. DA'nın eliminasyonu ise bifaziktir, hızlı başlangıç eliminasyonu ( $t_{1/2}$ =13 dakika) ve bunu izleyen yavaş faz eliminasyonu ( $t_{1/2}$ =1,6 saat) mevcuttur [64].

Aktive Protein C koagulasyon faktörlerinden FaktörVa (FVa) ve FaktörVIIIa (FVIIIa)'yı inhibe ederek antikoagulan etki gösterir. Protein S, Protein C'nin kofaktörüdür [14-15].

Dolaşım sisteminde trombin, trombomodulin etkileşimi ile trombin-trombomodulin kompleksi oluşur. Endotelial hücre Protein C reseptörü ile kompleksin birleşimi sonucunda inaktive formdaki Protein C aktive forma dönüşür [8, 11]. Trombomodulin ile bağlanan trombin etkisizleşir. Fibrinojeni fibrine dönüştüremez. Koagülan aktivite tamamlanamaz. Trombinin trombositleri aktivasyonu ve tromboz önlenir [12-13]. Aktive Protein C doku faktörünü inhibe eder ve koagulasyonu azaltır[8, 10-11].

APC indirekt olarak profibrinolitikdir. Aktive Protein C plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)'i inaktive ederek, trombin aktivatör fibrinolizis inhibitör (TAFI)'ü inhibe eder. Sonuçta tPA'yı dolayısı ile de fibrinolizisi artırır [10, 14].

Aktive Protein C'nin önemli özelliklerinden biri de antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileridir [8, 15]. Protein C, Aktive Protein C'ye dönüştüğünde, trombin inhibe edilir ve trombin yoluyla oluşan inflamatuvar etkiler önlenmiş olur

[13, 15]. APC inflamatuvar sitokin yapımını (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10) ve nötrofil aktivasyonunu önler. Direkt olarak kemotaksisi inhibe eder [9, 13, 15]. Endotel hücrelerinde bulunan adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) sentezini önleyerek antiinflamatuvar etkiye katkıda bulunur [13-15]. APC'nin endotel hücre bariyer fonksiyonunu koruyucu (sitoprotektif) etkisi de vardır [13-15]. APC antiapoptotik etkilidir, bu etkiyi endotelial protein c reseptör (EPCR)-protease-aktif reseptör 1 (PAR-1) bağımlı yol üzerinden ve antiapoptotik genlerin sentezini artırıp, pro-apoptotik genlerin sentezini azaltarak yapar [13-15]. APC ayrıca NF-kB sentezini azaltarak antiinflamatuvar ve antiapoptotik etki gösterir [13-15]. Nükleer faktör kappa B (NF-kB) proinflamatuvar gen oluşumunda, apoptozisde ve trombin kaynaklı inflamatuvar sistemde görev alır [13-15].

Şiddetli sepsis varlığında anormal koagülasyon parametreleri de eklenince mortalite belirgin şekilde yükselir. Bu durumda majör doğal antikoagulanlar olan antitrombin III, TFPI ve PC düzeyinin azaldığı izlenmiştir. Şiddetli sepsiste hastaların %80 den fazlasında PC seviyesi normal sınırın altındadır [8].

Rekombinant Aktive Protein C çoklu organ yetmezliği ve APACHE II skoru 25'ten yüksek olan sepsisli hastaların tedavisinde FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır [9-10, 64].

PROWES (Faz III uluslararası, çok merkezli, randomize, çift kör, plasebo kontrollü) çalışmasına şiddetli sepsis tanısı olan 1690 erişkin hasta alınmıştır. Hastalara rekombinant APC veya plasebo verilmiş, 28 günde herhangi bir nedenle ölüm oranının göreceli olarak %19,4, mutlak olarak da %6,1 azaldığı saptanmıştır [10].

Aktive Protein C'nin görülen en sık yan etkisi kanamadır. PROWES çalışmasında Aktive Protein C verilen grupta kanama oranı %3.5 iken, plasebo grubunda kanama %2 olarak görülmüştür [10]. Kanama sıklıkla ilağın verilmeye başlandığı ilk günde olmaktadır. Kanama riski özellikle şiddetli trombositopeni ve menenjitte artmaktadır. APC trombosit sayısının 30.000 üzerinde olduğunda verilebilir [9].

Rekombinant APC'nin kontrendikasyonları ise aktif internal kanama, üç ay içerisinde hemorajik stroke, iki ay içerisinde geçirilmiş intrakranial kanama, intraspinal cerrahiler veya şiddetli kafa travması nedeniyle hastaneye yatırılmış, epidural katater takılı, intrakranial kitle, serebral herniasyon bulgusu olan, kanama riski yüksek travma hastaları ve konjenital kanama eğilimi öyküsü olan hastalardır [10].

Rekombinant APC tedavisi, cerrahi girişimlerden iki saat önce kesilmelidir [10].

### **3.GEREÇ-YÖNTEM**

Bu prospektif kontrollü deneysel çalışma, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneylei Yerele Etik Kurulunun izni (20.01.2010 tarih ve 10/02 karar no) ile Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Süleyman Demirel Araştırma ve Uygulama Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Bu çalışmada 260–280 g. ağırlığında 45 adet dişi wistar albino ratı kullanıldı. Ratlar deneysel çalışmadan 1 hafta önce laboratuvara alındı. Ratlar 21°C’de tutulup, su ve standart rat yemi ile beslendi. Girişimden 2 saat önce ratların oral alımı kesildi, su içmelerine izin verildi. Çalışmaya dahil edilen ratlar kontrol grubu, sham grubu ve Aktive Protein C (APC) grubu olmak üzere 15’er denekten oluşan üç eşit gruba ayrıldı.

#### **3. 1. Anestezi uygulama**

Tüm ratlara intraperitoneal ketamin (Ketalar®, 500mg 10ml flakon Pfizer; 90 mg/kg) ve ksilazin (Rompun®, Bayer, Leverkusen, Almanya; 10 mg/kg) ile anestezi uygulandı.

#### **3. 2. Kan örneği alımı ve biokimyasal ölçümler**

Tüm gruplardaki ratların kuyruk venasından 0,5 ml kan alındı. 0.saat plazminojen aktivatör inhibitör–1 (PAI–1) düzeyi çalışıldı (Resim 3.1). Postoperatif 2. saatte tüm ratların kuyruk venasından 0.5 ml kan alınıp postoperatif plazminojen aktivatör inhibitör–1 (PAI–1) düzeyi çalışıldı.

Kan örnekleri EDTA’lı tüplere konuldu. Örnekler 2500 devirde 15 dakika boyunca santifurije tabi tutularak plazma elde edildi ve -20°C’de muhafaza edildi.

Örnekler çalışılmadan önce 37°C’de 15 dakika ısıtıldı. Plazminojen aktivatör inhibitör–1 (PAI–1) düzeyleri elisa yöntemiyle çalışıldı (IMUCLONE®,Rat PAI-1 ELISA, American Diagnostica Inc. Stamford, USA.).

Biokimyasal ölçümlerde  $\mu$ Quant Spectrophotometer (BioTek®. Instruments, Inc. USA.) ve Elx 50 Otoplate Washer (BioTek®. Instruments, Inc. USA.) cihazları kullanılmıştır.

Tüm biyokimyasal ölçümler Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından yapıldı.



Resim 3.1. Rat kuyruk veninden kan örneklerinin toplanması

### **3. 3. Cerrahi uygulama ve ilaç kullanımı**

Ratların abdominal bölgeleri traş edilip betadinle temizlendikten sonra, steril şartlar altında her rat için ayrı steril cerrahi alet seti kullanılarak, her bir gruptaki ratların karın orta hattından yaklaşık 2–3 cm'lik insizyon ile laparotomi yapıldı (Resim3.2.).

Çekum bulunup kalın barsak üzerindeki yaklaşık 1 cm 'lik alana etilen oksit ile steril edilmiş yumuşak uçlu fırça ile serozal hasarlanma oluşturuldu (Resim 3.3.).





Resim 3.2. Orta hat laparotomi

Sham grubuna ek başka bir işlem yapılmadan fasya 4/0 yuvarlak poliglaktin (Ethicon®, Johnson&Johnson, USA), ile cilt 4/0 keskin polipropilen dikiş (Ethicon®, Johnson&Johnson, USA), ile tek tek kapatıldı.

Kontrol grubundaki ratların serozal hasarlanma bölgesine 5 cc serum fizyolojik verildikten sonra fasya 4/0 yuvarlak poliglaktin (Ethicon®, Johnson&Johnson, USA), ile cilt 4/0 keskin polipropilen dikiş (Ethicon®, Johnson&Johnson, USA), ile tek tek kapatıldı.



Resim 3.3.Serozal hasarlanma

Aktive Protein C grubundaki ratlara ise 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dozunda Aktive Protein C (Xigris®, Lilly, USA) 5cc serum fizyolojik içinde serozal hasarlanma bölgesine verildikten sonra fasya 4/0 yuvarlak poliglaktin (Ethicon®, Johnson&Johnson, USA), ile cilt 4/0 keskin polipropilen dikiş (Ethicon®, Johnson&Johnson, USA), ile tek tek kapatıldı (Resim 3. 4. ).

Tüm gruptaki ratlara standart rat yemi ve su ile 21 gün bakım verildi.

Deney gruplarında ölen hayvan olmadı.



Resim 3.4.Karın kapatılması

### **3.4. Karın içi yapışıkların değerlendirilmesi**

Postoperatif 21. günde her üç gruptaki ratlar yüksek doz eter anestezi ile sakrifiye edildi. Karın ön duvarı, orta hat insizyon ve serozal hasarlanma yapılan bölgeyi de içine alacak U şeklinde bir flep halinde kaldırıldı. Laparotomi sonrası her üç gruptaki ratların, adezyonları kopma direnci, yaygınlık ve görünümüne göre Modifiye Diamond Skalası kullanılarak değerlendirildi (Tablo 3.1) [65].

**Tablo3.1. Modifiye Diamond Skalası**

Skor	Yaygınlık	Görünüm	Direnç
0	Yok	Yok	Yok
1	<%25	İnce Tül Gibi, Saydam Avasküler	Kolay Ayrılıyor
2	%25-%50	Opak, Yarısaydam, Avasküler	Traksiyonla Ayrılıyor
3	%50-%75	Opak, Yarısaydam, Kapiller	Künt Diseksiyonla Ayrılıyor
4	>%75	Opak, Kalın Damarlar Mevcut	Keskin Diseksiyonla Ayrılıyor

#### **Çalışmadan çıkarılma kriterleri**

- Anestezi sırası ve sonrasında arrest gelişip hipoksik kalan sıçanlar
- Bakım sırasında hastalık gelişen veya anatomik bozukluğu olan sıçanlar
- Bakım sırasında exitus olan hayvanlar

#### **3. 5 İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel değerlendirme SPSS for Windows 17.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel yöntem olarak gruplar arası farklılıkları değerlendirmek için Kruskal-Wallis testi, grup içi farklılıkları karşılaştırmak için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 Düzeyleri

PAI-1 düzeyi tüm çalışma gruplarındaki ratların dorsal kuyruk veninden 0. saatte ve 2. saatte 0,5 cc kan alınarak çalışıldı.

0.saatte PAI-1 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken ( $p > 0.05$ ), postoperatif 2.saatteki örneklerde PAI-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlendi ( $p < 0.05$ ).

Gruplar arası karşılaştırmada:

Sham grubu ve kontrol grubu arasında postoperatif 2. Saat PAI-1 düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $P > 0.05$ ).

APC grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında postoperatif 2.saat PAI-1 değerlerinin anlamlı olarak düşük olduğu izlendi ( $p < 0.05$ ). Yine sham grubu ile karşılaştırıldığında postoperatif 2. saat PAI-1 değerlerinin anlamlı olarak düşük olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ).

Grup içi karşılaştırmalarda, APC grubunda postoperatif 2.saatteki PAI-1 düzeylerinin, 0. saate göre anlamlı olarak düşük olduğu izlendi ( $p < 0.05$ ).

Tablo 4.1. Sham Grubu Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri

Sham Grubu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Rat No															
0.saat PAI-1 düzeyi	1,34	1,34	1,28	1,41	2,79	1,45	1,61	1,39	1,31	1,36	1,71	1,50	2,72	2,96	1,78
Postoperatif 2. Saat PAI-1 düzeyi	1,37	2,40	3,02	7,61	9,65	9,59	2,44	2,56	2,25	2,26	2,36	2,66	3,31	3,09	2,19

Tablo 4.2. Kontrol Grubu Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri

Kontrol Grubu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Rat No															
0.saat PAI-1 düzeyi	1,42	1,78	1,38	1,31	1,25	1,34	1,29	1,33	1,61	1,55	1,43	1,33	2,21	2,46	2,82
Postoperatif 2. Saat PAI-1 düzeyi	2,40	3,38	1,49	1,74	1,59	2,41	3,95	1,63	1,67	1,74	2,85	3,39	2,40	2,74	7,16

Tablo 4.3. APC Grubu Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI-1) düzeyleri

APC Grubu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Rat No															
0.saat PAI-1 düzeyi	2,35	2,23	2,04	1,98	2,11	1,53	1,49	1,48	1,42	1,57	1,40	1,48	1,96	2,14	1,74
Postoperatif 2. Saat PAI-1 düzeyi	1,51	1,54	1,57	1,52	1,33	1,50	1,25	1,65	1,39	1,33	1,66	1,64	1,56	2,06	1,60

## 4.2. Karın İçi Yapışıkların Değerlendirilmesi

Modifiye Diamond Skalası kullanılarak yapışıklar makroskopik olarak değerlendirildi.

APC grubundaki yapışıklık skorlarının, hem kontrol hem de sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu izlendi ( $p<0.05$ ).

Sham ve kontrol grubu arasında yapışıklık arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Tablo 4.4 Modifiye Diamond Skalasına Göre Sham Grubu Yapışıklık Skorları

Sham Grubu	1. rat	2. rat	3. rat	4. rat	5. rat	6. Rat	7. rat	8. rat	9. rat	10. rat	11. rat	12. rat	13. rat	14. rat	15. rat
Skor 0				+	+			+				+		+	
Skor 1											+				
Skor 2	+						+		+	+			+		
Skor 3			+			+									+
Skor 4		+													





Resim 4.1. Sham grubu karın içi yapışıklık

Tablo 4.5. Modifiye Diamond Skalasına Göre Kontrol Grubu Yapışıklık Skorları

Kontrol	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Grubu	rat	rat	rat	rat	Rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat
Skor 0		+			+		+						+		
Skor 1				+										+	
Skor 2			+					+	+		+	+			+
Skor 3	+					+				+					
Skor 4															

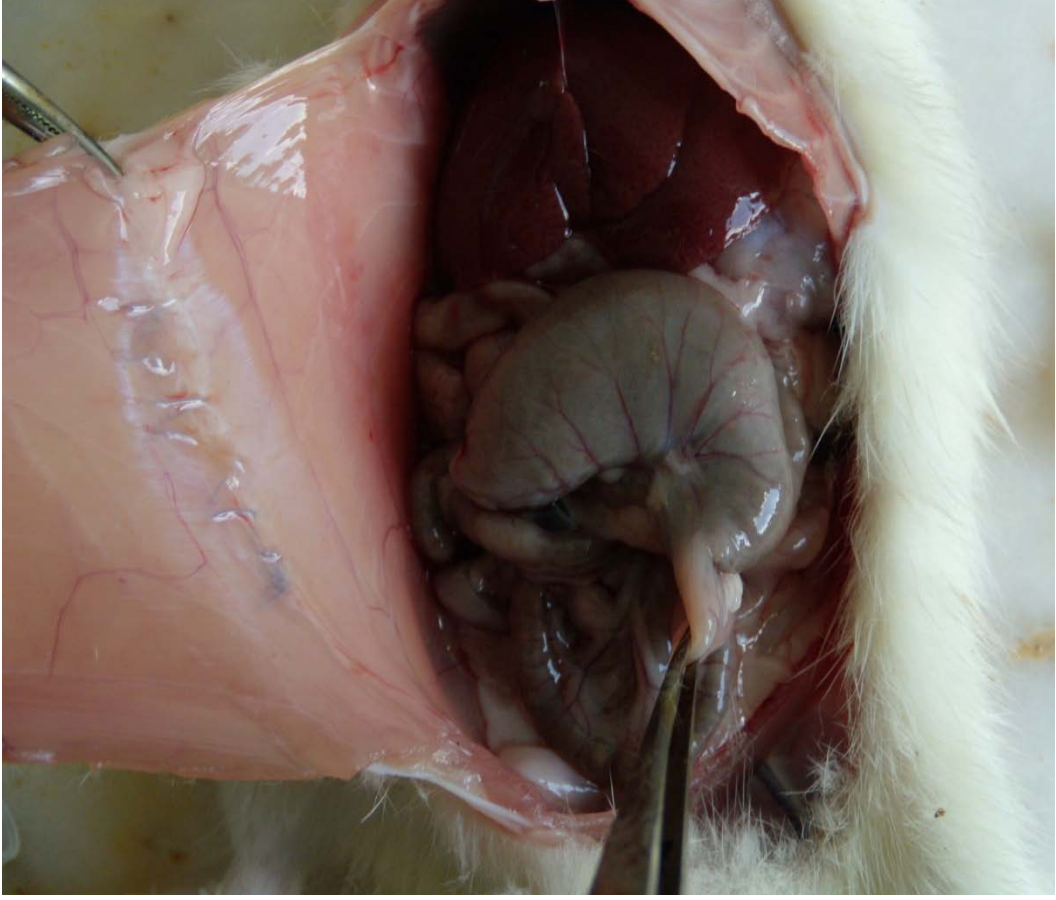




Resim 4.2.Kontrol grubu karın içi yapışıklık

Tablo 4.6. Modifiye Diamond Skalasına Göre APC Grubu Yapışıklık Skorları

APC	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Grubu	rat	rat	rat	rat	rat	Rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat	rat
Skor 0	+	+			+	+	+			+	+		+	+	
Skor 1			+	+								+			
Skor 2								+	+						+
Skor 3															
Skor 4															



Resim 4.3.APC grubu karın içi yapışıklık

## 5.TARTIŞMA

Karın ameliyatlarından sonra gelişen karın içi yapışıklıklar hem hasta hem de hekim açısından önemli bir sorun olmaktadır. Karın içi yapışıklıklar ameliyat sonrası gelişen mekanik obstrüksiyonun en önemli nedenleri arasında yer almaktadır [2-4].

Karın ameliyatları sonrası yapışıklık oluşumunda birçok faktör rol oynar. Ameliyat esnasında karın içi organlarda gelişen doku hasarı ve iskemisi, vasküler yaralanma, peritoneal-serozal yüzeylerin yaralanması, yabancı cisimlerin karın içinde bırakılması, yetersiz kanama kontrolü, kimyasal-termal reaksiyonlar, peritoneal endometriosis, pelvik inflamatuvar hastalık, peritonit ve intra-peritoneal serbest kan, pıhtı varlığı karın içi yapışıklıkları artıran faktörlerdir [2, 5].

Peritoneal yapışıklıkların engellenmesi amacıyla gündeme getirilecek önlemler fibrin birikimini, fibrinolitik aktivitenin uyarılmasını ve fibroblastik proliferasyonun uyarılmasını engellemeli, hasarlanmış yüzeylerin ayrılmasını sağlamalıdır [28].

Yetersiz fibrinolitik aktivitenin birçok sebebi bulunmaktadır. Cerrahi travma Plazminojen aktivatör (PA) aktivitesini azaltırken, Plazminojen aktivatör inhibitör (PAI) aktivitesini artırarak yapışıklık oluşumunda predispozan etki yapar [2, 7].

Buckman ve arkadaşları, ratlarda deneysel olarak peritoneal hasar oluşturulan (travma, iskemisi) dokuda normal peritoneal dokuya göre, plazminojen aktivatör düzeyinin anlamlı derecede düşük olduğunu saptanmıştır. Buckman ve arkadaşlarının çalışmasında plazminojen aktivatörleri inhibisyonun neden olduğu, düşük düzeyin yetersiz fibrinolizise ve giderek fibröz adezyonlara yol açtığı vurgulanmıştır [66].

Gervin ve arkadaşlarının, köpekler üzerindeki deneysel çalışmaları da bu savı destekler niteliktedir. Bu çalışmacılar serozal yüzeylerde yapılan tahriş ve mekanik travmanın bölgede fibrinolitik aktiviteyi %50'den fazla düşürerek adezyon oluşumuna yol açtığını bildirmişlerdir [67].

Bu çalışmada intraperitoneal olarak verilen APC'nin karın içi yapışıklıkları Sham ve Kontrol grubuna göre azalttığı tespit edilmiştir. Deneklerden alınan kan numunelerinin biyokimyasal analizleri sonucunda Aktive Protein C verilen grupta,

plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeylerinin ilaç uygulamasından sonra artış göstermediği bulunmuştur.

Plazminojen aktivatör inhibitörünün kullanılması fibrinoliz basamağında dönüm noktalarından birisidir. Falk ve arkadaşları fareler üzerinde yaptığı deneysel çalışmada intraperitoneal yöntemle poliklonal tavşan PAI-1 antikoru uygulayarak PAI-1 inhibisyonu sağlamışlar ve bunun sonucunda karın içi yapışıklıkların istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını göstermiş, fibrinolitik sistemi aktive ederek yapışıklıkları engellemeye çalışmışlardır. Çalışmamızın sonuçları Falk ve arkadaşlarının çalışması ile uyumludur [20].

Fibrinolitik sistemin uyarılmasının en önemli yan etkilerinden biri de kanama kontrolünün sağlanamamasıdır. Bu çalışmada da, Falk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya benzer olarak kanama komplikasyonu görülmemiştir [20].

Menzies ve arkadaşlarının dişi tavşanlar üzerinde yaptığı deneysel çalışmada uygulanan topikal doku plazminojen aktivatörünün (t-PA), karın içi yapışıklık oluşumunu azalttığı ortaya konmuştur. Çalışmada ilacın hemostaz üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı, yara iyileşmesi ve hemostaz açısından gruplar arasında fark görülmediği bildirilmiştir. Menzies ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde yapılan, bu çalışmada da APC grubunda yara iyileşmesi ve hemostaz açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır [68].

Yine Dörr ve arkadaşları, dişi tavşanlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada intraperitoneal olarak verilen doku plazminojen aktivatörünün karın içi yapışıklık oluşumunu istatistiksel olarak azalttığını göstermişlerdir [69].

Helleberkers ve arkadaşları endometriozisli 50 hasta üzerinde yaptıkları klinik araştırmada karın içi yapışıklık ile plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişlerdir [70]. Karın içi yapışıklıkların fazla olduğu olgularda peritoneal sıvı içerisinde plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeylerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak çalışmamızda karın için yapışıklıkların fazla olduğu gruplarda plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeyi yüksek bulunmuştur. 0.saat plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeylerinin, serozal travma nedeniyle postoperatif 2. saatte artması beklenmesine rağmen, APC grubunda plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeylerinin inhibisyonuna bağlı olarak postoperatif 2. saatte bu artış tespit edilmemiştir [70].

Helleberkers ve arkadaşlarının yaptıkları bu klinik araştırmada, postoperatif adezyon oluşumunda plazminojen aktivatör inhibitör-1'in yapışıklık oluşumunu anlamak için potansiyel bir belirleyici olabileceğinden söz etmişlerdir [70].

Di Flippo ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada postoperatif peritoneal yapışıklıklarda plazma TPA ve PAI-1 seviyeleri incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre postoperatif yapışıklıklarda hem doku hem de plazma TPA seviyeleri azalırken, PAI-1 seviyelerinde artma tespit edilmiştir [71].

Hill-West ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada ratlarda cerrahi sonrası yapışıklık oluşumunu etkileri araştırmak için lokal salınan fibrinolitik ajanlar kullanılmıştır. T-PA, u-PA ve streptokinaz ajanları kullanılan çalışmada fibrinolitik ajanlar direkt olarak intra-peritoneal uygulanmıştır ve t-PA verilen grupta yapışıklığın azaldığı tespit edilmiştir [25].

Aynı çalışmada fibrinolitik ajanlar hidrojel matriks içerisinde lokal salınım olarak verilmiştir. Hidrojelin mekanik bariyer olarak yapışıklığı azalttığı görülmüştür. Yine hidrojelin t-PA ve u-PA ile verildiği gruplarda da şiddetli yapışıklık olmadığı görülmüştür. Çalışmada yara iyileşmesinde bozukluk ve kanama izlenmemiştir [25].

Edelstam ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada, pelvik inflamatuvar hastalık, endometriosis ve pelvik adezyon tanısı alan kadınlarda peritoneal yapışıklıklar ile periton sıvısında fibrinolizis aktivitesi incelenmiştir. Peritoneal yapışıklıklar nedeni ile laparotomi yapılan hastalarda PAI-2 antijeninin peritoneal sıvıda daha fazla konsantrasyona sahip olduğunu göstermişlerdir [72].

Aktive protein C'nin önemli özelliklerinden biri de antiinflamatuvar etkisidir [8,15]. APC inflamatuvar sitokin yapımını (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10) ve nötrofil aktivasyonunu önler, direkt olarak kemotaksisi inhibe eder [9, 13, 15]. Endotel hücrelerinde bulunan adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) sentezini önleyerek antiinflamatuvar etkiye katkıda bulunur [13-15]. APC'nin endotel hücre bariyer fonksiyonunu koruyucu (sitoprotektif) etkisi de bulunur [13-15]. Aktive Protein C'nin antiinflamatuvar etkisi, fibroblastik proliferasyonu inhibe ederek karın içi yapışıklık oluşumunu azaltabilir [73].

Guido Alsfasser ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada Aktive Protein C'nin antiinflamatuvar etki göstererek akut pankreatitli deneklerde enflamasyonu azalttığı, sağkalımı arttırdığını göstermişlerdir [73].

Zafer Teke ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada mesenterik iskemi-reperfüzyon sonrası intestinal mukoza hasarına Aktive Protein C'nin etkisi değerlendirilmiştir. APC tedavisi verilen grupta intestinal mukozal hasar skorunun anlamlı oranda azaldığı bulunmuştur. APC'nin intestinal dokuda oksidatif enzim ve nitrat-nitrit seviyesini azalttığı, antioksidan enzim seviyesini artırdığı, plazmadaki proinflamatuvar sitokin ve D-dimer seviyesini azalttığı tespit edilmiştir. APC tedavisi verilen grupta intestinal ödemin azaldığı ve sağkalım oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır [74].

Fibrin yapımı, fibrin yıkımı arasındaki denge karın içi yapışıklıkların oluşmasını belirler. Fibrinolitik aktiviteyi artıran Aktive Protein C'nin daha kapsamlı deneysel ve klinik araştırmalarla desteklendiği takdirde, karın içi yapışıklıkları önlemede ümit vaat etmektedir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışmada deneysel karın içi yapışıklık modelinde Aktive Protein C'nin karın içi yapışıklık üzerine etkileri araştırılmıştır. Aktive Protein C'nin intraperitoneal uygulanmasından sonra, postoperatif 21.günde makroskopik olarak yapışıklıkların anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Deneklerden alınan kan örneklerinde APC grubunun plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edilmiştir.

Aktive Protein C, plazminojen aktivatör inhibitör -1'i inhibe edip, yapışıklık engellenmesinde majör basamaklardan biri olan fibrinolizi artırarak bu etkiyi göstermiştir. Aktive Protein C'nin karın içi yapışıklıkları engelleme mekanizmasının daha iyi anlaşılması için deneysel ve klinik daha kapsamlı araştırmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- 1 Diamond MP, Freeman ML. Clinical implications of postsurgical adhesions. *Hum Reprod Update*. 2001;7(6):567–76.
- 2 DiZerega GS, Campeau JD. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. *Hum Reprod Update*. 2001; 7(6):547–55.
- 3 Cheong YC, Laird SM, Li TC, Shelton JB, Ledger WL, Cooke ID. Peritoneal healing and adhesion formation/reformation. *Hum Reprod Update*. 2001;7(6):556–66.
- 4 Barmparas G, Branco BC, Schnüriger B, Lam L, Inaba K, Demetriades D. The incidence and risk factors of post-laparotomy adhesive small bowel obstruction. *J Gastrointest Surg*. 2010; 14(10):1619–28.
- 5 Kamel RM. Prevention of postoperative peritoneal adhesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2010; 150(2):111–8.
- 6 Alpay Z, Saed GM, Diamond MP. Postoperative adhesions: from formation to prevention. *Semin Reprod Med*. 2008; 26(4):313–21.
- 7 Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper GC, Bakkum EA, Trimbos JB, Declerck PJ, Kooistra T, Emeis JJ. Short-term effect of surgical trauma on rat peritoneal fibrinolytic activity and its role in adhesion formation. *Thromb Haemost*. 2000;84(5):876–81.
- 8 Vangerow B, Shorr AF, Wyncoll D, Janes J, Nelson DR, Reinhart K. The protein C pathway: implications for the design of the respond study. *Crit Care*. 2007;11 Suppl 5:S4.
- 9 Bernard GR, Macias WL, Joyce DE, Williams MD, Bailey J, Vincent JL. Safety assessment of drotrecogin alfa (activated) in the treatment of adult patients with severe sepsis. *Crit Care*. 2003; 7(2):155–63.
- 10 Garber G, Gibney RN, Light B, Martin C, Cunningham K, Guimond JG, Magder S, Russell J. Guidance on patient identification and administration of recombinant human activated protein C for the treatment of severe sepsis. *Can J Infect Dis*. 2002; 13(6):361–72.
- 11 Waerhaug K, Kuklin VN, Kirov MY, Sovershaev MA, Langbakk B, Ingebretsen OC, Ytrehus K, Bjertnaes LJ. Recombinant human activated



- protein C attenuates endotoxin-induced lung injury in awake sheep. *Crit Care*. 2008;12(4):R104.
- 12 Green D. Coagulation cascade. *Hemodial Int*. 2006 10 Suppl 2:S2–4.
  - 13 Neyrinck AP, Liu KD, Howard JP, Matthay MA. Protective mechanisms of activated protein C in severe inflammatory disorders. *Br J Pharmacol*. 2009;158(4):1034–47
  - 14 Levi M, van der Poll T. Recombinant human activated protein C: current insights into its mechanism of action. *Crit Care*. 2007;11 Suppl 5:S3.
  - 15 Sarangi PP, Lee HW, Kim M. Activated protein C action in inflammation. *Br J Haematol*. 2010;148(6):817–33.
  - 16 Sammour T, Kahokehr A, Soop M, Hill AG. Peritoneal damage: the inflammator response and clinical implications of the neuro-immuno-humoral axis. *World JSurg*. 2010;34(4):704–20.
  - 17 Imudia AN, Kumar S, Saed GM, Diamond MP. Pathogenesis of Intra-abdominal and pelvic adhesion development. *Semin Reprod Med*. 2008 Jul;26(4):289–97.
  - 18 Reed KL, Stucchi AF, Becker JM. Pharmacologic inhibition of adhesion formation and peritoneal tissue-type plasminogen activator activity. *Semin Reprod Med*. 2008; 26 (4):331–40.
  - 19 Attard JA, MacLean AR. Adhesive small bowel obstruction: epidemiology, biology and prevention. *Can J Surg*. 2007;50(4):291–300.
  - 20 Falk K, Björquist P, Strömquist M, Holmdahl L. Reduction of experimental adhesion formation by inhibition of plasminogen activator inhibitor type 1. *Br J Surg*. 2001;88(2):286–9.
  - 21 Replogle RL, Johnson R, Gross RE. Prevention of postoperative intestinal adhesions with combined promethazine and dexamethasone therapy: experimental and clinical studies. *Ann Surg*. 1966;163(4):580–8.
  - 22 Oh SH, Kim JK, Song KS, Noh SM, Ghil SH, Yuk SH, Lee JH. Prevention of postsurgical tissue adhesion by anti-inflammatory drug-loaded pluronic mixtures with sol-gel transition behavior. *J Biomed Mater Res A*. 2005;72(3):306–16.

- 23 Muzii L, Marana R, Brunetti L, Margutti F, Vacca M, Mancuso S. Postoperative adhesion prevention with low-dose aspirin: effect through the selective inhibition of thromboxane production. *Hum Reprod.* 1998;13(6):1486–9.
- 24 Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper TC, Trimbos JB, Emeis JJ, Kooistra T. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril.* 2000;74(2):203–12
- 25 Hill-West JL, Dunn RC, Hubbell JA. Local release of fibrinolytic agents for adhesion prevention. *J Surg Res.* 1995;59(6):759–63.
- 26 Orita H, Fukasawa M, Girgis W, diZerega GS. Inhibition of postsurgical adhesions in a standardized rabbit model: intraperitoneal treatment with tissue plasminogen activator. *Int J Fertil.* 1991;36(3):172–7.
- 27 Rodgers K, Girgis W, diZerega GS, Bracken K, Richer L. Inhibition of postsurgical adhesions by liposomes containing nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Int J Fertil.* 1990;35(5):315–20.
- 28 Ellis H. Postoperative intra-abdominal adhesions: a personal view. *Colorectal Dis.* 2007;9 Suppl 2: 3–8.
- 29 LeGrand EK, Rodgers KE, Girgis W, Campeau JD, Dizerega GS. Comparative efficacy of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and anti-thromboxane agents in a rabbit adhesion-prevention model. *J Invest Surg.* 1995;8(3):187–94.
- 30 Celebioglu B, Eslambouli NR, Olcay E, Atakan S. The effect of tenoxicam on intraperitoneal adhesions and prostaglandin E2 levels in mice. *Anesth Analg.* 1999;88(4):939–42.
- 31 Kucukozkan T, Ersoy B, Uygur D, Gundogdu C. Prevention of adhesions by sodium chromoglycate, dexamethasone, saline and aprotinin after pelvic surgery. *ANZ J Surg.* 2004;74(12):1111–5.
- 32 Cohen BM, Heyman T, Mast D. Use of intraperitoneal solutions for preventing pelvic adhesions in the rat. *J Reprod Med.* 1983;28(10):649–53.
- 33 Geoffrey Trew. Postoperative adhesions and their prevention. *Reviews in Gynaecological and Perinatal Practice* 6 (2006) 47–56

- 34 Hellebrekers BW, Trimbos-Kemper GC, van Blitterswijk CA, Bakkum EA, Trimbos JB. Effects of five different barrier materials on postsurgical adhesion formation in the rat. *Hum Reprod.* 2000;15(6):1358–63
- 35 Adams RL, Bird RJ. Review article: Coagulation cascade and therapeutics update: relevance to nephrology. Part 1: Overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. *Nephrology (Carlton).* 2009;14(5):462–70.
- 36 Breitenstein A, Tanner FC, Lüscher TF. Tissue factor and cardiovascular disease: quo vadis? *Circ J.* 2010;74(1):3–12.
- 37 Shibeko AM, Lobanova ES, Panteleev MA, Ataulakhanov FI. Blood flow controls coagulation onset via the positive feedback of factor VII activation by factor Xa. *BMC Syst Biol.* 2010 Jan 26; 4: 5.
- 38 Gomez K, McVey JH, Tuddenham E. Inhibition of coagulation by macromolecular complexes. *Haematologica.* 2005 Nov;90(11):1570–6.
- 39 Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med.* 2010;38(2 Suppl):S26–34.
- 40 Angiolillo DJ, Ueno M, Goto S. Basic principles of platelet biology and clinical implications. *Circ J.* 2010 25;74(4):597–607.
- 41 Ofosu FA. The blood platelet as a model for regulating blood coagulation on cell surfaces and its consequences. *Biochemistry (Mosc).* 2002;67(1):47–55
- 42 Gibbins JM. Platelet adhesion signalling and the regulation of thrombus formation. *J Cell Sci.* 2004 15;117(Pt 16):3415–25.
- 43 Beardsley DS. Platelet membrane glycoproteins: role in primary hemostasis and component antigens. *Yale J Biol Med.* 1990;63(5):469–75.
- 44 Danese S, Dejana E, Fiocchi C. Immune regulation by microvascular endothelial cells: directing innate and adaptive immunity, coagulation, and inflammation. *J Immunol.* 2007 May 15;178(10):6017–22.
- 45 Bluff JE, Brown NJ, Reed MW, Staton CA. Tissue factor, angiogenesis and tumour progression. *Breast Cancer Res.* 2008;10(2):204.
- 46 Rickles FR, Patierno S, Fernandez PM. Tissue factor, thrombin, and cancer. *Chest.* 2003;124(3 Suppl):58S–68S.

- 47 Van Der Poll T. Tissue factor as an initiator of coagulation and inflammation in the lung. *Crit Care*. 2008;12 Suppl 6:S3.
- 48 Pendurthi UR, Rao LV. Factor VIIa interaction with endothelial cells and Endothelial cell protein C receptor. *Thromb Res*. 2010; 125 Suppl 1:S19–22.
- 49 Senzolo M, Burra P, Cholongitas E, Burroughs AK. New insights into the coagulopathy of liver disease and liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2006 28;12(48):7725–36.
- 50 Izaguirre G, Swanson R, Raja SM, Rezaie AR, Olson ST. Mechanism by which exosites promote the inhibition of blood coagulation proteases by heparin-activated antithrombin. *J Biol Chem*. 2007 16;282(46):33609–22.
- 51 Collen D, Lijnen HR. Thrombolytic agents. *Thromb Haemost*. 2005;93(4):627–30.
- 52 Rau JC, Beaulieu LM, Huntington JA, Church FC. Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost*. 2007; 5 Suppl 1: 102–15.
- 53 Amara U, Rittirsch D, Flierl M, Bruckner U, Klos A, Gebhard F, Lambris JD, Huber-Lang M. Interaction between the coagulation and complement system. *Adv Exp Med Biol*. 2008;632: 71–9.
- 54 Hoover-Plow J. Does plasmin have anticoagulant activity? *Vasc Health Risk Manag*. 2010 15;6: 199–205.
- 55 Dobrovolsky AB, Titaeva EV. The fibrinolysis system: regulation of activity and physiologic functions of its main components. *Biochemistry (Mosc)*. 2002;67(1):99–108.
- 56 Liang XX, Zhou YN, Chen JS, Qiu PX, Chen HZ, Sun HH, Wu YP, Yan GM. Enzymological characterization of FII(a), a fibrinolytic enzyme from *Agkistrodon acutus* venom. *Acta Pharmacol Sin*. 2005;26(12):1474–8.
- 57 Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood*. 2009 26;113(13):2878–87.
- 58 Mosnier LO, Bouma BN. Regulation of fibrinolysis by thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, an unstable carboxypeptidase B that unites the pathways of coagulation and fibrinolysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(11):2445–53.

- 59 Nesheim M. Thrombin and fibrinolysis. *Chest*. 2003 Sep;124(3 Suppl):33S-9S
- 60 Dellas C, Loskutoff DJ. Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease. *Thromb Haemost*. 2005; 93(4):631–40.
- 61 Jankun J, Skrzypczak-Jankun E. Yin and yang of the plasminogen activator inhibitor. *Pol Arch Med Wewn*. 2009; 119(6): 410–7.
- 62 Dupont DM, Madsen JB, Kristensen T, Bodker JS, Blouse GE, Wind T, Andreasen PA. Biochemical properties of plasminogen activator inhibitor-1. *Front Biosci*. 2009 1;14: 1337–61.
- 63 Medcalf RL, Stasinopoulos SJ. The undecided serpin. The ins and outs of plasminogen activator inhibitor type 2. *FEBS J*. 2005; 272(19):4858–67.
- 64 Woodward B, Cartwright M. Safety of drotrecogin alfa (activated) in severe sepsis: data from adult clinical trials and observational studies. *J Crit Care*. 2009; 24(4):595–602.
- 65 Bigatti G, Segers N, Boeckx W, Gruft L, Mariani A, Brosens I. Evaluation of recombinant tissue-type plasminogen activator in adhesion prevention and neoangiogenesis in a rat experimental adhesion model. *Gynecol Surg* (2006) 3: 175–179
- 66 Buckman RF, Woods M, Sargent L, Gervin AS. A unifying pathogenetic mechanism in the etiology of intraperitoneal adhesions; *J Surg Res*. 1976; 20(1):1–5
- 67 Gervin AS, Puckett CL, Silver D. Serosal hypofibrinolysis. A cause of postoperative adhesions. *Am J Surg*. 1973; 125(1):80–8.
- 68 Menzies D, Ellis H. Intra-abdominal adhesions and their prevention by topical tissue plasminogen activator. *J R Soc Med*. 1989;82(9):534–5.
- 69 Dörr PJ, Vemer HM, Brommer EJ, Willemsen WN, Veldhuizen RW, Rolland R. Prevention of postoperative adhesions by tissue-type plasminogen activator (t-PA) in the rabbit. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1990; 37(3):287–91.
- 70 Hellebrekers BW, Emeis JJ, Kooistra T, Trimbos JB, Moore NR, Zwinderman KH, Trimbos-Kemper TC. A role for the fibrinolytic system in postsurgical adhesion formation. *Fertil Steril*. 2005 Jan;83(1):122–9.

- 71 Di Filippo C, Falsetto A, De Pascale V, Tufariello E, De Lucia D, Rossi F, D'Amico M, Cennamo A. Plasma levels of t-PA and PAI-1 correlate with the formation of experimental post-surgical peritoneal adhesions. *Mediators Inflamm.* 2006;2006(4):13901.
- 72 Edelstam G, Lecander I, Larsson B, Astedt B. Fibrinolysis in the peritoneal fluid during adhesions, endometriosis and ongoing pelvic inflammatory disease. *Inflammation.* 1998; 22(4):341-51.
- 73 Alsfasser G, Warshaw AL, Thayer SP, Antoniu B, Laposata M, Lewandrowski KB, Fernández-del Castillo C. Decreased inflammation and improved survival with recombinant human activated protein C treatment in experimental acute pancreatitis. *Arch Surg.* 2006;141(7):670-6.
- 74 Teke Z, Sacar M, Yenisey C, Atalay AO, Kavak T, Erdem E. Activated protein C attenuates intestinal mucosal injury after mesenteric ischemia/reperfusion. *J Surg Res.* 2008;149(2): 219-30.