

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**DENEYSEL OLARAK PERİTONEAL YÜZEY HASARI
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA VİTAMİN D (1,25-
OH₂D₃)'NİN PERİTONEAL ADEZYON ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Müslüm TARKAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2014

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL OLARAK PERİTONEAL YÜZEY HASARI
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA VİTAMİN D (1,25-
OH₂D₃)'NİN PERİTONEAL ADEZYON ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Müslüm TARKAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Enver İHTİYAR

ESKİŞEHİR
2014

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr.Müslüm TARKAN'a ait "Deneysel Olarak Peritoneal Yüzey Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda Vitamin D (1,250H2 D3) nin Peritoneal Adezyon Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı Prof. Dr. Enver İHTİYAR
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Adnan ŞAHİN
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Serdar ERKASAP
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .../.../ Tarih
ve/Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Bekir YAŞAR
Dekan

TEŐEKKÖR

Bu çalıőmadaki katkılarından dolayı ve uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana eğitiminde yardımcı olan sayın danışman hocam Prof.Dr. Enver İHTİYAR'a katkılarından dolayı Fizyoloji Anabilim Dalı üyesi Prof. Dr. Nilüfer ERKASAP'a Biyokimya Anabilim Dalı Üyesi Prof. Dr. Tülay KÖKEN'e Biyoistatistik Anabilim Dalı Üyesi Doc. Dr. Canan BAYDEMİR'e Histoloji Anabilim Dalı Üyesi Yrd. Doç. Onur UYSAL'a, Arő. Grv. Buğra KOCA'ya, Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile bana eğitimimde yardımcı olan hocalarım Prof. Dr. Haluk KİPER'e, Prof. Dr. Bekir YAŞAR'a, Prof. Dr. H. Tarık ÇAĞA'ya, Prof. Dr. Adnan ŞAHİN'e, Prof. Dr. Serdar ERKASAP'a ve Prof. Dr. Ersin ATEŐ'e teşekkür ederim

ÖZET

Tarkan, M. Deneysel Olarak Peritoneal Yüzey Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda Vitamin D (1,25-OH₂D₃)'nin Peritoneal Adezyon Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması, Eskisehir Osmangazi Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Eskişehir, 2014. Adezyon veya cerrahi olarak abdominal organlarda gelişen peritonit ve endometriosis, kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapi ve radyoterapinin sebep olduğu fibröz bantlar peritoneal adezyona neden olurlar. Bu konudaki çalışmalar ve gelişmelerle adezyon formasyonu azaltılabilmektedir ama en iyi sonucu veren veya bu sorunu kesin çözen bir tedavi ortaya konamamıştır. Bir çok metod ve ajan adezyon oluşumunu engellemek için kullanılagelmiştir. Buna rağmen postoperatif adezyonlar önemini korumaya devam etmektedir ve tam olarak çözülememiştir. D vitamini dışarıdan alınabildiği gibi vücut tarafından da sentezlenebilmektedir. Daha önceki çalışmalarda D vitaminin karaciğerde TIMP-1, MMP-9, kollajen 1alfa1 aracılığı ile fibröz doku oluşumunu önlediği gösterilmiştir. Bu çalışma deneysel olarak ratta oluşturulmuş peritoneal adezyon modelinde D vitamininin etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 24 tane 200-250 gr arasında ağırlığa sahip Sprague-Dawley erkek rat kullanılmıştır. Hayvanlar ratgele 3 gruba ayrılmıştır. 1.Grupta (kontrol); batın ön katları geçilerek parietal periton ortaya kondu. 2.Grupta (PA Grubu); batın açılarak peritoneal adezyon oluşturuldu. 3.Grupta (PA Grubu); batın açılarak peritoneal adezyon oluşturuldu ve hayvanlara D Vitamini uygulandı. Deney prosedüründen sonra doku üzerinde histolojik ve serumda biyokimyasal incelemeler yapıldı. Cerrahi sırasında PA grubunda peritoneal adezyonların olduğu PAD grubunda ise peritoneal adezyonun daha az olduğu gözlenmiştir. PA ve PAD grupları arasında inflamasyon, vasküler proliferasyon ve PAI-1 gradingin histolojik skorlamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. PA ve PAD grupları arasında biyokimyasal parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır

Anahtar Kelimeler:Postoperatif Peritoneal Adezyon, Rat, D Vitamini, tPA, PAI

ABSTRACT

Tarkan, M. Generated Experimental Peritoneal Surface Damage on Rats: Investigation of the Effects of Vitamin D (1,25-OH₂D₃) on Peritoneal Adhesion, Eskisehir Osmangazi University Medical Specialization Thesis, Department of General Surgery, Eskişehir, 2014. Adhesion, or abdominal organs surgically induced peritonitis, endometriosis, chemotherapy, radiation and cancer caused by fibrous bands, sticking among themselves or to the abdominal wall. Despite continuing improvements and study, even at best possibility, adhesion formation is reduce but adhesion proving couldn't resist completely. Many methods and agents have been used so far to prevent adhesions. Postoperative adhesions are important but it isn't resolved problem yet. Vitamin D that can synthesized in the body as well as can take exogenous vitamin. Of this vitamin in the liver, TIMP-1, MMP-9 levels of collagen 1alfa1 that the changes to the forming effect of preventing fibrosis studies were performed. This study is aimed to investigate Vitamin D effect on experimental peritoneal adhesions in an animal model. In study 24 Sprague-Dawley male rats, weighing between 200 and 250 gr. are used. The animals are randomly assigned to 3 groups. In group 1 (control group); Operation is performed but no peritoneal adhesion. In group 2 (PA Group); Peritoneal adhesion procedure is performed. In group 3 (PAD Group); Peritoneal adhesion procedure is performed and vitamin D is given to rats. After experimental procedure histological and biochemical analyses are performed. We see less peritoneal adhesion lesions on PA group either PAD on operation time. There are statistically significant differences between PA and PAD groups at histological score system on inflammation, vascular proliferation and PAI-1 Grading. There is no significant differences between PA and PAD groups on biochemical measures. In conclusion several doses must be performed in peritoneal adhesion procedure.

Key words: Postoperative Peritoneal Adhesion, Rat, Vitamin D, tPA, PAI

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER KISALTMALAR DİZİNİ	ix-x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Tarihçe	2
2.2.Peritonun Embriyolojisi ve Anatomisi	5
2.2.1.Barsakların Rotasyonu ve Periton Boşluğu (Cavitas Peritoneales)	5
2.2.2.Periton	7
2.2.3.Periton Boşluğunun Fizyolojisi	11
2.2.4.Peritoneal Lenfatik Sistem	13
2.2.5.Periton Histolojisi	15
2.3.Peritoneal Adezyon	18
2.3.1.Peritoneal Adezyonun Önemi	18
2.3.2. Peritoneal Adezyonların Oluşum Mekanizmaları	20
2.3.3.Peritoneal Adezyon Oluşumunda Fibrinolizin Rolü	24
2.3.4. Peritoneal Adezyon Fizyopatolojisi	27
2.3.5.Tedavi	29
2.4. Vitamin D	29
3.GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Çalışma Grubu	32
3.2. Cerrahi Teknik	33
3.3. Histolojik Analizler	35
3.3.1. Hematoksilen-Eozin Boyaması	35

	Sayfa
3.3.2. İmmünohistokimyasal Boyalar	39
3.4. Biyokimyasal Analizler	42
3.4.1.Örnek Toplanması	42
3.4.2.Doku Plazminojen Aktivatör (tPA) Ölçümü	42
3.4.3.Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 (PAI1) Ölçümü	43
3.5. Deneyin Sonlandırılması	43
3.6. İstatistiksel Analizler:	43
4.BULGULAR	45
4.1.Hayvanların Skorlarının Ayrı Ayrı Değerlendirmesi	45
4.1.1.Hematoksilen Eozin Değerlendirmesi	46
4.1.2.PTAH Değerlendirmesi	46
4.1.3.PAI-1 Değerlendirmesi	47
4.2.Histolojik Sonuçlar	49
4.2.1.Hematoksilen-Eozin Boyaması	50
4.2.2.Özel Boyamalar	52
4.3.Biyokimyasal Sonuçlar	53
4.3.1. Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişkiler	54
5.TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	62

SİMGELER KISALTMALAR

(IGF-1)	İnsülin Growth Faktör
C	Kompleman
D ₂	Kolekalsiferol
D ₃	Ergokalsiferol
DMSO	DimetilSülfoksit
ECM	Ekstra Sellüler Matriks
EGF	Epidermal Growth Factor
FGF	Fibloblast Growth Factor
GİS	Gastro-İntestinal Sistem
H&E	HematoksilenEozin
IFN	İnterferon
Ig	İmmünoglobülin
LT	Lökotrien
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NO	Nitrik Oksit
PA	Peritoneal Adezyon Grubu
Pa	Plazminojen Aktivatörü (Serum)
PAD	Peritoneal Adezyon + Vit D
PAİ	Plazminojen Aktivatör İnhibitör
PBC	Peritoneal Button Creation
PDGF	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PET	Peritoneal Eşitleme Testi
PG	Progtoglandin
PNL	PolimorfNüveliLökositler
PPA	Postoperatif Peritoneal Adezyonlar
PTAH	Phosphotungstic acid-haematoxylin

PVP	Polivinilpirolidon
SAPD	Sürekli Ayaktan Periton Diyaliz
TGF	Transforming Growth Factor
TIMP	Doku İnhibitör Metalloproteinazı
TNF	Tumor Necrosis Factor
TPA	Doku Plazminojen Aktivatörü
Treg	Düzenleyici T Hücreler
UVB	Ultraviyole B
VDR	D Vitamin Reseptörü

ŞEKİLLER

	Sayfa
1. Abdominal kavitenin ve peritonun embriyolojik gelişimi	8
2. Abdominal kavitenin ve peritonun sagittal kesitte görünümü	9
3. Peritoneal Adezyonun Oluşum Mekanizması	22
4. Adezyon Oluşum Basamakları	25
5. Adezyon Oluşumu	26
6. Ratta cerrahi aletlerle karın duvarının açılması	34
7. Ratta cerrahi olarak peritoneal adezyon için PBC tekniğinin uygulanması	34
8. Ratta postoperatif 14.günde gelişen PPA odakları	35
9. Kontrol grubu normal görünüm. H&E, X100.	37
10. Kontrol grubu normal görünüm.	39
11. Kontrol grubunda mezotelyal hücrelerde (ok) negatif boyanma	41

TABLÖLAR

	Sayfa
1. Fibrozis, İnflamasyon ve Vasküler Proliferasyon Skorlaması	38
2. Fibrin Birikiminin Skorlanması	40
3. PAI İmmunohistokimyasal Boyanmasının Skorlanması	42
4. Adezyonlardan alınan periton örneklerinin histolojik derecelendirmesi	45
5 PA grubunun PTAH Derecelendirmesi	46
5.a Kontrol grubunun PTAH Derecelendirmesi	46
6. PA grubunun PTAH Derecelendirmesi	47
6.a PAD grubunun PTAH Derecelendirmesi	47
7. PAI-1 Derecelendirmesi	48
7.a Kontrol Grubunun PAI-1 Derecelendirmesi	48
8. PA Grubunun PAI-1 Derecelendirmesi	49
8.a PAD Grubunun PAI-1 Derecelendirmesi	49
9. Hematoksilen-eozin boyama sonuçlarına göre dokuların fibrozis, inşamasyon ve vasküler proliferasyon skorlarının gruplara göre karşılaştırılması	50
10. Özel boyama sonuçlarına göre dokuların PAI-1 Grading ve PTAH skorlarının gruplara göre karşılaştırılması	52
11. Biyokimyasal sonuçlara göre serum PA ve PAI-1 sonuçlarının gruplara göre karşılaştırılması	53

1.GİRİŞ

Cerrahi ve teknolojiadaki gelişmeler postoperatif peritoneal adezyonlar (PPA) konusunda bilgilerimizin giderek artmasına karşın PPA farklı disiplinlerden cerrahlar için sorun olmaya devam etmektedir. Özellikle Anestezi ve Genel Cerrahideki gelişmeler giderek daha çok sayıda laparotomi yapılmasına olanak sağlamıştır . Özellikle planlı yapılan cerrahi ameliyatlardaki yenilikler bunun başlıca sebebi olmuştur. Abdominal cerrahi girişimlerdeki bu sayısal artışa paralel olarak giderek artan oranda ameliyat sonrası periton içi adezyonlar meydana gelmektedir (1).

PPA abdominal cerrahi sonrası ciddi bir problemdir . Karın içi adezyonlar , ağrı, intestinal obstrüksiyon ve infertilite nedenidir. Major karın cerrahisi gerektirmeleri ve hospitalizasyon süresini uzatabilmelerinden dolayı postoperatif mortalite, morbidite ve maliyet artışına yol açarlar . Tüm laparotomilerin %90'ından fazlasında postoperatif peritoneal adezyonlar oluşmaktadır . Bunların çoğu sessiz seyretmekte ancak %3'ünde postoperatif peritoneal adezyonlara bağlı intestinal obstrüksiyonlar oluşmaktadır. Ayrıca gelişmiş ülkelerdeki kadın infertilitesinin en sık nedeni PPA'lardır (2, 3).

Bugüne kadar peritoneal adezyonlarının önlenmesi amacıyla birçok materyal ve farklı teknikler denenmiş ancak başarılı olunamamıştır. Biz bu çalışmada PPA'ları önlemek için şimdiye kadar hiç kullanılmamış olan D vitamini deneysel olarak hayvan modelinde denemeyi planladık. Bunu yaparken temel amacımız PPA'ların önlenmesi, en azından azaltılabilmesiydi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

PPA ile ilgili bilgilerimiz ileus gelişmesi ve onun patolojisinin açıklanmasına dayanmaktadır (4). M.Ö. 350 yılında Praxagoras'ın bir barsak tıkanıklığını barsak - deri fistülü oluşturarak gidermesi bu konuda kayıtlara geçen ilk cerrahi girişimdir . Barsak tıkanmalarının tedavisinde günümüz tarihine kadar farklı ilaçlar (ağrı için afyon kullanımı) verilmesi, bazı ağır metaller (civa, kurşun) kullanımı, boğulmuş barsak bölümünün eski haline redükte edilerek düzeltilmesi gibi palyatif yöntemlerle giderilmeye çalışılmıştır (5, 6). İleus tablosu nedenle çok uzun yıllar yüksek mortalite ile devam etmiştir.

19. yüzyılın ortalarına doğru Hodgkin tüberküloz peritonitli bir hastanın post-mortem incelemesinde ince barsak anslarıyla enfeksiyon odakları arasında adezyonlar oluşumuna eğilim olduğunu bildirmiştir (7). Yapılan farklı çalışmalar batın ameliyatları (özellikle akut peritonit) özellikle lenf damarlarının ve bazen kan damarlarının koagüle olması ve/veya yanlılıkla bağlanması ile önce geçici sonrasında kalıcı hale gelen fibrinöz adezyonların geliştiğini göstermişlerdir (8-12).

Adezyon gelişimi ve daha sonrasında da bu adezyonların açılabilmesi için hastanın yeniden opere edilmesi gerekmiş ve batın ameliyatlarında peritoneal adezyonun nerdeyse tüm hastalarda geliştiği görülmüştür (13, 14). Bununla birlikte karın cerrahisindeki gelişmeler ile adezyonların gelişimi hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. PPA'nın yalnız genel cerrahların sorunu olmadığını over kisti eksizyonunu takiben PPA gelişmesini ortaya koyan iki çalışma takip etmiştir (15, 16).

Cerrahi tekniklerin gelişmesi ve anatomi hakkında bilgilerin artması ile karın ameliyatlarının yapılması olanakları artmıştır. Ameliyatlar sonrası gelişen intestinal obstrüksiyonlar son iki yüzyılda araştırmacıların odak noktalarından birisi olmuştur. İlk olarak deneysel peritoneal adezyon oluşturulması köpeklerde gerçekleştirilmiştir(17, 18). Bu çalışmalar Dembowski ve Franz'ı bu deneysel peritoneal adezyon çalışmalarının öncüsü yapmıştır.

Bir otopsi çalışmalarında 298 olguda; sadece bir karın içi cerrahi girişim yapılmış olguların %67'sinde, birden fazla cerrahi girişim yapılmış olguların %93'ünde PPA'ya rastlanmıştır (19). PPA'larla cerrahi operasyonun ilişkisi daha sonraki çalışmalarda ortaya konmuştur(20, 21).

Gibson'un 1888-1898 yılları arasında yaptığı bir başka gözlemsel çalışmada barsak obstrüksiyonu sebepleri ortaya konmuştur. Bu çalışmada; barsak tıkanmalarının sebepleri arasında boğulmuş fitiklar %35 ile ilk sırayı almakta , intusepsiyon %19, adezyonlar ise %18.6 ile üçüncü neden olarak saptanmıştır (22). Benzer bir çalışmada Vick , İngiltere'de 1925-1930 yılları arasında, akut barsak tıkanması nedeniyle başvuran 6982 hastayı incelemiş ve bunun %47.9'unda boğulmuş fitik, %7.3'ünde adezyonlar olduğunu saptamıştır (23). Mc Iver, ABD'de 10 yıllık bir süre içerisinde barsak tıkanması nedeniyle başvuran 335 hastanın, 147'sinin (%44) boğulmuş fitiklara, 103'ünün (%30) adezyonlara bağlı olduğunu ve bu adezyonların %79'unun daha önceki abdominal operasyonlardan kaynaklandığını tespit etmiştir (24, 25).

1960'larda Conolly ve arkadaşları "Biz ve birçok yazar inanıyoruz ki ameliyat esnasında abdominal organlara mekanik travmanın minimal düzeyde tutulması, peritoneal ve serozal defektlerin suture edilmeyip açık bırakılması adezyon oluşumunu en az düzeyde tutar , fakat bu varsayıma deneysel bir kanıt bulamadık" diyerek ratlarda bir çalışma planlamışlar ve laparotomi sonrasında peritonu 00 normal kat küt ile kontüniü olarak kapattıkları gurupta , peritonu açık bıraktıkları guruba göre daha çok karın içi adezyon ile karşılaştıklarını , aynı şekilde barsakları kuru gaz ile sildikleri ratlarda, ıslak, nemli gaz kullandıkları guruba göre daha çok adezyon ile karşılaştıklarını bildirmişlerdir (26). Wangenstein 1942 ile 1953 yılları arasında 1252 hasta sayısına sahip barsak tıkanması serisinde , %10.2 oranında boğulmuş fitiğe karşın %31 oranında karın içi adezyonlara bağlı tıkanma olduğunu kaydetmiştir (27). Ne kadar çok abdominal operasyon yapılırsa , o kadar çok ameliyat sonrası adezyon gelişmekte ve aynı zamanda da giderek daha fazla hastanın fitiği boğulmadan elektif olarak ameliyat edildiğinden boğulmuş fitik görülme oranı yıllar geçtikçe azalmaktadır.

Londra’da erişkin onkolojik hastalarla yapılmış başka bir çalışmada; barsak tıkanması sebebi olarak %30 oranında neoplaziler, %26 oranında adezyonlar ve %21 oranında boğulmuş fitik belirlenmiştir (28).

Ülkemizde, Füzün ve arkadaşlarının 1989 yılında yaptıkları bir çalışmada bu oranın adezyonlar lehine değişmekte olduğu gösterilmiştir (29).

Karın içi adezyonların en sık rastlanan sebebi (%80-90) daha önce geçirilmiş abdominal operasyonlardır (30). Fakat geçirilmiş herhangi bir cerrahi operasyon geçirmemiş olgularda karın içi adezyonların gelişebildiğini ve sıklığının %28 olduğunu Weibel ve Majno’nun otopsi bulgularına göre yaptığı çalışma göstermiştir. Ameliyat geçirmiş olgularda adezyon oranı %67 iken; küçük, büyük ve çoğul ameliyatlardan sonra sırasıyla %51, %72 ve %93 olarak bulunmuştur (31).

Ülkemizde karın içi yapışıklığa bağlı olarak barsak tıkanması tanısı konulan hastaların karşılaştırıldığı Nemir ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, hastaların %72.5’inde geçirilmiş ameliyat , % 20.4’ünde apandisit, kolesistit, divertikülit gibi enfektif bir hastalık, %5.6’inde sezaryen sonrası adezyon saptanmıştır (32).

Karın içi yapışıklığına bağlı barsak obstrüksiyonları karının alt bölümünü ilgilendiren girişimler sonrasında daha çok gelişmektedir (33). Raf ve arkadaşlarının Stockholm çevresinde 1477 olguda ince barsak obstrüksiyonu bulunan 2295 hasta üzerinde yapılan çalışmada; % 64 oranında obstrüksiyon sebebinin adezyonlar olduğu ve bu hastaların %86’sının daha önce opere olan hastalar olduğunu saptanmıştır. Bu operasyonların %38’i apendektomi ve %28’i jinekolojik operasyonlardı. Ayrıca postoperatif yapışıklığa bağlı obstrüksiyonların %20’sinin laparotomiye takiben ilk bir yıl içinde geliştiği , bunların çoğunun da ilk 4 haftada ortaya çıktığı ortaya konmuş ve hatta bu obstrüksiyonlar “erken postoperatif obstrüksiyonlar” olarak adlandırılmıştır. (34, 35).

Peritoneal fizyoloji, yara iyileşmesi ve adezyon formasyonu üzerine bilgi birikimiyle birlikte adezyon önlenmesi amaçlı fibrinolizin, plazmin, heparin, fibrinolitik enzimler, Polivinilpirolidon (PVP) gibi bir çok madde kullanılmıştır (36-39).

2.2. Peritonun Embriyolojisi ve Anatomisi

Periton ile karın içi organların embriyonik dönemden itibaren etkileşimlerini bilmek adezyon formasyonu mekanizmasını ortaya koymak için gereklidir.

2.2.1. Barsakların Rotasyonu ve Periton Boşluğu (Cavitas Peritonealis)

Embriyonik gastrointestinal kanal, iki yapraklı primer ventral ve primer dorsal mezenterlerle vücut ön ve arka duvarına asılmış bir tüp şeklindedir . Ventral mezenterin alt bölümü erken bir evrede kaybolur , sağ ve sol karın boşluğu birbirine birleşirler.

Ventral mezenter: Karaciğer geliştikten sonra karın ön duvarı ile karaciğer arasında kalan kısmı Ligamentum Falsiformis adını alır . Bunun aşağıya doğru uzanan serbest kenarı içinde vena umbilicalis seyrederek ve bu kenar Ligamentum Teres Hepatis adını alır. Karaciğer ile mide arasında kalan mezenter Gastro-Hepatik Ligament denir . Bu ligamentin serbest kalan alt kenarı duodenumun birinci kısmı üzerine uzanır . Hepatoduodenal Ligament denilen bu kısmın iki yaprağı arasında , Ductus Choledochus, A. Hepatica ve Vena Porta seyrederek.

Dorsal mezenter: Orijinal dorsal mezenterin mideyi asan kısmına mesogastrium, duodenumu asan kısmına mesoduodenum, kolonu asan kısmına mezokolon denir. Jejunum ile ileumu asan kısmına ise dorsal mesenterium denir. Dorsal mezenterin üst kısmı içinde mezenterial hücreleri n bir araya toplanmasından dalak gelişir . Turuncus Coeliacus'dan çıkıp üç organı (karaciğer, mide, dalak) besleyen; A. Hepatica, A. Gastrica Sinistra , ve A. Splenica dorsal mezenterin iki yaprağı arasında seyrederek (40, 41). Mide ile dalak arasında kalan dorsal mezenter kısmı Gastro-Lienal Ligament, dalak ile retroperitoneal aorta arasında kalan kısmı ise Aorto-Lienal Ligament adını alır.

1. Ön barsak rotasyonunun mekanizması: Ön barsak , öncelikle eksenini boyunca 90 derece sağa doğru rotasyona uğrar . Bu nedenle midenin dorsal kenarı , omentum majus ve dalak sola doğru dönerler . Bu dönmelerin sonucunda midenin sol - arka kısmında bir periton boşluğu oluşur . Burası ileride bursa omentalis adını alacaktır. AortoLienal Ligament arka parietal peritona temas eder ve yapışır (40). Bu periton kısmı aorta ile sol böbrek arasında uzanır. Aorto-Lienal Ligamentin dalak ile sol böbrek arasında kalan kısmı ise Lieno-Renal Ligament adını alır.

Ön barsak rotasyonunun ikinci evresi midenin horizontal eksenine ile ilgilidir . Ventral mezenter çok yavaş , dorsal mezenter ise çok hızlı gelişir . Böylece, büyük kurvatura genişlemeye devam eder . Buraya yapışan dorsal mezenter kısmı torba gibi aşağıya sarkmaya başlar . Bu torba omentum majusu yapacaktır . Ventral mezenter yavaş geliştiği için küçük kurvatur tespit edilir (42). Karaciğerin yukarıya ve sağa doğru deplasmanı midenin piloru ile duodenumu yukarıya doğru çeker ve küçük kurvatur kıvrılır. Mide “J” harfi şeklini alır . Orijinal mesoduodenum arka duvara temas eder ve yapışır . Karaciğerin yukarıya ve sağa doğru dönmesi ve midenin arka yüzünde bursa omentalis denilen boşluk oluşur . Bu boşluk karaciğerin alt yüzündeki foramen epiploicum adlı delik hariç tamamen kapalı bir boşluktur . Midenin büyük kurvaturundan sarkan dorsal mezenter kısmı bir katlanma sonucu meydana geldiği için iki ön ve iki arka olmak üzere dört yapraktan oluşmuştur . Buna omentum majus denir. Kesenin aşağı kısmında iç yapraklar birbirine yapıştığı için , bu kısımlar tıkanmıştır. Orijinal olarak arka yaprak mezokolon transversum’un tutunma yerinin biraz üstünde arka duvara yapışır . Daha ilerideki gelişmede bu yaprak mezokolon transversum yapısına karışır . Omentum majus ön yaprağının transvers kolon üstünde kalan kısmına Gastrokolik Ligament denir (43).

2. Orta barsak rotasyonunun mekanizması: Orta barsakta ventral mezenter atrofiye uğradığı için barsak yalnızca dorsal mezenterin serbest kenarında asılmış tır. Dorsal mezenterin iki yaprağı aort ön yüzünden karın duvarına atlayarak parietal peritonu oluşturur. Orta bağırsağın rotasyonu üç evrede olur:

Fizyolojik herni evresi: İlk evrede barsak Ductus Vitello İntestinalis yoluyla Yolk Salk kesesine bağlı olduğu için gelişmesinde öne doğru bir herniyasyon gösterir. Omfalomezenterik arter bu herninin tam ortasında eksenini teşkil eder . Herninin arterin üstünde kalan kıvrımına prearterial kıvrım , altında kalan kısmına postarterial kıvrım denir . İlk aşamada, sagittal hatta bulunan herni 90 derece sağa döner.

Redüksiyon evresi: Prearterial kıvrımın proksimal parçası öne çekilmeye uğrar. Omfalomezenterik arterin altına ve sola doğru çekilir . Bu sırada duodenum normal şeklini alır . Post arterial kısmın distalinde çekum taslağı belirir . Prearterial kısım eksen olmak üzere , sağa doğru 180 derecelik bir rotasyon olur . Bu rotasyonla çekum ve kolonun proksimal kısmı karın sağ -alt kısmına aktarılırlar. Böylece barsak

toplam olarak 270 derece rotasyon yapmış olur.

Tespit evresi: Bu evrede çekum daha aşağıya inerek normal yerini alır . Asendan kolonun dorsal mezenter arka yüzü karın arka duvarına yapışır . Mezokolon transversum enine bir hal alır. Dessenden kolonun dorsal mezenteriyi yine karın arka duvarına yapışır (41, 43, 44).

2.2.2.Periton

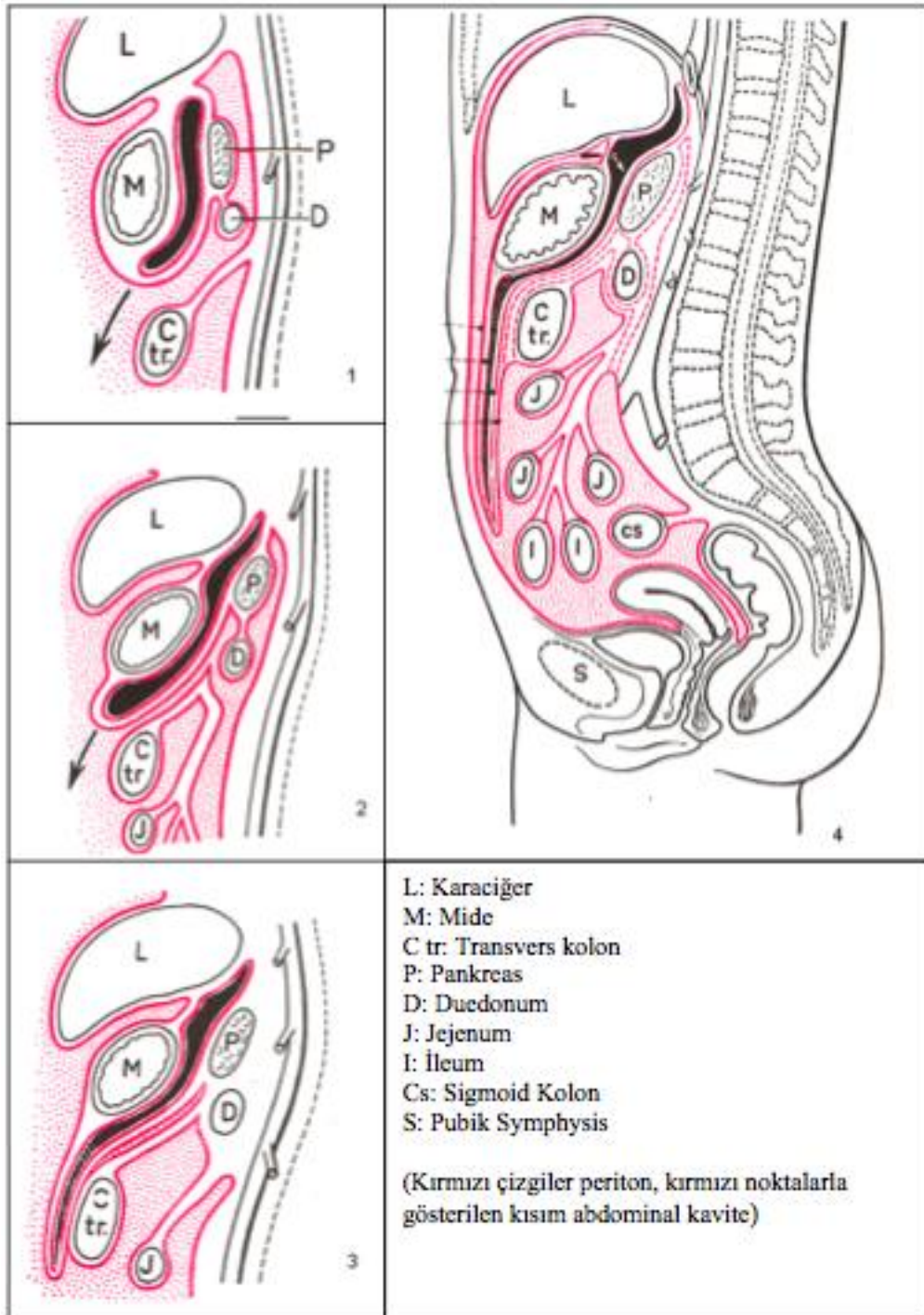
Embriyonik dönemin ilk haftalarında gelişmeye başlayan, karın boşluğunu kaplayan ve kendi adı ile bilinen boşluğu saran seröz bir zarıdır. Tüm abdominal (çöлом) boşluğunu sınırlandırır. Periton iki tabakadan oluşur. Bir tabaka boşluğu (parietal) ve diğer tabaka organları (visseral) sarar. Parietal periton karın duvarı ve organlara kadar uzanırken visseral periton organları kapsar. Periton ince bir tabaka bağ dokusu ile mezotelyum tarafından desteklenir. Periton hem karın içi organların destekler hem de kan, lenf damarları ve sinirler için bir kanal olarak hizmet etmektedir. Periton içindeki bulunan yapılara (örneğin mide) "intraperitoneal", karın boşluğunda periton arkasında bulunan yapılara "retroperitoneal" (böbrekler gibi) ve periton altında bulunan yapılara "subperitoneal" veya "infraperitoneal"(mesane gibi) denir (45-Şekil.1-2). Periton yüzeyinde iki periton yaprağının kayganlaşmasını sağlayan ince bir sıvı katman bulundurur. Visseral periton yapısında organlara giden kan, lenf damarları, sinirler bulunur. Parietal periton sinir yapısı ve dolaşım ile karın duvarını destekler. Burada açıklanan yapılar peritonda dokular tarafından oluşturulmaktadır;

Mezenter ve periton kıvrımları ve ligamentler:

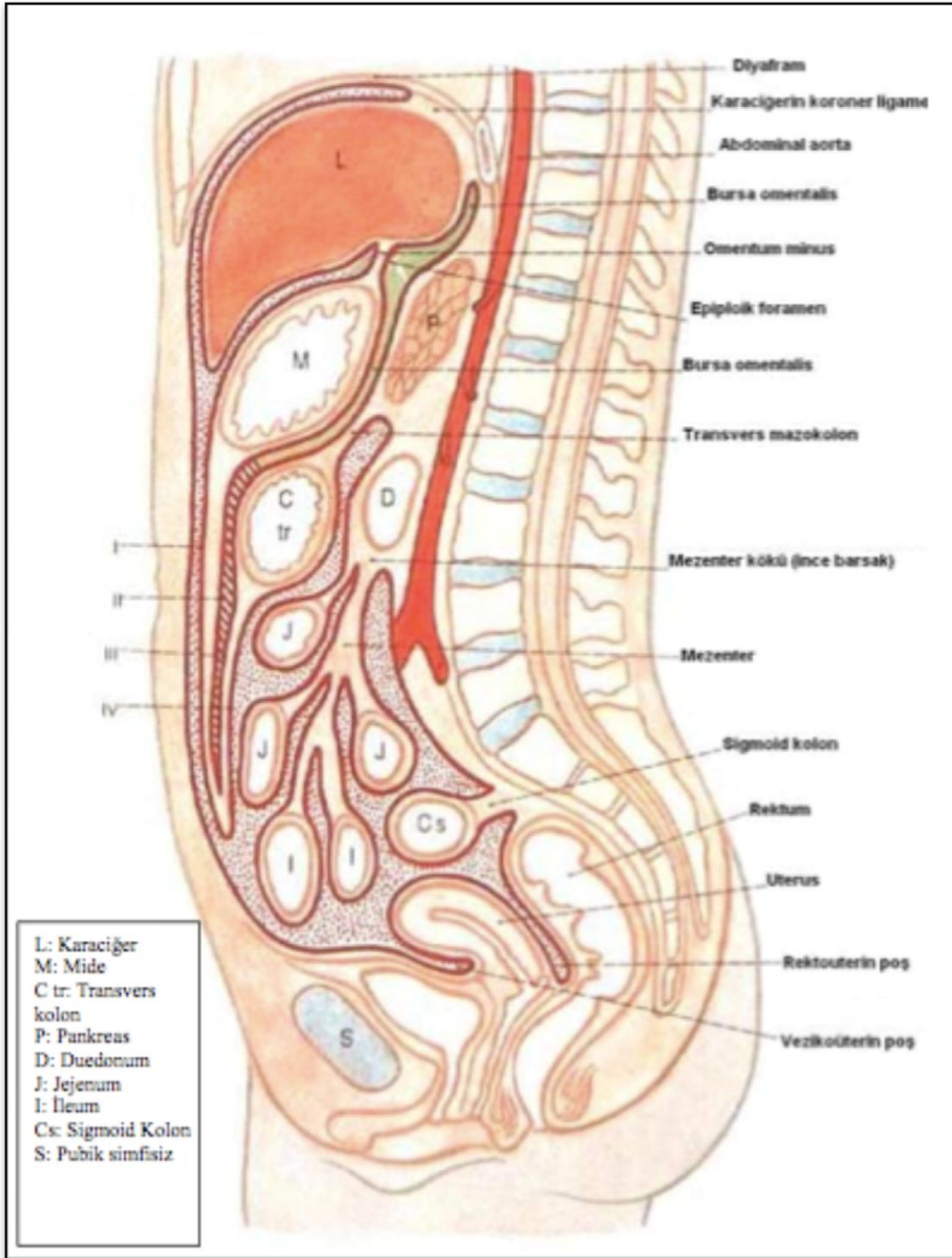
Mezenter, bazı bağ dokusu tabakaları ile organları desteklemeye yardımcı olan içinde bu organlara giden sinirler ve kan damarları bulunan çift katmanlı bir periton yapısıdır. Mezenter abdominal organları posterior abdominal duvara asar. Organlar mezenter yapısı içinde korunaklı kalarak yarı hareketli bir konumda dururlar.

Büyük omentum ve küçük omentum;

Barsak üzerinde onlara destek olan ve üzerini örten bir yağ tabakasıdır. Büyük omentum ve küçük omentum da periton çift katmanları oluşturur.



Şekil 1: Abdominal kavitenin ve peritonun embriyolojik gelişimi



Şekil 2: Abdominal kavitenin ve peritonun sagittal kesitte görünümü

Büyük omentum aşağıdaki bağları oluşturur:

Gastrofrenik bağ: Midenin büyük kurvaturunu diyaframa bağlar.

Gastrosplenik bağ: Midenin büyük kurvaturunu dalağa bağlar.

Gastrokolik bağ: Midenin büyük kurvaturu ve duodenumun ilk bölümünü transvers kolona bağlayan oldukça büyük bir ligamendir.

Küçük omentum aşağıdaki bağları oluşturur:

Hepatogastrik bağ: Midenin küçük kurvaturunu karaciğere bağlar.

Hepatoduodenal bağ: Duodenumu karaciğere bağlar (46).

Periton esasında tek katlı mezotelyal hücrelerin sıralanmasıyla oluşur. Mezotel altında damar-sinir paketleri, elastik-kollajen lifler, retiküler hücreler, yağ hücreleri, doku makrofajlarını içeren gevşek bağ dokusu bulunur. Periton uğradığı hasar sonrasında hızlıca tekrar epitelize olma ve oluşturmuş olduğu sekresyonlar ile örttüğü dokulara kayganlık sağlar. Peritonun kısmı olarak absorpsiyon özelliği de bulunmaktadır. Bu üç özellikli yapı PPA gelişimi ve önlenmesinde önemli rol oynar (47-51) .

Periton Resesusları

Periton organları tamamen kaplaması bazı bölgelerde recessus adı verilen çıkmazları oluşturmasına neden olmuştur. Barsak yapılarının periton ile oluşturmuş olduğu yarı hareketli yapısı; özellikle ince barsak anslarının bu çıkmazlara girerek internal herniasyonlara ve akut barsak tıkanmalarına sebep olmaktadır. Bu nedenle resesuslar cerrahi öneme sahiptir. Bunlardan en önemlileri duodenum ve çekum resesuslarıdır.

Resesular ayrıca patolojik sıvıların yayılmasına yardımcı olmaları nedeniyle klinik öneme sahiptirler . Normalde bu resesusların lümenleri karın boşluğu veya birbirleriyle bağlantılıdır . Ancak komşu periton veya iç organlar ile adezyonlar oluşabileceği için ayrı boşluklar olarak kalabilirler. Böyle bir durumda içindeki patolojik sıvıyı da hapsederler (43, 46).

2.2.3. Periton Boşluğunun Fizyolojisi

Periton boşluğu vücut içindeki en geniş hacimli boşluğu sınırlandırmaktadır. Organların yüzeyinde bulunan visseral periton pariyetal peritondan daha incedir. Ayrıca periton boşluğu kadınlarda fallop tüplerin açıklığı hariç dışarıya tamamen kapalıdır. Peritonun yaklaşık %80'ini viseral ve %20'sini pariyetal periton oluşturur.

Pariyetal periton ile viseral periton arasında kayganlık oluşturarak organ yapılarını koruyan; yoğunluğu 1,016 mg/dl, berrak-transuda karakterinde , protein içeriği 3gr/dl'den az 50 ml civarında bir sıvı mevcuttur. Bu sıvı intra-abdominal organ yüzeylerinden, karın kapillerlerinden ve mezotelyal hücrelerden sızan sıvıdan oluşur (47, 48). Bu sıvı içeriğinde mm³'te 300'e yakın makrofaj ve lenfositlerden oluşan hücre ihtiva eder. Bu hücreler antibakteriyel özelliğe sahip oluşlarıyla periton boşluğunun bağışıklık sistemini oluşturur. Periton boşluğu steril bir yapıya sahiptir. İnşamasyon ya da enfeksiyon sıvı hacmini ve hücre sayısını artırır (49-51).

Periton boşluğunun çok büyük bir kısmı madde alışverişinde aktif rol alır. Periton suyun ve suda erimiş düşük molekül ağırlıklı maddelerin difüzyonu için pasif yarı geçirgen bir zar gibi davranır . Böbrek yetmezliğinde peritoneal diyaliz aracılığıyla peritonun bu özelliğinden faydalanılarak vücuttaki zararlı maddeler atılır . Sıvı alış veriş splanknik dolaşımı ve damar geçirgenliğini arttıran maddeler ile daha da artar. Peritonun 1mm kalınlaşması, 1.8 lt sıvının peritonda toplanmasına yol açar . Akut yaygın peritonitlerde ilk 24 saatte meydana gelen hemodinamik değişiklikler , derinin %50 ve daha fazlasının yanması ile meydana gelen hemodinamik değişiklikler ile benzerdir (50, 52).

Viseral periton mezenterik arterden beslenir ve venleri portal dolaşıma boşalır. Parietal peritonun kan dolaşımını ise karın duvarı arter ve venleri sağlar . Periton boşluğunun lenfatik drenajı diyafragmatik stomata'da bulunan lenfatik kanallardan sağlanır . Periton boşluğundan sıvının ve molekül ağırlığı 20.000 daltonun üzerinde olan partiküllerin emilimi lenfatikler aracılığıyla gerçekleşir (53). Diyafragma dışı periton pasif yarı geçirgen bir membran yapısı gösterirken diyafragmatik yüzey partikül ve sıvı emilimini gerçekleştirir.

Peritonu oluşturan mezotelyal hücreler mikrovili yapıları gösterdiğinden ve sık bir şekilde yerleşmiş olduğundan bir halı görünümündedirler. Ancak diyafragmanın alt yüzeyinde bulunan özel lenfatik kanallar (lakunae), mezotelyal

hücreler arasındaki küçük delikler (stomata) aracılığı ile peritoneal boşluğa açılırlar . Diyafragmanın nefes vermede gevşemesi ile peritoneal boşluktaki sıvı deliklerden lakunalara kolayca akar. Diyafragmanın nefes almada kasılması ile toraks içi basınçtaki eşzamanlı düşüşün de yardımı ile lakunalarındaki sıvıyı iletici lenf kanalları boşalır. Torasik lenfatiklerdeki tek yönlü kapakçık yapıları lenf sıvısının geri akışını engeller. Torasik kanala ilerleyen sıvı son olarak da subklaviyan vene boşalır . Karın zarı deliklerinin büyüklüğü (8-12 µm) karın boşluğundan emilebilecek partiküllerin maksimum büyüklüğünü belirler (54). Daha büyük partiküllerin emilebileceği tek yer ise omentumdur (55-57).

Peritoneal kavite içindeki bakteri ve partiküler debrisin diyafragmatik peritondaki lenfatik ağızlar tarafından absorbe edildiği ilk kez 1983'de Von Reclinghausen tarafından öne sürülmüştür . Daha sonra yapılan elektron mikroskopik çalışmalarla da bu anatomik yapıların varlığı ispatlanmış olup , periton içine çeşitli boyalar (indian ink) ya da partiküler (lateks spheres) enjeksiyonu ile absorpsiyon mekanizmaları da ayrıntılı olarak açıklanmıştır (57-59). Dumont ve arkadaşları, intraperitoneal madde enjeksiyonunun diyafragmatik lenfatik absorpsiyonu azalttığını göstermiştir, benzer çalışmalar ülkemizde de yapılmıştır (60, 61). Bunun mekanizmasıda; enjekte edilen maddelerin lenfatik ağızlarda tıkaç oluşturmasıdır . Benzer şekilde fibrin yıkım ürünleri de tıkaç oluşturarak diyafragmatik absorpsiyonu azaltabilir (61, 48).

Bakterilerin ortalama çapı 0,5-2µm arasında olduğundan karın boşluğundan kolayca temizlenirler (54).

İntraperitoneal madde enjeksiyonu ya da diyafragma hasarı yaparak oluşturulan deneysel peritonit modelinde, diyafragmatik absorpsiyonu engellenen sıçanlardan diyafragma hasarı oluşturulmayanlar, oluşturulanlara oranla daha uzun yaşamışlardır (62). Bunun nedeni bakteriyeminin daha geç olmasıdır.

Karın içi basınç artışı , karın boşluğunun bakterilerden temizlenmesini hızlandırırken geçirilmiş laparotomilere bağlı adezyonlar geciktirir . Genel anesteziyle solunumun baskılanması ve pozitif basınçlı ventilasyon, iletici lenf akımını engelleyerek bakterilerin temizlenmesi hızını yavaşlatır(63).

Peritoneal lenfatik absorpsiyonun büyük kısmı diyafragmatik lenfatikler tarafından yapılır. Burada lenf sistemi sırasıyla; diyafragmatik lenfatikler, anterior

mediastinal lenfatikler, sağ lenfatik duktus , sağ internal juguler ven ile subklavien venin bileşke noktası ndan ilerleyerek genel dolaşıma katılırken (64, 65); duktus torasikusun içeriğini , GİS organları, karın duvarı ve alt ekstremiteler lenfatikleri oluşturur (66).

Kardiyofrenik (anterior diyafragmatik) lenf nodları median ve bilateral komponentlerden oluşmuştur . Median lenfatikler ksifoid, lateraller ise yedinci kostanın arkası hizasındadır. Bu nodlara lenf sıvısı peritoneal ve plevral kaviteden gelir. İletici yollar bu boşluklardan lenf sıvısını internal mamarian lenf nodlarına taşır. Bu nodların büyümesinin en sık sebebi lenfomalardır (66, 67).

Diyafragmanın peritoneal yüzeyinde lenfatik stomalar olduğu gibi benzer şekilde plevral yüzeyde de aynı stomalar vardır ve bunlar interplevral sıvı artıklarını absorbe ederler. Bunlar, aynı peritoneal yüzeydeki gibi solunumla absorpsiyon kapasiteleri ve akım hızları artan ağızlardır . Plevral sıvının absorpsiyonunda major yol lenfatik drenajdır ve drenajda en etkin bölge, diyafragmatik stomalardır (68).

2.2.4. Peritoneal Lenfatik Sistem

Lenfatik sistem interstisyel aralıkta bulunan ve/veya kan damarlarıyla taşınımı mümkün olmayan maddelerin (özellikle de albümin ve diğer intravasküler proteinlerin) taşınımında ana bir görev görür. Yapılan birçok deneysel çalışma ile diyafragma lenfatik drenajının, anatomi ve fizyolojisi araştırılmıştır (53, 69, 70).

Peritoneal diyaliz, diagnostik peritoneal lavaj, asit tedavisi ve abdominal kavite içi kanserlerde lokal kemoterapötik uygulamaları peritoneal transport fizyolojisi üzerinde yapılan çalışmalarla olanaklı hale gelmiştir (71, 72). Bununla birlikte lenfatik sistemin morfolojik, moleküler ve fonksiyonel özelliklerinde henüz aydınlatılmamış noktaları vardır ve bu sebeple onkoloji, enfeksiyon hastalıkları, immünoloji ve transplantasyon bilimlerine katkı yeterince sağlamamıştır (73).

Lenfatik damarların pasif olduğu düşüncesi yapılan araştırmalarla lenfatik damarda bulunan kontraktil aktin filamentlerinin içeren düz kaslar varlığının gösterilmesi ile aktif bir şekilde gerçekleştirildiği düşüncesine yerini bırakmıştır. Bu kas yapılarının, otonom sinir sistemi ve bazı hormonların etkisi altında olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (74, 75).

Lenf akımı dört ana faktör tarafından belirlenir:

1. Lenf damarları ve kapaklarının pompa hareketleri: Lenf damarları ritmik ve devamlı kontraksiyon gösterirler. Bu hareketler duktus torasikusa kadar bütün lenf sistemi boyunca görülür. Ayrıca lenfatik kapillerler dışındaki tüm lenf damarlarında juguler ve subklaviyan venlere doğru akım yönünde ve geriye kaçıışı engelleyici kapak yapıları vardır.

2. Doku hareketleri sayesinde lenfatik pompalama: Lenfatik damarlara dışarıdan gelecek bir doku baskısı lenf akımı yönünde sıvının bir yerden bir yere geçmesini sağlayacaktır.

3. Terminal lenfatik kapiller pompası: Bazı hayvanlarda ve muhtemelen insanlarda lenfatik kapillerlerin en uç kısmında lenfatik kasılma veya baskı da lenfatik pompalamaya katkıda bulunur.

4. İnterstisyel sıvı basıncının lenf akımına etkisi: Büyük lenf damarlarının 20-40mmHg basınca karşı bile pompalama yapabilmesine karşın , lenfatik kapillerlerin en ucundaki emici pompa hareketinin zayıf olduğu görülmektedir . Birçok dokuda bu emici durumun sınırı -7mmHg kadardır . Yani interstisyel sıvı basıncı -7mmHg'nın altına düşerse lenf akımı durur (76).

Diyafragmatik peritoneal yüzey ; periton içindeki gerek sıvı gerekse protein absorpsiyonu için oldukça önemlidir (55, 65). Çünkü diyafragmatik lenfatiklerin diğer peritoneal lenfatiklerden farklı olarak mezotelyal hücreler arasına yerleşmiş “diyafragmatik lenfatik stomata” adı verilen geniş absorpsiyon alanları vardır . Stomataların çevresinde aktin içeren kontraktıl filamentler yer alır. Bu filamentlerin kontraksiyonu stomata çapını regüle eder. Bu stomata'larda bazal membran yoktur ve bu sayede, peritoneal kavitede absorbe ettikleri materyalleri doğrudan “terminal lenfatik lakunae” adı verilen bir başka boşluğa aktarırlar . Lacunae'lar diyafragmatik kas liflerine paralel yerleşimli olup kapakçıkları vardır . Kendilerine stomata'lardan drene olan lenfayı mediastinal lenfatiklere aktarırlar (56, 57). Diyafragmatik lenfatikler caudal sternal lenfatiklere , onlarda sağ lenfatik duktusa açılırlar . D. Torasikusa açılım yoktur (55).

Peritoneal kavite içindeki moleküller iki yolla absorbe olur ; peritoneal kan kapillerleri ve lenfatikler . Kan kapillerleri sıvı , elektrolit ve küçük molekül ağırlıklı maddelerin absorpsiyonunu sağlar.

Diyafragmatik lenfatik absorpsiyon üzerine birçok faktör etkilidir (77, 78). İntraperitoneal endotoksin enjeksiyonu , abdominal cerrahi, diyafragmatik ritmik hareketler, peritonit, absorpsiyon ve akımı artırır. Genel anestezi ve özellikle de bazı volatil anestezikler, intraabdominal basınç artışı absorpsiyon ve akımı azaltır (79). Campbel ve arkadaşlarının koyunlar üzerinde yaptığı çalışmada lenfatik kontraksiyon ile lenfa akım hızı arasında doğru orantı olduğu gösterilmiştir (80).

2.2.5. Periton Histolojisi

Epitel: Yunanca epi (üstte, üzerinde) ve theleos (örtü) sözcüklerinden oluşmuştur. Epitel hücreleri, embriyonun üç germinatif tabakasından da (ektoderm, endoderm ve mesoderm) köken alabilir (81).

Mezotel: Seröz boşlukların (periton, plevra, perikart) örtülerine mezotel(yum) denir. Periton mezodermden köken alan epitelden oluşmuştur . Tek sıra yassı poligonal hücre tabakası çoğu yerde kesintisiz yüzeysel bir tabaka oluşturur . Bazı yerlerde (omentum majus) ise kesintilidir.

Fagositik olduğu ileri sürülen mezotel hücreleri serbest makrofajlara dönüşebildiği gibi fibroblast hücrelerine de dönüşebilmektedir . Mezotel kökenli fibroblastların kaynaşmaları , periton ile komşu yapılar arasında yapışmalara sebep olabilir.

Mezotel birçok bakımdan kan damarlarını döşeyen endotele benzer . Diyaliz membranı görevindedir . Mezotel hücrelerinde birçok pinositik vezikül görülür . Organel bakımından fakir oluşu düşük metabolik aktivitesine işaret eder . Hücre sınırları düzensizdir.

Bağ dokusu: Makrofaj ve lenfosit zengin gevşek bağ dokusudur . İçinde yağ hücreleri bulundurulabilir. Lenfosit kümelenmeleri, makroskopik olarak süt lekesi şeklinde seçilir. Bazı yerlerde yağ hücreleri ve elastik li şerden zengin subseröz doku bulunur. Periton damar ve lenfatiklerden zengindir.

Peritoneal sıvı: Su, elektrolitler, protein ve değişik tipte hücre (normalde dökülmüş mezotel , makrofaj, mast hücresi , fibroblast ve lenfosit) içerir. Komşu organlardan gelen interstisyel sıvı ve plazmadan kaynaklanan bir sıvıdır . Yapı elemanlarının sayısı , morfolojisi ve tipi patolojik koşullarda değişir . Peritoneal

sıvının analizi patolojik durumların tanısında değer taşır (81).

Periton Membranından Madde Transportu

Periton membranından madde transportu membranın iki yanındaki konsantrasyon farkından kaynaklanan kuvvet ile gerçekleşen difüzyonla ve moleküllerin suyla birlikte yer değiştirmesi olan konveksiyonla gerçekleşir.

Difüzyonla madde değişimi; çok yoğun ortamdan az yoğun ortama doğrudur. Difüzyon hızı; molekül büyüklüğü, hücrelerinin yüzey büyüklüğü, moleküler elektriksel yük ile değişmektedir.

Konveksiyonla, membranı aşan molekül sayısı yer değiştiren suyun miktarına, başka bir deyimle ultrafiltrasyonun miktarına bağlıdır . Erişkinlerde en hızlı değişimlerle dahi , periton membranının üre klirensi 30ml/dk'yı aşmaz. Periton membranının geçirgenliğinin ölçülmesi için birçok metot geliştirilmiştir . Çok komplike ölçüm metotları gibi, klinikte kullanılacak basit metotlarla da ölçülebilir. Peritoneal eşitlenme testi (PET) de bu amaçla geliştirilmiş pratik bir klinik testtir (56, 78).

Periton Boşluğunda Konakçı Savunma Fizyolojisi

Gelişen tekniklerle sürekli ayaktan periton diyaliz (SAPD) olan hastalarda peritonit gelişme sıklığı; 1989'da % 25 olan peritonit yüzdesi, 1992'de yılda % 0,8'e kadar gerilemiştir. Ancak peritonit sıklığına etki eden faktörlerin periton diyalizinde kullanılan teknoloji ile sınırlı olmadığı bilinmektedir . Bu durum peritonit sıklığının diyabet, 40 yaşın üzerinde olmak , ırk gibi nedenlerle konakçı savunma mekanizmalarının etkinliğinin hastadan hastaya değişmesiyle açıklanabilir . Aktif peritoniti bulunmayan SAPD hastalarının % 7'sinin diyalizatlarında canlı mikroorganizmaların izole edilebildiği de bilinmektedir (65, 69, 70).

Periton boşluğunda , bir immünolojik savunma sistemi bulunmaktadır . Bu savunma sisteminin bilinen bileşenlerini şöyle özetleyebiliriz.

1Fagosite edilmiş bakterilerin lenfatiklerle periton boşluğundan uzaklaştırılması.

2Fibrin parçacıkları ile bakterilerin kaplanarak etkisizleştirilmesi.

3Periton sıvısının hücresel antibakteriyel savunma mekanizmaları:

a) Opsoninler:

IgC, C3, fibronektin

b) Fagositoz:

Peritoneal makrofajlar, polimorf nüveli lökositler (PNL), lenfositler, dendritik hücreler

Kemotaktik faktörler (C5a, LTB4)

c) Reseptör aracılığı ile bakteri ve makrofajın birleşmeleri

d) Bakterinin makrofaj içinde öldürülmesi:

Oksijene bağlı, peroksidazdan bağımsız yol

Lizozomal enzimler

Nitrik oksit yolu

Sık peritonit geçiren hastalarda yapılan çalışmalar bu hastalarda:

PGE2 yapımının arttığını

IL-1 beta yapımının azaldığını

IFN gama yapımının azaldığı

IFN gama azalmasına bağlı olarak Fc reseptör ekspresyonunun , respiratuvar burst aktivitesinin ve intrasellüler bakteri öldürme kapasitesinin azaldığını göstermiştir (82, 83, 84).

Bu bilgilere karşın peritonit tedavisinde immün sistemin uyarılması ve düzeltilmesi prensibine dayalı tedavi yaklaşımlarının değeri yeterince araştırılmamıştır.

2.3.Peritoneal Adezyon:

Adezyon, abdominal organların cerrahiye bağılı yada peritonit, endometriozis, kemoterapi, radyasyon ve/veya kanser nedeni ile oluşan fibröz bantlarla, kendi aralarında yada karın duvarına yapışmalarıdır (85). Adezyonlar, intestinal tıkanıklık, kronik pelvik ağrı ve infertiliteye sebep olmaları dışında üreteral tıkanıklık, mesane disfonksiyonuna ve disparaneuya neden olmaları dışında intraperitoneal uygulanan ilaçların homojen dağılımını engelleyebilirler (86, 87). Oluşan bu adezyonlar tekrarlayan cerrahilere (sezaryen) veya daha sonra yapılacak cerrahi müdahaleleri güçleştirmesi ve izin vermedikleri için günümüzde genel cerrahların ve jinekologların önde gelen sorunlarındanıdır.

Intraabdominal operasyon geçiren hastaların yaklaşık % 90'ında adezyon gelişebilir fakat bu hastaların sadece %20-30'ında klinik bir tablo gelişir. Adezyonların tedavisi çoğunlukla konservatif olarak sağlanabilse de klinik tablo farklı cerrahi komplikasyonlar nedeniyle hastanın kaybına kadar gidebilmektedir (9, 10).

2.3.1.Peritoneal Adezyonların Önemi

Peritoneal adezyonlar, karın boşluğundaki gelişen fibrinöz ya da fibröz nitelikteki bantlardır (88-92). Bu bantlar zamanla mekanik yada fonksiyonel intestinal obstrüksiyonlara, volvuluslara, infertiliteye ve abdominal ağrıya neden olabilirler (51, 90, 93-96).

Peritoneal adezyonların bu olumsuz etkileri yanında defektli iskemik serozal yüzeylerde ya da bağırsaklarda damarlanmaya yardım ederek vasküler bir greft olarak görev yapmaları, anastomoz ya da enterotomi yapılan bölgelerdeki sızıntıyı önleme ve lenfatik drenaj oluşturmaları ile generalize peritonitisi önleme gibi vücudun bir savunma sistemi olarak da olumlu etkileri vardır (92, 97, 98).

Postoperatif peritoneal adezyonların önlenmesinde medikal profilaksiye önem verilmesi tavsiye edilmektedir. Medikal profilaksinin başarısı; fibrinöz eksudasyonun ve enşamatuar reaksiyonun azaltılması, koagülasyonun inhibisyonu, fibrinolitik aktivitenin stimülasyonu, fibroblastik proliferasyonun inhibisyonu ve serozal yüzeylerin mekanik olarak ayrılmasına bağılıdır (25). Steroid antienşamatuar ilaçlar adezyon gelişiminin ilk basamağı olan yangısal süreçte, eikozonoid adı verilen ve

epoksijenaz ile sikloksijenaz enzimleri katalizörlüğünde şekillenen prostaglandin, prostasiklin, tromboksan ve lökotrien gibi yangı mediatörlerinin şekillenmesini bloke ederler. Bu özelliklerinden dolayı steroid ilaçlar kliniklerde yangısal reaksiyonları inhibe etmek, yangı mediatörlerinin etkilerini ortadan kaldırmak ve fibroblastların proliferasyonunu engellemek için kullanılırlar (51, 90, 100-102).

En mükemmel cerrahi teknikleri bile tek başına adezyonları önlemekte yetersiz kalmakta, az yada çok adezyon oluşmaktadır (103). Ayrıca intestinal tıkanıklıkların nedenleri içinde adezyonlara bağlı ortaya çıkan tıkanıklık sıklığı giderek artmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda intestinal tıkanıklık nedenleri içerisinde, adezyonların görülme oranı %64-91 olarak bulunmuştur (48). Laparotomi sonrasında hastaların %17-29 kısmında brid-ileus ilk bir ay içinde gelişirken gecikmiş olanlar bir ay süreden dekatlar sonrasına kadar uzayabilir. Olguların %16-28 kısmında 1 ay -1 yıl arası, %25-28 kısmında 1-5 yıl arasında, %25-39 kısmında 5-20 yıl arasında, %5-17 kısmında ise 20 yıldan daha uzun sürede adezif ileus gelişebilir. Apendektomi veya herniografi sonrasında brid-ileus intervali kolorektal veya jinekolojik işleme göre daha uzundur. Weibel ve Majno tarafından daha önce karın ameliyatı geçiren kadavralar üzerinde yapılan bir çalışmada, olguların %67'sinde intraabdominal adezyonlara rastlanmıştır (104). Yine benzer olarak Menzies ve Ellis, en az bir karın ameliyatı geçirenlerin %93'ünde adezyon saptarken ameliyat geçirmemiş olguların %10.4'ünde adezyon (%9.5'i inşamatuar, %1'i konjenital nedenlere bağlı) saptanmıştır (105).

İnşamasyona bağlı adezyonların çoğunluğu akut apandisit (%42) ve divertikülite (%14.5) bağlıyken, diğer nedenler ise pelvik inflamasyon, kolesistit ve Crohn hastalığı gibi sebeplerdir (106).

Tüm laparatomilerin %1'inde 1 yıl içinde, %3'ünde cerrahiden sonraki herhangi bir dönemde adezyona bağlı tıkanıklık gelişir (106-108). Tüm ince barsak tıkanıklıklarının %60-70'i adezyonlara bağlıdır (107). Adezyonlara bağlı tıkanıklıkların cerrahi tedavisi (adezyolizis) sonrasında %11-21 vakada nüks gelişmektedir (108). Relaparotomi yapılan hastaların %21'inde ameliyat sırasında adezyona bağlı barsak perforasyonu gelişebilir (109) ve bu adezyona bağlı cerrahi tedavi mortalitesi %6-8 ve %13 olarak bildirilmiştir (110, 111).

Over kanseri nedeni ile cerrahi uygulanan hastalarda postoperatif barsak tıkanıklığı adezyonlar sonucunda ortaya çıkmaktadır sitoredüktif cerrahi de sıklığı %22 iken; histerektomi sonrasında radyoterapi uygulananlarda %20 olarak bulunmuştur(87, 112).

İnce barsak tıkanıklıklarının en sık görülme yeri cerrahi klinikleri arasında çok değişim göstermemekte en sık ileum ve omentumda adezyon gelişmektedir (88, 92, 94, 113). Gerçekleşen adezyonda genelde bu iki yer arasında olmaktadır.

Diğer bir komplikasyon olan kronik pelvik ağrısı olanlar hastaların %20-50'sinde adezyonlar saptanmıştır. Adezyonlar ile pelvik ağrının varlığı arasında herhangi bir ilişki kurulamamış olsada pelvik ağrı tedavisinde “adezyolizis” uygulanmaktadır (48, 88).

Adezyonlar; intestinal tıkanıklık, kronik pelvik ağrı ve infertilite dışında üreteral tıkanıklık, mesane disfonksiyonuna ve disparaneuya neden olabilirler (89,90).

2.3.2. Peritoneal Adezyonların Oluşum Mekanizmaları

Peritonda yara iyileşmesi her iki periton parçası içinde, defekt büyüklüğüne bakmaksızın 5-8 gün içinde kapanır. Adezyon oluşumu, büyük ölçüde peritonun oluşan fibrini eritebilme yeteneğini azaltan yada aşırı fibrin birikimine yol açan; travma, iskemi, yabancı cisim reaksiyonları, enfeksiyon ve endometriozis artıkları gibi faktörlere bağlıdır (100).

İlk basamakta fibrin polimerizasyonu gerçekleşir. Bunu trombositler ve fibrin; zararlanmış bazal membran ile temas ederek gerçekleştirir. Dolaşımında problem olmayan endotel hücreleri plazminojen aktivatörlerini oluşturarak bu oluşan fibrin pıhtılarını parçalama özelliklerine sahiptir (91). Bu belirtilen cevap endotel devamlılığı tekrar kurulmadan 3 gün içinde ortaya çıkar ve 8. güne kadar giderek artar. Bu dönemde görülebilen bir hipoksi durumu fibröz adezyonların gelişimine sebep olur. Bu aktivite yaralanmadan 10 gün sonra görülür ve iki ile üç hafta arasında maksimuma ulaşır (101).

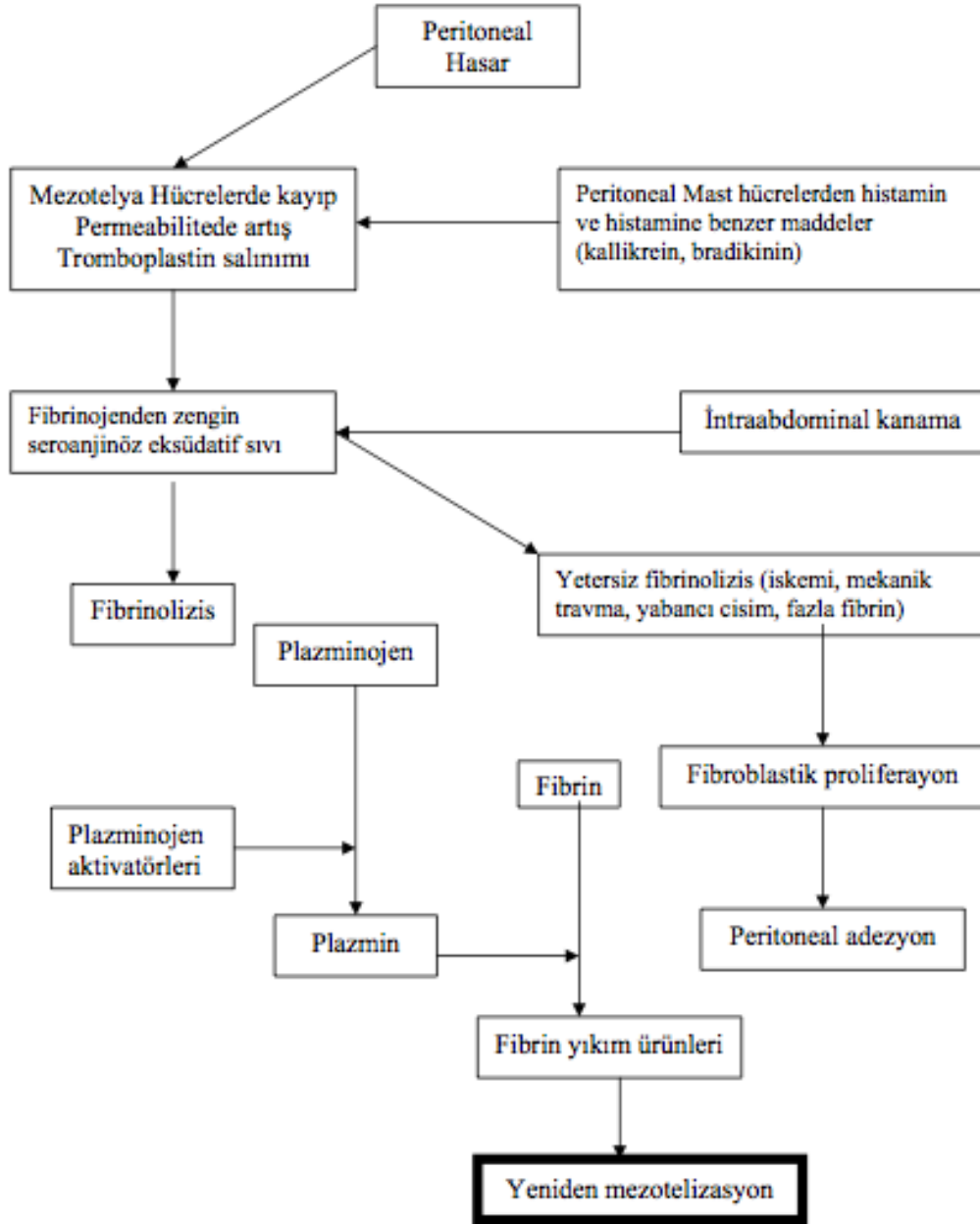
Fibröz adezyonlarda 4. hafta ile bir remodelling oluşur ve fibröz adezyonlarda bir zayıfşama gelişir. Cerrahi sonrası intraabdominal kontaminasyon tespit edilmiş hastalarda, eğer ameliyat 10 ile 120 gün arasında yapılacak olursa mortalite % 20

oranında, eğer 10 günden önce yada 120 günden sonra yapılırsa mortalite %10 oranında görülmektedir (102, 103). Bunun sebebi fibröz adezyonların gelişimidir.

Fibrinolitik faktörlerin aktivitesinin fiziksel, kimyasal yada iskemik travma ile azaltılması adezyon olasılığını artırır. Bu uyarılar doku plazminojen aktivatör (DPA) düzeyini azaltmakta ve DPA etkisini ortadan kaldıran plazminojen aktivatör inhibitör (PAİ) tip1 ile tip2'nin düzeylerini arttırmaktadır. Böylelikle fibrozis gelişmekte ve fibroblast hücre yoğunluğu artmaktadır. Peritoneal yüzeyde oluşturulan travma sonrası fibrin depozisyonu 12 saat içinde ortaya çıkar. Yeni endotel başlangıç yaralanmadan 2-3 gün sonra gelişmeye başlar ve 7-9 gün içinde tamamlanır (104).

Postoperatif yapışıklıklara, yaralanma sonrası mast hücrelerinin aktivasyonu ile aktive olan histamin ve vazoaktif kininlerin salınımı sebep olur. Bu maddeler sonucunda kapiller geçirgenliği artırır ve seröanjyöz vasıfta sıvı birikimi gerçekleşmesine neden olur. Sıvı birikimini peritoneal yüzey ile organlar arasında fibröz köprüler oluşumu takip eder. Adezyon oluşumu periton dokusunun kanlanması bozulması sonucu oluşan iskemi, inflamasyon ve baskılanmış peritoneal fibrinolitik aktivite ile açıklanabilir. Doku travması ile birlikte damar harabiyeti, infeksiyon, dikilme, bağlanma, doku ezilmesi gibi iskemi oluşturan olaylar adezyon etiolojisinde rol oynayan faktörlerdir (104, 105). Şekil-3'te peritoneal adezyonun oluşum basamakları gösterilmektedir.

PERİTONEAL ADEZYON OLUŞUM MEKANİZMASI



Şekil 3. Peritoneal Adezyonun Oluşum Mekanizması

Ellis'e göre iskemi en önemli etiyolojik sebeptir. İskemik dokuya yapışan sağlam dokudan damarsal uzamaların meydana gelerek, iskemik dokunun beslenmesinin teminine çalışıldığını, bunun ise yapılmış bulunan anastomozun canlılığının korunmasına yardımcı olduğunun, travma sonucu beslenmesi bozulmuş doku parçasının adezyonlarla devamlılığının sağlandığını veya iskemik apendiks, safra kesesi gibi organların beslenmesinin sağlanarak perfore olmaktan korunduğunu düşünmüş ve bunun sonucunda adezyonların vücudun bir savunma ve korunma sistemi olarak hayat kurtarıcı olduğunu savunmuştur. Yaptığı deneysel çalışmada devaskülarize edilen bir bağırsak segmenti biri polietilen filmle sarılarak yapışıklık önlenebilmiştir, fakat kanlanması bozulan barsak segmentinde nekroz gelişmiştir (106).

Başka bir çalışmada peritoneal defektlerde fibrin birikintileri üzerinde meydana getirilen fibrinoliz sahasında yüksek düzeyde plazminojen aktivitesi tespit edilmiş ancak bu aktivite iskemik peritonda görülemedi ve iskemik dokuların komşu normal dokulardaki fibrinolizisi inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Şekil-3) (107).

Belzer ve ark. köpeklerde arter ven ve lenfatik kanalların dikkatle korunarak mezenter kesisi yapıldığında adezyon oluşmadığını arter veya ven bağlandığında adezyon oluşturduğunu ve sadece ven bağlananlarda adezyon oluşumunun arter bağlananlardan daha az şiddette olduğunu göstermiştir (114). Bu durumdan iskemi ve/veya reperfüzyonun oluşmasına neden olduğu serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmuştur.

Serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği doku hasarını önleyerek adezyon oluşumunu engellemek için çeşitli antioksidan ajanlar kullanılmıştır. Nitrik oksit (NO) süper oksit bağlayıcı özelliği dolayısıyla serbest oksijen radikallerinde azalma gerçekleştirilerek adezyonu engelleyebilir. NO düzeyini arttırıcı sildenafil sitrat gibi fosfodiesteraz inhibitörleri adezyonu engelleyebileceği deneysel olarak gösterilmiştir (108).

Halsted prensipleri olarak bilinen dikkatli uygulanan cerrahi tekniğin, cerrahi dokuların travmatize edilmesini azaltarak hemostazın korunmasını ve böylece postoperatif adezyonları önlemede rolü olduğu gösterilmiştir (115).

Adezyonları önlemek için bugüne kadar bir çok yöntem ve ajan denenmiştir. Bunların başlıcaları, farmakolojik ajanlar (NSAİD, kortikosteroidler, antihistaminikler, progesteron/östrojen, antikoagulan, fibrinolitik, antibiyotik) ve peritoneal bariyerlerdir (93).

2.3.3.Peritoneal Adezyon Oluşumunda Fibrinolizin Rolü

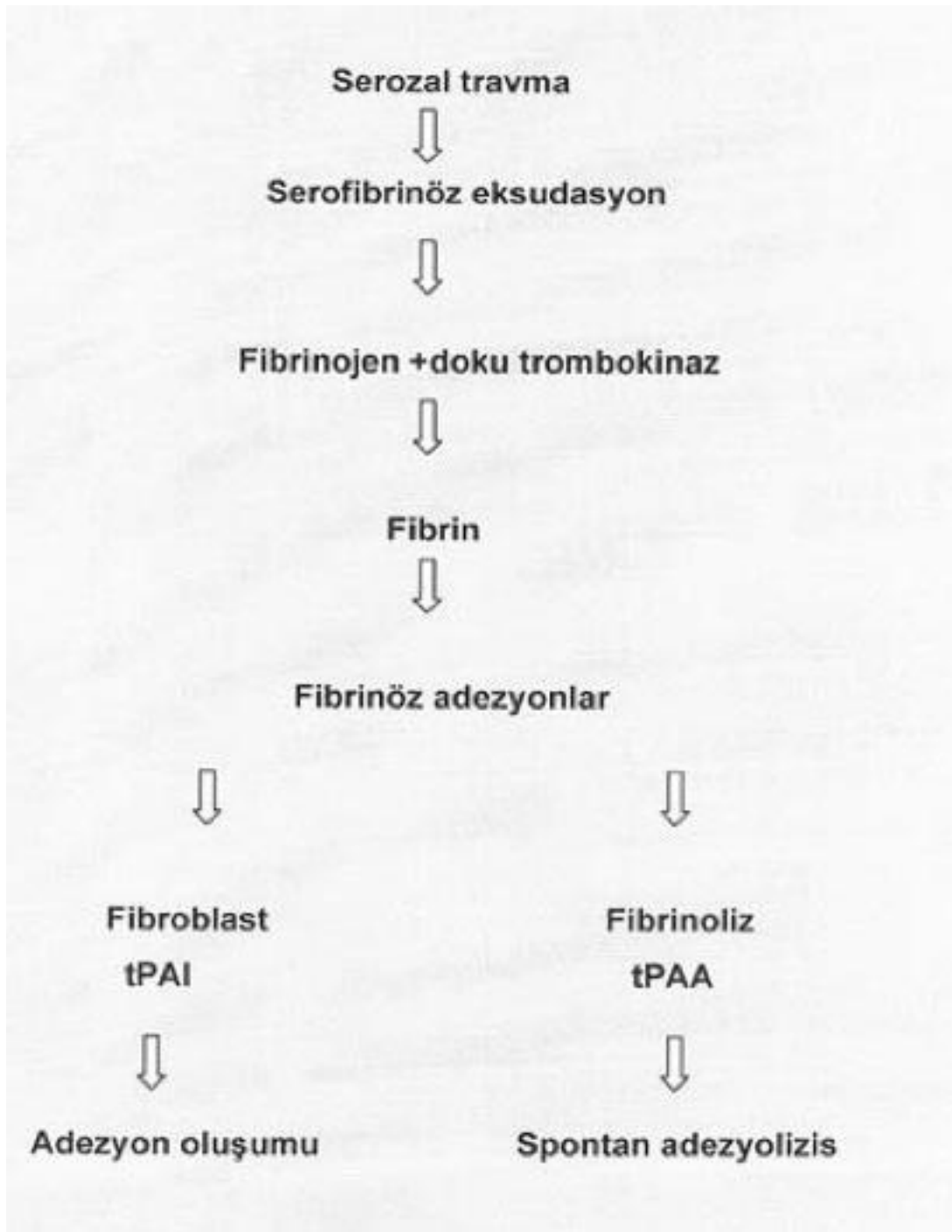
Plazmin, fibrin pıhtılarını yıkmakla sorumlu olan enzimdir . Karın boşluğunda fibrinoliz, plazminin lokal aktivitesine bağlıdır . Plazminojenin plazmine dönüşümü doku plazminojen aktivatörü (tPA) ile stimüle edilir (50).

tPA aktivitesi plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI) tarafından inhibe edilir. tPA'nın PAI tarafından inhibisyonu periton sıvısında azalmış fibrinolizin en önemli nedenidir.

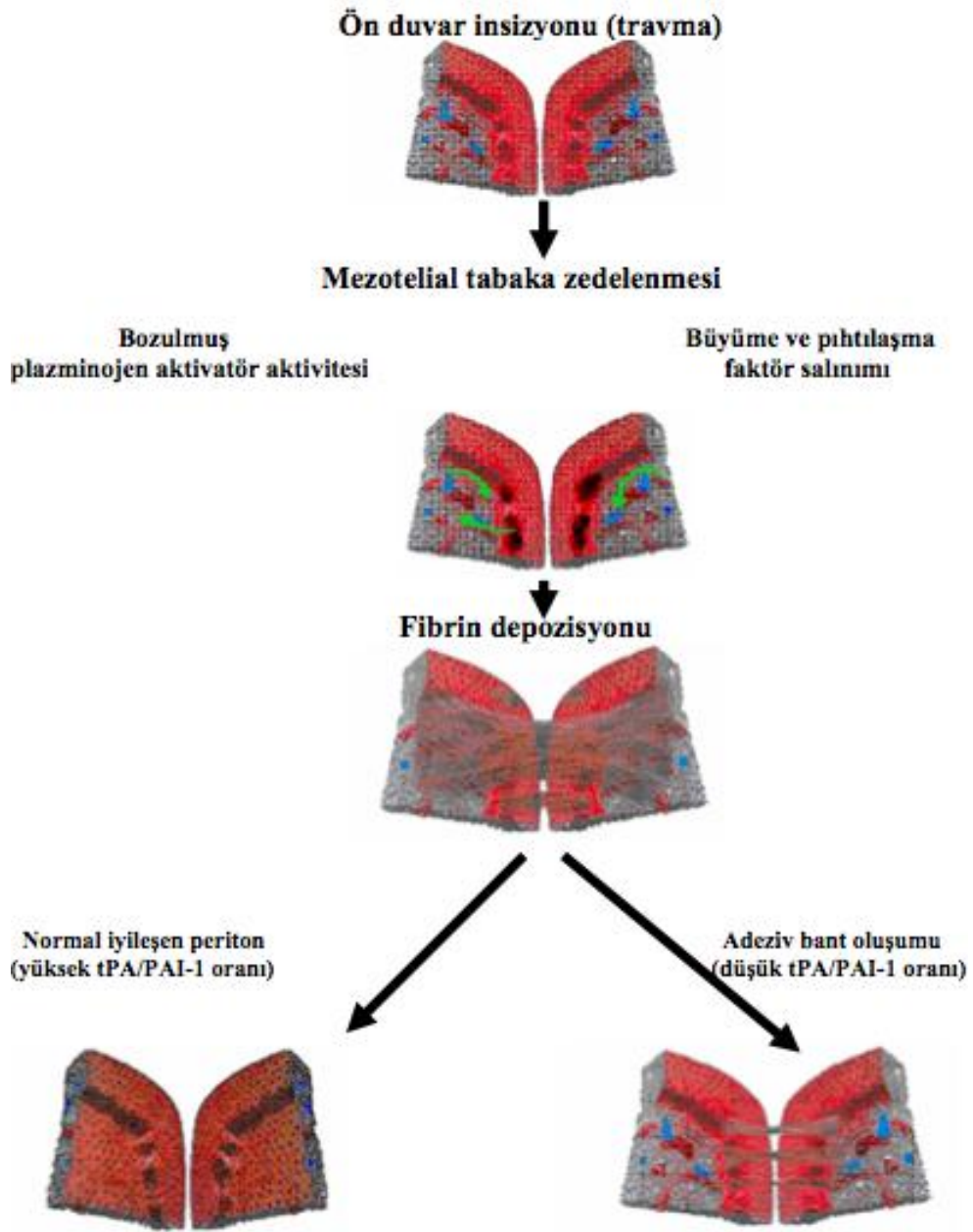
Plazminojen aktivatör sistemi hücre membranına bağlı olduğu için ve PAI endotel hücrelerinde bulunduğundan dolayı , endotel hücrelerini hasara uğratan her travma fibrinolizi azaltır ya da bozar (50, 51). Adezyon oluşum veya çözülmeye gidiş basamakları Şekil-4'te gösterilmiştir.

Fibrinolitik aktivite %50 ya da daha fazla düştüğünde masif adezyonların oluştuğu gözlenmiştir . Yapılan çalışmalarda tPA' nın peritondaki primer fizyolojik plazmin aktivatörü olduğunu ve in flamasyonda gözlenen fonksiyonel fibrinolitik aktivitedeki düşüşün PAI-1 ile sağlandığı sonucuna varılmıştır (51).

Bir diğer çalışmada sıçanlarda oluşturulan fokal peritonit modelinde , periton sıvısındaki tPA değerlerinde hafif artış , PAI'de ise çok belirgin bir artış saptanmıştır . Böylece abdominal fibrinolizdeki azalmanın temel nedeninin PAI' deki belirgin artış olduğu sonucuna varılmıştır . tPA ve PAI aktivitelerine peritondan alınan doku örneklerinde bakılmış ve PAI'da artış ile birlikte tPA'da da önemli bir azalma saptanmıştır (85, 86). Bu basamaklar Şekil-5'te gösterilmiştir.



Şekil 4: Adezyon Oluşum-Çözünme Basamakları



Şekil 5: Adezyon oluşumu

2.3.4. Peritoneal Adezyon Fizyopatolojisi

İyileşme Mekanizması

Peritoneal yaralanma ile birlikte mezotel altındaki mikrovasküler yapı da hasar görür. Bunu serum ve hücrel elemanların damar dışına çıkması takip eder. Böylece defekt fibrinden zengin inşamatuar bir eksuda ile doldurulur (88-90). Oluşan fibrin birikimi bir taraftan normal doku onarımı için gerekli bir madde iken diğer taraftan bu fibrin birikiminin çözülmesi, cerrahi ya da inflamasyondan önceki şartların sağlanması için gereklidir (90). Bu eksuda üç saat gibi kısa bir sürede pıhtılaşır. Bu şekilde oluşan adezyonlar normalde birkaç gün içinde yıkılırlar. Adezyon eğer üç gün veya daha uzun süre kalırsa eksuda içinde fibroblastik proliferasyon gelişir ve fibröz adezyon oluşumuna yol açar (91, 92). Eksudadaki ana hücreler monosit, histiosit ve polimorf nüveli lökositlerdir (88, 91). Fibrinöz eksuda oluşumundan 12 saat sonra fibrin lişeri arasında pek çok polimorf nüveli lökositler görülür, bunlar da daha sonra makrofajlar ile yer değiştirir (89). Yaralanmadan 48 saat sonra yara yüzeyi fibrin çatı ile desteklenen makrofaj tabakası ile örtülür. Eğer yaralanma bölgesinde iskemi yoksa fibrinoliz başlar ve başlangıçta yara tabanında bulunan primitif mezotelial hücreler adacıklar oluşturarak mezotel onarımını sağlar. Sonraki 2-5 gün içinde yaralanan periton reepitelize olur ve eş zamanlı olarak da makrofajlar azalır (89, 93).

Hızlıca iyileşen peritonun kaynağı tartışmalıdır. Başlıca üç görüş vardır. Birinci görüş; yeni periton yara tabanından yukarı doğru göç eden fibroblastlardan gelişmektedir. İkinci görüş; yüzeydeki adacık oluşturmuş hücreler yaralanma bölgesine degen komşu sağlam peritondan kopup gelmektedir. Üçüncü görüş; peritonda serbestçe yüzen mezotelial hücrelerin yaralanma bölgesine yapıştığıdır. Ayrıca serbest dolaşan monosit ve makrofajların da bu bölgeye yapışarak mezotel hücrelerine dönüştüğü düşünülmektedir (88).

Raftery yaptığı bir çalışmada, makrofajları polystyren ile işaretlemiş ancak yeni mezotel hücrelerinde ya da fibroblastlarda bu işareti saptayamamıştır. Ayrıca periton sıvısındaki serbest mezotel hücrelerinin sayısı oldukça azdır ve çok azı canlı kalabilmektedir. Bu ötre göre yeni mezotelin hangi hücre grubu olduğu bilinmemekle birlikte, subperitoneal perivasküler bağ dokusundaki kök hücrelerin dönüşümüyle oluşmaktadır (94). Bu bulguyu Ellis ve arkadaşlarının çalışmaları da

desteklemektedir (93). Mezotel onarımı sırasında, mekrofaj ve lenfositler bir takım büyüme faktörleri üretirler. Bu maddeler fibroblast proliferasyonu ve kollojen sentezini düzenler. Bunlar platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β (TGF- β), fibroblast growth factor (FGF), epidermal growth factor (EGF), interlökin-1 (IL-1) ve tumor necrosis factor- α (TNF- α)'dır. PDGF ve TGF- β fibroblast kollojen sentezini artırır. FGF ve EGF'nin mitojenik etkisi in vitro olarak gösterilmiştir. Ayrıca TGF- β plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 sekresyonunu artırır. Tüm bu maddeler kollojen sentezini ve hücresele proliferasyonu artırarak adezyon oluşumunu kolaylaştırır. Fibroblast proliferasyonu ile ilgili olmayan farklı bir yolla prostoglandinler, özellikle prostoglandin E2 mezotel onarımında rol oynar (51).

Kollajen yıkımı esas olarak matriks metalloproteinaz (MMP) ve doku inhibitör metalloproteinazı (TIMP) üretimi ile ilişkilendirilmiştir. MMP-2, TIMP-2, MMP-7 ekstra sellüler matriks (ECM) remodelizasyonunun erken aşamalarında sentezlenir. Buna karşılık, MMP-1, MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerinde ECM remodelizasyonu aşamasından önce bir düşme gözlenir (116).

Fibroblastların yara bölgesine göçü düzensiz bir şekilde değildir. Fibroblastlar yara bölgesine fibrillere paralel olarak hareket ederler. Fibroblastlar bu göçleri sırasında, hücresele yıkım ürünleri ve matriks fibrilleriyle karşılaşır. Bu engelleri çeşitli matriks metalloproteinazları (MMP) yardımıyla aşarlar. Şimdiye kadar 24 farklı MMP tanımlanmıştır (117). MMP'ler anjiogenezde önemli görev alırlar (117, 118).

MMP'lerin görevi, bazal membranın yıkımı ve ECM'nin endotelial hücrelerin geçişine izin verecek şekilde yıkımdır. MMP-1, MMP-2, MMP-9, MT-MMP ve MMP-19 anjiogenezde rol alan en önemli matriks metalloproteinazlardır (119). Kollajen yıkımı esas olarak MMP ve TIMP üretimi ile ilişkilendirilmiştir. MMP-2, TIMP-2, MMP-7 ECM remodelizasyonunun erken aşamalarında sentezlenir. Buna karşılık, MMP-1, MMP-9 ve TIMP-1 seviyelerinde ECM remodelizasyonu aşamasından önce bir düşme gözlenir (119).

2.3.5.Tedavi

Endüstride kimyasal çözücü olarak kullanılan dimetil sülfoksit (DMSO); yangı giderici, serbest radikalleri tutucu ve temizleyici, membran penetrasyonu ve transportunu artırıcı, fibroblast proliferasyon inhibitörü, antikoagülant, diüretik, analjezik, bakteriyostatik, immün modülatör ve sinir impulslarının iletimini artırıcı özelliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (120-123). DMSO haricinde adezyonları önlemek için bugüne kadar bir çok yöntem ve ajan denenmiştir. Bunların başlıcaları, farmakolojik ajanlar (NSAİD, kortikosteroidler, antihistaminikler, progesteron/östrojen, antikoagulan, fibrinolitik, antibiyotik) ve peritoneal bariyerlerdir (50).

2.4. Vitamin D

D vitamininin deride sentezlenen kolekalsiferol (D_2) ve besinlerle alınan ergokalsiferol (D_3) olmak üzere iki kaynağı vardır. D_2 ve D_3 vitaminin her ikisi de aynı yolla metabolize olduğu için ortak bir isimle, D vitamini olarak adlandırılır. Normal koşullar altında insan vücudunda bulunan D vitamininin %90-95'i güneş ışınlarının etkisi ile deride yapılır. Ultraviyole B (UVB) ışınlarının yer yüzeyine ulaşmasını engelleyen herhangi bir neden veya insan derisine geçişini engelleyen herhangi bir durum D vitamini eksikliği ile sonuçlanır. Yine derideki melanin pigment yoğunluğu UVB ışınlarını aşırı derecede absorbe ederek D vitamini sentezini azaltır.

UVB ışınlarının dünya yüzeyine ulaştığı açı D vitamini sentezinde etkilidir. Sözü edilen bu nedenlere bağlı olarak güneş ışığı D vitamini yapımı için temel kaynaktır ve yeterince faydalanılırsa ek D vitamini almaya gerek yoktur. 290-310 nm dalga boyundaki ışınların etkisi ile epidermiste 7-dehidrokolesterol'un (pro-vitamin D_3) nonenzimatik fotolizi sonucu önce previtamin D_3 sentezlenir. Derideki pro-vitamin D_3 'den vitamin D_3 'ün sentezi organizmanın ihtiyacına göre ayarlanır. 15 dakika gibi kısa bir sürede pro-vitamin D_3 'ten pre-vitamin D_3 sentezi gerçekleşir ve en yüksek düzeye ulaşır. Previtamin D_3 'ten vitamin D_3 'e dönüşüm ise oldukça yavaş, ısıya duyarlı olarak izomerizasyon ile gerçekleşir ve bu durum organizmanın ihtiyacına göre ayarlanır. UV ışığa veya solar radyasyona uzun bir süre maruz kalınması durumunda pre-vitamin D_3 biyolojik etkisi olmayan lumisterol ve takisterol gibi bir takım fotoliz inaktif yan ürünlerine dönüşür. Bir başka ifade ile bir

kere deride pre-vitamin D_3 oluştuğu zaman ya vitamin D_3 'e ya da inaktif metabolitlere dönüşmektedir. Diğer yandan deride sentezlenen vitamin D nin fazlası da yine UV etkisi altında inaktif fotoliz yan ürünlerine dönüşmektedir (Şekil 1). Bu durum gereksiz vitamin D sentezini önleyerek canlıyı vitamin D intoksikasyonundan koruyan fizyolojik bir kontrol mekanizmadır (124-126).

1-25, dihidroksikolekalsiferol kalsiyum ve fosfor metabolizmasında önemli rol oynayan bir vitamindir. Böbrekler ve ince bağırsaktan kalsiyum emilimini artırır, diğer taraftan da kemik yenilenmesini düzenleyerek kan kalsiyum düzeyini kontrol eder. D vitamini vücutta sentezlendiği gibi ekzojen olarakta alınabilir. Gıdalarla alınan 7-dehidroksikolesterol ciltte UV ışınların etkisiyle D_3 vitaminine (D_3) çevirilir. Dolaşımdaki D_3 karaciğerde 25-hidroksilaz enzimi aracılığı ile hidroksile edilir. Tekrar dolaşıma karışan 25-OH D_3 bu kez 1α -hidroksilaz ile 1 konumundaki karbon atomundan hidroksile edilerek aktif formu olan $1-25(OH)_2D_3$ 'e dönüştürölür (124-126).

1α -hidroksilaz enziminin ana kaynağı böbrek olmasına karşın plasenta, monosit ve makrofajlar gibi ekstrarenal bölgelerde de bulunur. Renal 1α -hidroksilazın tersine makrofajlarda bulunan 1α -hidroksilaz serum kalsiyum düzeyi yükseldiğinde inhibe olmaz. Ayrıca IFN- γ ya da lipopolisakkarit gibi immün uyarınlarla aktive olur. $1-25(OH)_2D_3$ nükleer reseptör üst-ailesinin bir üyesi olan D vitamini reseptörü (VDR) üzerinden etki gösterir. Bu reseptörler de kemik, barsak ve böbrek dokuları dışında beyin, kalp, pankreas adacık hücreleri, kas, adrenal bez ve immün sistem hücrelerinde bulunur. Bu durum $1-25(OH)_2-D_3$ 'ün kemik homeostazında olduğu kadar immün sistem cevaplarının düzenlenmesinde de rolü olduğunu düşündürmektedir (127).

D vitamini monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerin yanında T ve B lenfositlerini de hedef alır. Böylece hem doğal hem de adaptif bağışıklık sistemini modüle eder. Epidemiyolojik çalışmalar yetersiz D vitamini düzeylerinin kronik enfeksiyonlar ve otoimmün hastalıklarla ilintili olduğunu göstermektedir. VDR immün hücrelerde bulunmakla kalmaz aynı zamanda immün uyarınlarla ekspresyon miktarı değişebilir. Doğal bağışıklık hücrelerinde matürasyon düzeyi yükseldikçe VDR sayısı azalır. Bunun tersine naif T hücreleri düşük düzeyde VDR eksprese ederken aktive T hücrelerinde sayıları artar. Diğer taraftan VDR agonistleri Treg

hücrelerin indüksiyonuna ve bu hücrelerinin baskılayıcı kapasitelerinin artışına neden olur. Yine de immün hücrelerin değişik uyarılar karşısında verdiği VDR ekspresyon cevabı değişiklik gösterir (128).

Vitamin D reseptör polimorfizm geni, kollajen tip 1 alfa 1 geni ve insülin growth faktör-1 (IGF-1) genleri primer biliyer sirozda kemik mineral dansitesi üzerine etki ederler. Hepatik inflamasyona ve fibrozise aracılık eden proinşamatuvar sitokinler IL-1 ve TNF-alfanın artması, osteoklastik aktivitenin artmasına yol açabilmektedir (129). Bu vitaminin karaciğerde, kollajen 1alfa1'in TIMP-1, MMP-9 düzeylerini değiştirdiğini ve fibrozisi önlemeye etkisi olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır.

Sıçan çalışmalarında aktif D vitamini kardiyak kontraktiletiyi artırmakta ve TIMP 1-3 gibi doku spesifik metalloproteazları arttırarak kardiyak fibrozisi inhibe edebilmektedir. D vitamininin diyabetik sıçanlarda proteinüriyi azalttığı gösterilmiştir (128, 129).

Vitamin D hem vücutta endojen sentezlenen hem de eksojen alınabilen bir vitamindir. Bu vitaminin PAI-1 düzeyini azalttığı belirtilmekle birlikte, peritoneal adezyonda PAI-1 ve Pa ilişkisi ve buna vit D'nin etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizde çalışmamızda deneysel olarak peritoneal fibrozis oluşturulan ratlarda vitamin D'nin periton adezyonun önlenmesi ve/veya tedavisinde, olası koruyucu etkisini araştırmayı planladık. PAI-1'in eksojen verilen vit D ile inhibisyonu ile peritoneal adezyon tedavilerinde bir katkısı olup olmayacağını test ettik (87).

Amaç:

Araştırmamızda deneysel olarak hasarlanmış peritonda postoperatif adezyon gelişimine D vitamininin etkisini araştırdık. Bunu test etmek için histolojik, histokimyasal ve biyokimyasal yöntemleri kullanılarak doku örneklerinde değişiklikleri karşılaştırdık.

3-GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi T.I.C.A.M. (Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi) laboratuvarında 15. 11. 2012 tarihli 297 sayılı etik kurul kararıyla yapılmıştır.

3.1. Çalışma Grubu

“Deneysel Olarak Peritoneal Yüzey Hasarı Oluşturulmuş Sıçanlarda Vitamin D (1,25 OH₂D₃)’nin Peritoneal Adezyon Kuvvet Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” konulu çalışmamızda D vitamininin cerrahi bölümlerinin ana problemlerinden biri olan peritoneal adezyonun tedavisinde kullanmamızın anlamlı olup olmadığını ratlarda test etmek istedik. Bu çalışmada Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezinden elde edilen, 250±50 g ağırlığında erkek Sprague Dawley sıçanlar (n=24) kullanılmıştır. Sıçanlar 2 haftalık bir adaptasyon sürecinden sonra deneyde kullanılmıştır. Sıçanların polikarbonat kafeslerde, 21±1°C sıcaklıkta ve %45-55 nem oranına sahip kontrollü odalarda, 12/12 saat dönüşümlü ışık siklusunda bakımı sağlanmış, standart sıçan yemi ile beslenmiş (Oğuzlar Yem, Eskişehir, Türkiye) ve sıvı alımı sağlanmıştır. Yem ve sıvı ad libidum sağlanmıştır. Tüm deneysel prosedürler ESOGÜ Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu’ndan alınan Etik Kurul Raporu doğrultusunda tamamlanmıştır. Deney hayvanları randomize olarak;

1 Kontrol (n:8)

2 Peritoneal adezyon (PA) grubu (n:8)

3 Peritoneal adezyon + Vit D (PAD) grubu (n:8)

olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 (kontrol)’de batın ön katları geçilerek parietal periton ortaya kondu. Hiçbir işlem yapılmadan kapatıldı. Grup 2 [peritoneal adezyon grubunda(PA)], batın ön katları geçilerek parietal periton ortaya kondu; periton adezyonu oluşturmak için Peritoneal Button Creation (PBC) tekniği kullanıldı. Grup 3 [peritoneal adezyon + Vit D grubunda(PAD)] batın ön katları geçilerek parietal periton ortaya kondu, periton adezyonu oluşturmak için PBC tekniği kullanıldı. Bu yöntemde 2.0 prolenle parietal

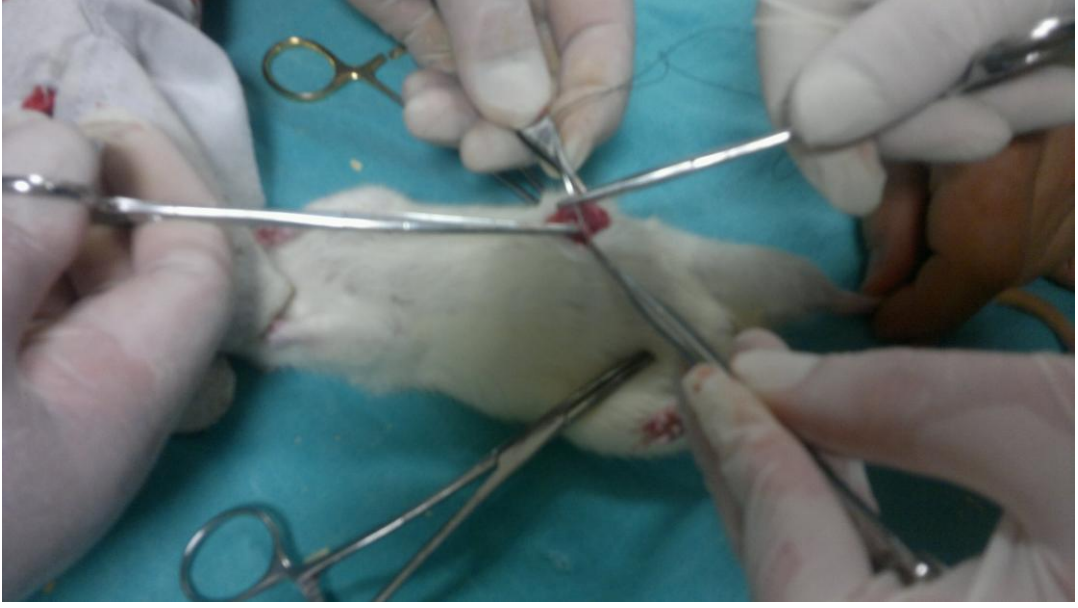
periton üzerinde 4 adet alan bağlandı. Ortalama her sütün çapı 5 mm oldu ve her sütün alanı yaklaşık 2 cm'lik parietal peritonu içeriyordu.

3.2. Cerrahi Teknik

Kontrol grubuna işlem uygulanmaksızın periton dokuları ve serum örnekleri alınarak histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmeye gönderildi.

PA ve PAD gruplarında aynı cerrahi teknik uygulandı. Buna göre; bir gecelik açlığı takiben (sadece su içmelerine izin verilerek), 50mg/kg intramuskuler ketamine (Ketalar; Parke-Dawis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 10mg/kg xylazine (Rompun; Bayer AG, Leverkusen, Almanya) kullanılarak, cinsiyet farkı gözetilmeksizin 200250 gram ağırlığındaki 24 adet Sprague -Dawley türü ratlara anestezi verildi. Cerrahi sırasında hayvanların spontan olarak solumaları sağlandı. Vücut sıcaklıklarının 37 °C civarında tutulabilmesi için bir ısıtıcı lamba kullanıldı. Ameliyat sonunda farelerin dehidrate olmalarının önlenmesi amacıyla subkutan yoldan 10 ml ringer laktat solusyonu verildi. Karın bölgesi traş edildikten sonra %10 povidon iyodür solusyonuyla iki kez silindi ve asepsi kurallarına uyularak steril aletlerle ameliyata başlandı (Şekil.6). Batın orta hat cilt-cilt altı batın ön katları geçilerek peritona ulaşıldı. PBC tekniğiyle peritoneal adezyon oluşturulduktan sonra (Şekil.7) periton ve karın duvarı kapatıldı. Daha sonra cilt-cilt altı kapatıldı (130).

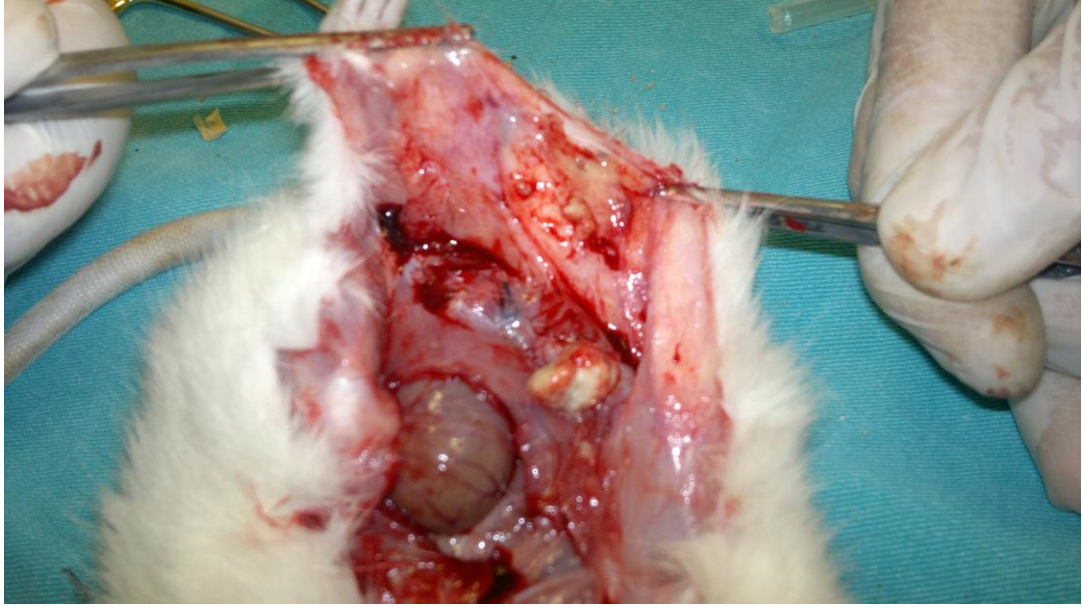
PAD grubu ratlara 14 gün boyunca çözücü ile çözülmüş D vitamini 12 mikrogram/kg dozunda gavaj aracılığıyla verildi. PA grubu ratlara 14 gün boyunca sadece çözücü 12 mikrogram/kgdozunda gavaj aracılığıyla verildi. Son dozdan 24 saat sonra yukarıda anlatılan sırayla peritoneal adezyon oluşturulan odaklara ulaşıldı (Şekil.8).



Şekil 6 Ratta cerrahi aletlerle karın duvarının açılması



Şekil. 7 Ratta cerrahi olarak peritoneal adezyon için PBC tekniğinin uygulanması



Şekil. 8 Ratta postoperatif 14.günde gelişen PPA odakları

Ayrıca ratlardan serum örnekleri alındı ve ELISA yöntemi ile PAI-1 ve PA düzeyleri ölçüldü.

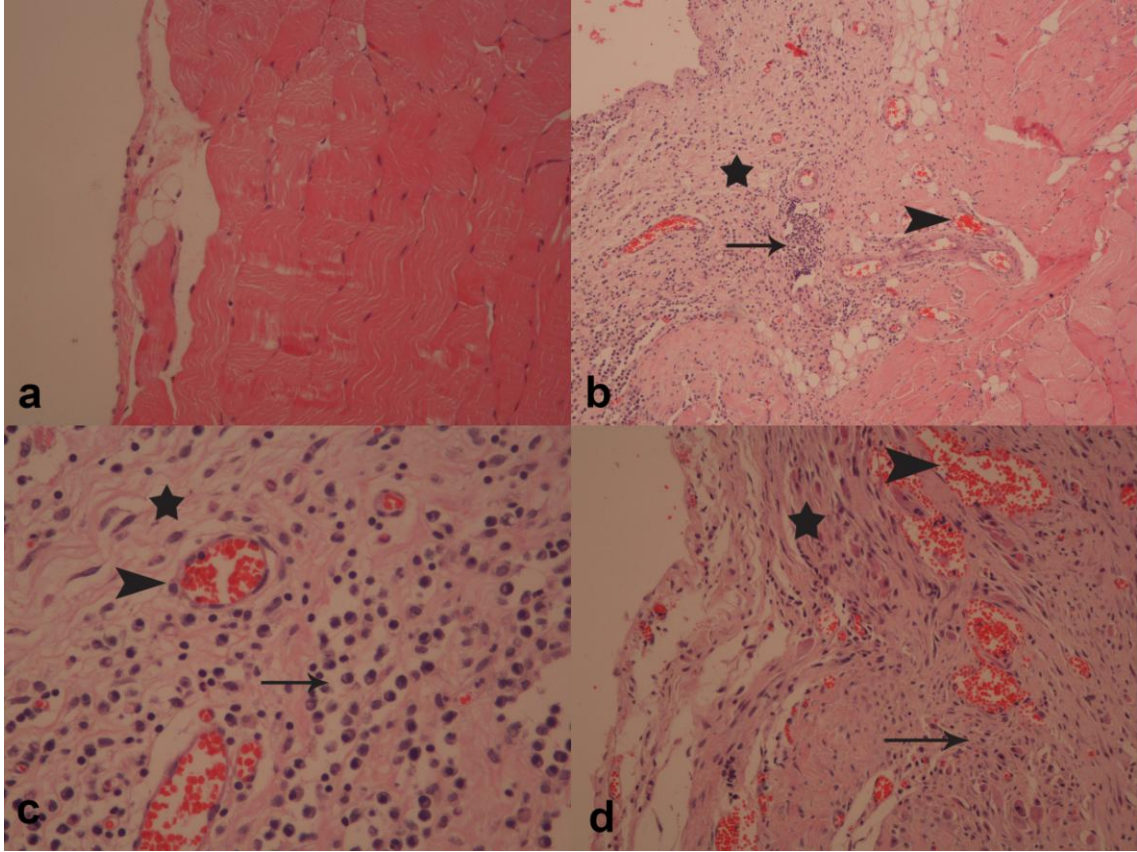
3.3. Histolojik Analizler

Kontrol grubundan periton örnekleri alınarak değerlendirildi . PA ve PAD gruplarından oluşturan peritoneal adezyon odaklarından örnekler alındı. Adezyon içeren dokular dikkatlice ve hızlı bir şekilde çıkarılarak %10 tamponlu formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Fiksasyondan sonra dokular parafine gömülerek, her bir bloktan 4 µm'lik seri kesitler alındı. Kesitler histopatolojik analiz için H&E ile boyandı. Kan damarları duvarı veya ekstrasellüler alandaki fibrin birikimlerini belirlemek için PTAH ve fibrinolizisi belirlemek için PAI-1 immunohistokimyasal boyaları kullanıldı. Dijital görüntüler, DP70 dijital kamera atışmanlı Olympus BX-61 (Olympus America Inc. NY, USA) mikroskobu ile elde edildi. Sonuçlar semikantitatif skorlama yöntemi ile bir histolog tarafından değerlendirildi.

3.3.1. Hematoksilen-Eozin Boyaması

Alınan periton ve peritoneal adezyon örneklerinin % 10'luk formalin fiksatifi içinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı . Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı . Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek

dehidratasyonları sağlandı . Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffa flaştırılmak üzere 2 kez 20'şer dakika ksilol de bekletildi . Örneklerin şeffaflaştırılmalarının ardından etüv içinde 65⁰ C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi . Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulularak , mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45⁰ C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı . Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı . Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffa şıştırıldı ve şeffa şanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH -2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılarak ince bağırsak ve çekum örneklerini içeren tüm preperatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğra şarı çekildi. Hematoksilen eozin boyamaları Şekil.9'da gösterilmiştir. Histopatolojik değışiklikler fibrozis, inflamasyon, ve vasküler proliferasyon açısından incelendi. Değerlendirmeler Tablo.1.'e göre skorlanmıştır (131-133).



Şekil 9 Kontrol grubu normal görünüm. H&E, X100.

b) Adezyon grubunda yoğun fibrozis (yıldız), monosit/makrofaj infiltrasyonu (ok) ve vasküler proliferasyon (ok başı). H&E, X100. **c)** Adezyon grubunda yoğun fibrozis (yıldız), monosit/makrofaj infiltrasyonu (ok) ve vasküler proliferasyon (ok başı).H&E, X400. **d)** Adezyon+Vit-D grubunda, monosit/makrofaj infiltrasyonu (ok), vasküler proliferasyon (ok başı) ve orta derecede fibrozis (yıldız). H&E, X200.

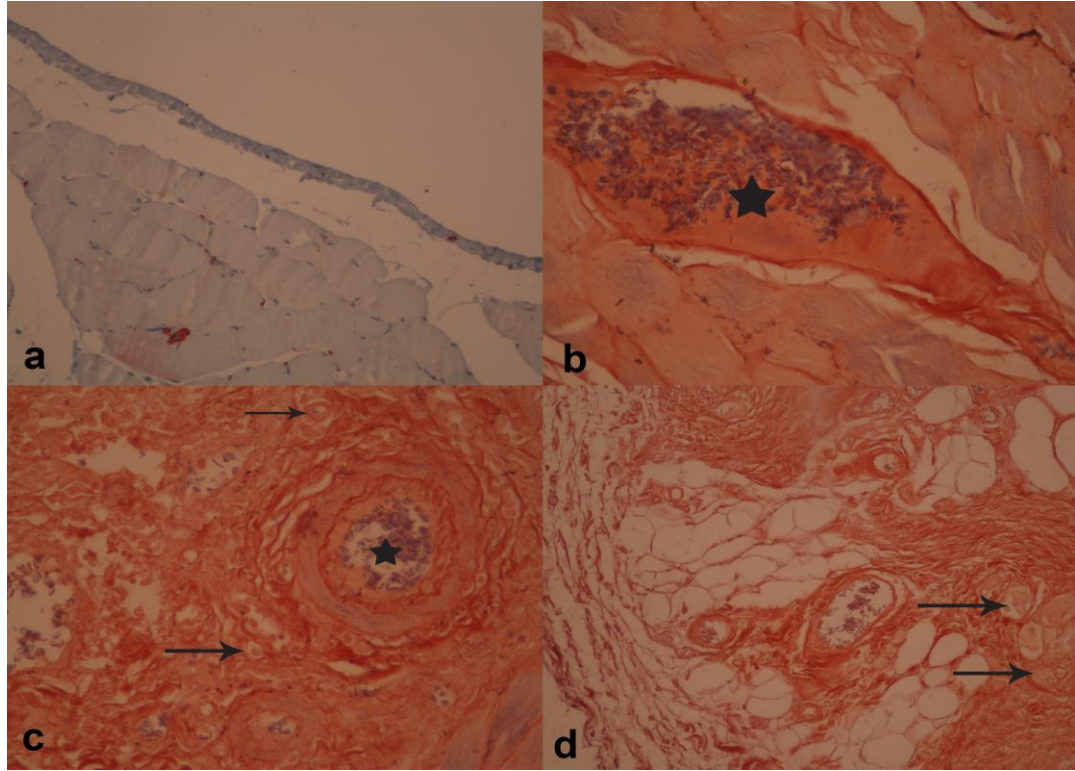
Tablo.1. Fibrozis, İnflamasyon ve Vasküler Proliferasyon Skorlaması

<u>Fibrozis Sınıflandırması</u>	
Skor	Durum
0	fibrozis yok
1	minimal, gevşek fibrozis
2	orta derecede fibrozis
3	yoğun fibrozis
<u>İnflamasyon Sınıflandırması</u>	
Skor	Durum
0	inflamasyon yok
1	dev hücreler görülmekte, nadiren dağılmış lenfositler ve plazma hücresi
2	dev hücreler ve artmış lenfosit, plazma hücresi, eozinofil ve nötrofiller
3	yoğun inflamatuvar hücreler ve mikroabseler
<u>Vasküler Proliferasyon Sınıflandırması</u>	
Skor	Durum
0	vasküler proliferasyon yok
1	hafif vasküler proliferasyon
2	orta derecede vasküler proliferasyon,
3	yoğun vasküler proliferasyon

3.3.2. İmmünohistokimyasal Boyalar:

İmmünohistokimyasal analizlerde kan damarları duvarı veya ekstrasellüler alandaki fibrin birikimleri PTAH boyası ile belirlendi. PAI-1 immünohistokimyasal boyama parafine gömülmüş dokulardan elde edilen 4 µm kalınlığındaki kesitlerde uygulandı. Kesitler oda ısısında 1 saat anti-PAI-1 antikoru ile inkübe edildi. Kesitler daha sonra biotinlenmiş rabbit anti-goat IgG (Vector Laboratories) ile inkübe edildi. İmmünoreaktivite diaminobenzidine ile gösterildi. PTAH boyaları ile ilgili Şekil.10 aşağıda gösterilmiştir.

Fibrin birikimi semikantitatif olarak değerlendirildi ve aşağıdaki tablo 2'ye göre skorlandı (134-137).

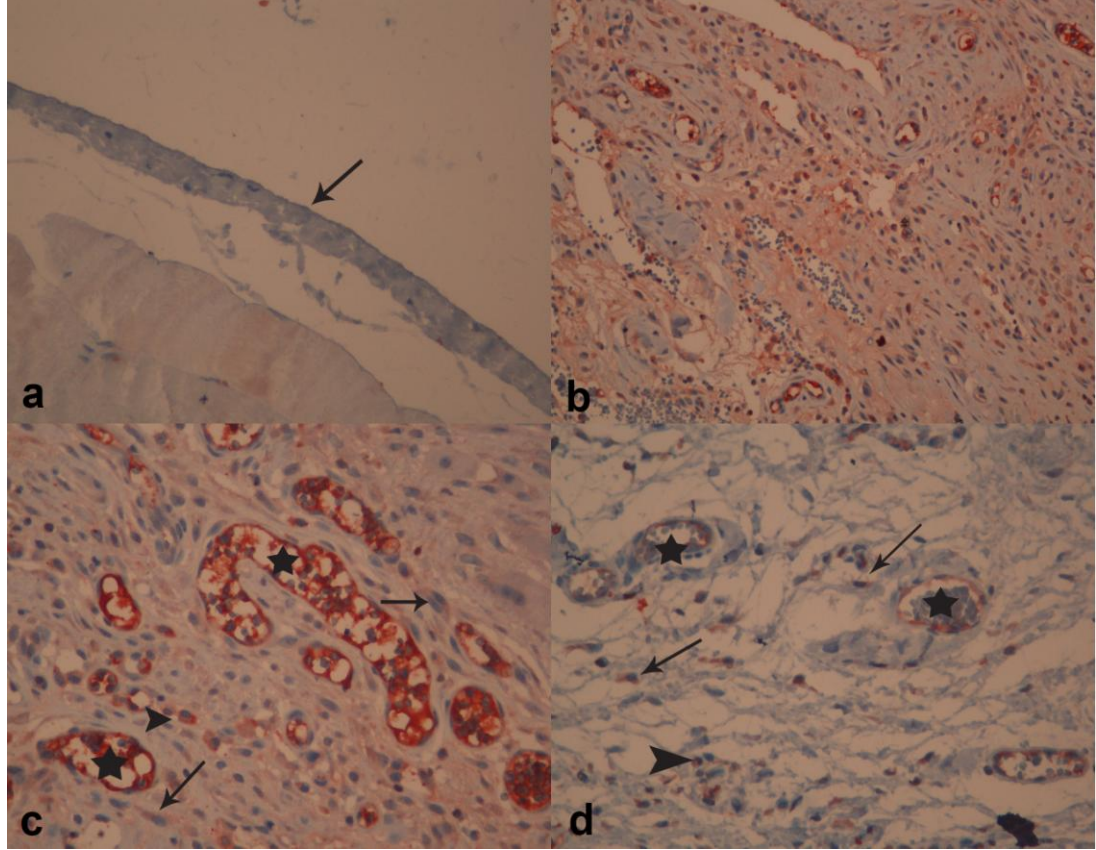


Şekil 10 Kontrol grubu normal görünüm. PTAH, X100.**b)** Adezyon grubunda submezotelyal kompakt zonda kapiller olmayan damarlarda yoğun fibrin thrombi varlığı (yıldız). PTAH, X400.**c)** Adezyon grubunda submezotelyal kompakt zon kapillerlerinde fibrin birikimi (ok) ve kapiller olmayan damarlarda yoğun fibrin thrombi varlığı (yıldız). PTAH, X400.**d)** Adezyon+Vit-D grubunda bazı submezotelyal kompakt zon kapillerlerinde fibrin birikimi (ok). PTAH, X200.

Tablo.2.Fibrin Birikiminin Skorlanması

<u>Fibrin Birikimi</u>	
Skor	Durum
0	fibrin yok,
1	bazı submezotelyal kompakt zon kapillerlerinde kısmi fibrin birikimi
2	tüm submezotelyal kompakt zon kapillerlerinde kısmi fibrin birikimi
3	tüm submezotelyal kompakt zon kapillerlerinde büyük miktarda fibrin birikimi
4	submezotelyal kompakt zon kapillerlerinde ve kapiller olmayan damarlarda fibrin trombüsü

Adezyon dokularındaki PAI-1 immunohistokimyasal boyamasının şiddeti ve yoğunluğu göre kesit resimleri Şekil.11’da gösterilmiştir ve semikantitatif olarak değerlendirilmesi ve skorlanması aşağıdaki tabloya göre yapılmıştır (138-140).



Şekil 11 Kontrol grubunda mezotelyal hücrelerde (ok) negatif boyanma. PAI-1, X200. **b)** Adezyon grubunda güçlü pozitif boyanma. PAI-1, X200. **c)** Adezyon grubunda endotelial hücrelerde (yıldız), monosit/makrofajlarda (ok başı) ve fibroblastlarda (ok) güçlü pozitif boyanma. PAI-1, X400. **d)** Adezyon+Vit-D grubunda endotelial hücrelerde (yıldız), monosit/makrofajlarda (ok başı) ve fibroblastlarda (ok) orta derecede pozitif boyanma. PAI-1, X400.

Tablo.3. PAI İmmunohistokimyasal Boyanmasının Skorlanması

<u>PAI İmmunohistokimyasal Boyanması</u>	
Skor	Durum
0	boyanma yok (negatif)
1	zayıf boyanma
2	orta derecede boyanma
3	güçlü, pozitif boyanma

3.4. Biyokimyasal Analizler

3.4.1. Örnek Toplanması

Kan numuneleri %3.8 sodyum sitrat içeren tüplere alındı ve 1000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üstte kalan plazma ependorf tüplerine alınıp analiz edilinceye kadar (1 hafta) -20°C'de saklandı.

3.4.2. Plazminojen Aktivatör (PA) Ölçümü

Rat plazma Plazminojen Aktivatör (Doku) (PA) ölçümü USCNK (Export Processing Zone, Wuhan, P.R.China) marka Rat Pa ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Kit için;

Intra-Assay CV <%10

Inter-Assay CV <%12 olarak verilmiştir.

Prosedür:

Kit içerisinden çıkan stok standarttan dilüsyonlar yapılarak 8 standart (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 ve 0 ng/ml) hazırlandı. Standartlar ve numuneler 100'er µl mikroküvetlere sırasıyla konuldu ve üzerleri filmle kaplanarak 2 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonu bütün küvetler yıkamadan boşaltıldı ve 100 µl Detection Reagent A konularak 1 saat 37 °C'de üzerleri filmle kaplanarak inkübe edildi. 3 kez yıkama sonrası bütün küvetlere 100 µl Detection Reagent B konuldu ve üzerleri filmle kaplanarak 30 dk 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası küvetler 5 kez wash solutionla yıkandı. Bütün küvetlere 90 µl Substrat Solüsyonundan konularak 20 dakika 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 50 µl Stop

solüsyonundan konularak Trinity Biotech Captia Reader elisa okuyucusunda (Trinity Biotech PLC. Bray, CO. Wicklow, Ireland) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

3.4.3.Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1 (PAI1) Ölçümü

Rat plazma Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (PAI1) ölçümü USCNK (Export Processing Zone, Wuhan, P.R.China) marka Rat PAI1 ELISA kiti kullanılarak ölçüldü. Kit için;

Intra-Assay CV <%10

Inter-Assay CV <%12 olarak verilmiştir.

Prosedür:

Kit içerisinde bulunan stok standarttan dilüsyonlar yapılarak 8 standart (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 ve 0 ng/ml) hazırlandı. Standartlar ve numuneler 100' er µl mikroküvetlere sırasıyla konuldu ve üzerleri filmle kaplanarak 2 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonu bütün küvetler yıkamadan boşaltıldı ve 100 µl Detection Reagent A konularak 1 saat 37 °C'de üzerleri filmle kaplanarak inkübe edildi. 3 kez yıkama sonrası bütün küvetlere 100 µl Detection Reagent B konuldu ve üzerleri filmle kaplanarak 30 dk 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası küvetler 5 kez wash solutionla yıkandı. Bütün küvetlere 90 µl Substrat Solüsyonundan konularak 20 dakika 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 50 µl Stop solüsyonundan konularak Trinity Biotech Captia Reader elisa okuyucusunda (Trinity Biotech PLC. Bray, CO. Wicklow, Ireland) 450 nm dalga boyunda okutuldu. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

3.5. Deneyin Sonlandırılması

Serum ve periton örnekleri alınan ratlar anestezi altında dekapitasyon ve servikal dislokasyonla ötenazi edildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada istatistiksel analizler SPSS 20 Statistical Software (IBM Corp, CA, USA) paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t testi ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sonuçlar,

anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Tablolar Microsoft Excel 2011 programı ile yapılmıştır.

4-BULGULAR

Sonuçlar kısmında öncelikle tüm hayvanların ayrı ayrı değerlendirilmesi yer almıştır. Daha sonra da histolojik ve biyokimyasal sonuçlar başlıkları altında ayrı ayrı olarak incelenmiştir.

4.1.Hayvanların Skorlarının Ayrı Ayrı Değerlendirmesi

4.1.1.Hematoksilen Eozin Değerlendirmesi

Deney hayvanlarının hematoxilen eozin değerlendirilmesi aldıkları toplam skorlar aşağıdaki gibi olmuştur.

Tablo.4 Adezyonlardan alınan periton örneklerinin histolojik derecelendirmesi

Histolojik Özellik	Gruplar	Skorlar			
		0	1	2	3
Fibrozis	Kontrol	7	1	0	0
	PA	0	0	0	8
	PAD	0	1	6	1
İnşamasyon	Kontrol	8	0	0	0
	PA	0	0	0	8
	PAD	0	2	0	6
Vasküler Proliferasyon	Kontrol	8	0	0	0
	PA	0	0	0	8
	PAD	0	0	1	7

Tablo 6. PA grubunun PTAH Derecelendirmesi

Skorlar	PA Grubu (n=8)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0								
1								
2								
3								
4	X	X	X	X	X	X	X	X

Tablo 6.a PAD grubunun PTAH Derecelendirmesi

Skorlar	PAD Grubu (n=8)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0								
1	X	X	X	X	X		X	X
2						X		
3								
4								

4.1.3.PAI-1 Değerlendirmesi

Deney hayvanlarının PAI-1 değerlendirmesinden aldıkları ayrı ayrı skorlar ve toplam skorlar aşağıdaki gibi oluşmuştur.

Tablo 8 PA Grubunun PAI-1 Derecelendirmesi

Skorlar	PA Grubu (n=8)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0								
1								
2								
3	X	X	X	X	X	X	X	X

Tablo 8.a PAD Grubunun PAI-1 Derecelendirmesi

Skorlar	PAD Grubu (n=8)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0								
1					X			
2	X	X	X	X		X	X	X
3								

4.2.Histolojik Sonuçlar

Histolojik sonuçlar dokuların farklı boyama özelliklerine göre ayrı ayrı değerlendirilerek skorlanmıştır. Buna göre iki ayrı başlık altında değerlendirilmiştir

4.2.1.Hematoksilen-Eozin Boyaması

Tablo.9:Hematoksilen-eozin boyama sonuçlarına göre dokuların fibrozis, inflamasyon ve vasküler proliferasyon skorlarının gruplara göre karşılaştırılması

	Kontrol		PA		PAD		p
	Ortalama ± SS	Min- Max	Ortalama ± SS	Min- Max	Ortalama ± SS	Min- Max	
Fibrosis	0,125 ± 0,354	0-1	3 ± 0	3-3	2 ± 0,534	1-3	0,00
Inflamasyon	0 ± 0	0-0	3 ± 0	3-3	2,75 ± 0,707	1-3	0,00
Vasküler Proliferasyon	0 ± 0	0-0	3 ± 0	3-3	2,875 ± 0,353	2-3	0,00

Grupların fibrozis skorları açısından değerlendirilmesinde kontrol, PA ve D vitamin grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p=0.000).

Fibrozis skorları açısından PA grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

Fibrozis skorları açısından PAD grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

Fibrozis skorları açısından PA grubu PAD grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,001).

Grupların inflamasyon skorları açısından değerlendirilmesinde kontrol, PA ve D vitamin grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p=0.000).

İnflamasyon skorları açısından PA grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

İnflamasyon skorları açısından PAD grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

İnflamasyon skorları açısından PA grubu PAD grubundan daha yüksek skorlara sahiptir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,317).

Grupların vasküler proliferasyon skorları açısından değerlendirilmesinde kontrol, PA ve D vitamin grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p=0.000).

Vasküler proliferasyon skorları açısından PA grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

Vasküler proliferasyon skorları açısından PAD grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

Vasküler proliferasyon skorları açısından PA grubu PAD grubundan daha yüksek skorlara sahiptir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,317).

4.2.2.Özel Boyamalar

Tablo.10: Özel boyama sonuçlarına göre dokuların PAI-1 Grading ve PTAH skorlarının gruplara göre karşılaştırılması

	Kontrol		PA		PAD		p
	Ortalama ± SS	Min- Max	Ortalama ± SS	Min- Max	Ortalama ± SS	Min- Max	
PAI-1 Grading	0,625 ± 0,517	0-1	3 ± 0	3-3	1,875 ± 0,353	1-2	0, 00 0
PTAH	0 ± 0	0-0	4 ± 0	4-4	1,125 ± 0,353	1-2	0, 00 0

Grupların PAI-1 Grading boyama skorları açısından değerlendirilmesinde kontrol, PA ve PAD grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p=0.000).

PAI-1 Grading boyama skorları açısından PA grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

PAI-1 Grading boyama skorları açısından PAD grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,001).

PAI-1 Grading boyama skorları açısından PA grubu PAD grubundan daha yüksek skorlara sahiptir fakat ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,000).

Grupların PTAH boyama skorları açısından değerlendirilmesinde kontrol, PA ve D vitamin grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(p=0.000).

PTAH boyama skorları açısından PA grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır(p=0,000).

PTAH boyama skorları açısından PAD grubu kontrol grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p=0,001$).

PTAH boyama skorları açısından PA grubu PAD grubundan daha yüksek skorlara sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0,000$).

4.3.Biyokimyasal Sonuçlar

Tablo.11:Biyo kimyasal sonuçlara göre serum PA ve PAI-1 sonuçlarının gruplara göre karşılaştırılması

		Ortalama \pm SS	Min-Max	p
Pa	Kontrol	3,638 \pm 0,713	2,793-4,312	0.000
	PA	0,703 \pm 0,125	0,576-0,875	
	PAD	0,652 \pm 0,175	0,553-0,999	
PAI-1	Kontrol	1,618 \pm 0,322	1,123-2,083	0.000
	PA	0,655 \pm 0,122	0,521-0,884	
	PAD	0,608 \pm 0,021	0,573-0,638	

Pa değerlerinin kontrol, PA ve PAD gruplarına göre karşılaştırılmasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur($F_{(2,15)}=94,900$, $p=0,00$)

Kontrol grubu PA grubundan daha yüksek Pa değerlerine sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p=0,000$).

Kontrol grubu PAD grubundan daha yüksek Pa değerlerine sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p=0,000$).

PA grubu PAD grubundan daha yüksek Pa değerlerine sahiptir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p=0,24$).

PAI-1 değerlerinin Kontrol, PA ve PAD gruplarına göre karşılaştırılmasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur($F_{(2,15)}=49,219, p=0,00$)

Kontrol grubu PA grubundan daha yüksek Pa değerlerine sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p=0,000$).

Kontrol grubu PAD grubundan daha yüksek Pa değerlerine sahiptir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır($p=0,000$).

PA grubu PAD grubundan daha yüksek PA değerlerine sahiptir fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p=0,394$).

4.3.1.Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişkiler

Pa/PAI-1 kompleks ile Pa düzeyleri arasında $r=0,818$ 'lik pozitif yönlü bir ilişki vardır ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).

Pa düzeyleri ile PAI-1 kompleks düzeyleri arasında $r=0,972$ 'lik pozitif yönlü bir ilişki vardır ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).

5-TARTIŞMA

Karın içi yapışıklığına bağlı barsak obstrüksiyonlarının daha çok apendektomi ve jinekolojik operasyonlar gibi alt karın bölümünü ilgilendiren girişimler sonrasında gelişmesi dikkat çekicidir (33). Bunda muhtemelen üst karında, parietal peritonla opere organlar arasında, omentumun yapışıklığı önleyici özelliği rol oynamaktadır.

Yılmazlar HG ve arkadaşlarının 2005 yılında ratlar üzerinde yaptığı çalışmada deneysel olarak peritoneal fibrosis oluşturulmuş ve flavonoidlerin etkisi araştırılmış. Flavonoidlerin fibrozisi azalttığı saptanmış. Kappas ve arkadaşlarının 1992 yılında yaptıkları bir hayvan deneyinde yine peritoneal adezyonların azaltılması amacıyla verapamil ve hidrokortizon sülfat kullanılmış. Böylece kalsiyum kanal blokeri kullanılarak hücre migrasyonunun azaltılması ve hidrokortizon kullanılarak ise tPA baskılanması sağlanarak adezyon oluşumunun önlenmesi amaçlanmıştır. Ancak verapamil ve hidrokortizon kullanımının olası yüksek yan etkileri ve terapötik aralığının dar olması bizim çalışmamıza göre eksik yanlarını oluşturmaktadır.

Raşa K. ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı deneysel bir çalışmada metilen mavisi kullanılarak fibrozisin engellenebileceği öngörülmüştür. Ancak metilen mavisi konusunda yeterli deneyim olmaması klinik kullanımını engellemekte ve aynı zamanda metilen mavisi için ne miktarda kullanılacağı konusu da muammadır. (92)

Avşar FM ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada difenhidramin HCL ve metilprednizolon kullanılmış ve adezyonlar azalttığı saptanmış ancak yan etki profili ve kullanım zorluğu nedeniyle rutin kullanımı önerilmemiştir.

Menzies ve arkadaşlarının (105) 1998 yılında yaptığı bir çalışmada abdominal adezyonların azaltılması amacıyla topical doku aktivatörü kullanılmış. Ancak klinik kullanımı hakkında yeterli deneyim yoktur.

Ancak bizim çalışmamızda ise D vitamini kullanılmıştır. Çünkü flavonoid ve/veya verapamil-hidrokortizon kullanımına nazaran D vitamini kullanımı hem klinik kullanım açısından hemde güvenilirliği açısından daha kolaydır.

Kollejen yıkımında metalloproteinazlar ve doku metalloproteazları önemli rol oynamaktadır. Ancak metalloproteinazlar endotel iyileşmesinden önceki dönemde düşer. Bu nedenle fibrosis hızlanır. Bizim çalışmamızda kullanılan D vitamini metalloproteinazlarının üzerine olan etkisi çalışılmamıştır. Bu çalışmamızın kısıtlılıklarındandır.

Pariyetal peritonu travmatize ederek oluşturmuş olduğumuz bu modelde D vitamininin gavaj yoluyla kullanımının adezyon oluşumunu azalttığını, deney prosedürünün sonunda yapmış olduğumuz ikinci operasyonda makroskopik olarak saptadık. Hem Pa konsantrasyonu hem de PAI-1 konsantrasyonu PAD ve PA gruplarında azalmaktadır.

diZerega Gs ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada mezotel onarımı sırasında makrofaj ve lenfositlerden bir takım büyüme faktörlerinin üretildiği bildirilmiştir. Bu faktörler fibroblast ve kollajen üretimini arttırmaktadır. Bunlar; platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor-b (TGF-b), epidermal growth factor (EGF), interleukin-1 (İL-1) ve tumor nekrosis factor –a (TNF-a) dır. Bu çalışmaya göre PDGF, TGF-b plazminojen activator inhibitor-1 (PAI-1) düzeyini arttırmakta ve adezyonları arttırmaktadır. Bizim çalışmamızda bu faktörlerin çalışılmamış olması kısıtlılığımız olarak kabul edilebilir.

PPA'ları önlemek için birçok teknik , madde ve ajan denenmiştir : Çeşitli cerrahi yöntemler , minimal invazif ve laparoskopik teknikler , mezotelial hücre travması sonrası oluşan inflamatuvar yanıtı ve /veya fibrin oluşumunu hedef alan farmakolojik ajanlar, mezotelial yüzeyler arasında mekanik bariyer oluşturan sıvılar , jeller, katılar denenmiş ve bu maddelerden bazıları da ilaç piyasasına sunulmuş ve kullanılmaktadır.

Günümüzde adezyon profilaksisinde en çok kullanılan ürünlerden bazıları emilmeyen bir madde olan Politetraşoretillen membran (Gore-Tex[®]), emilebilir olan ürünler hyalüronik asit-karboksimetil selüloz membran (Seprafilm[®]) ve okside rejener selüloz (Interceed[®]) ile karın içine dökülerek kullanılan taurolidin (Taurolin[®]) solüsyonudur. Tüm bu gelişmelere rağmen karın içindeki adezyonu tamamen yok eden bir çözüm olmadığı için adezyonlar halen karın ameliyatı geçiren hastalarda önemli bir sorundur.

Belzer ve arkadaşlarının 1967 yılında yaptığı köpekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada peritoneal fibrin oluşumunun en önemli nedeninin iskemi olduğu ve iskemi nedeniyle serbest oksijen radikallerinin artması sonucu fibrin oluşumunun arttığı saptanmış. Bu nedenle antioksidan özelliği olan nitric oksit düzeyinin arttırılmasını sağlayan sildenafil benzeri ilaçlar kullanılmış. Ancak bu ilaçların çok fazla yan etkisi vardır.

Monk BJ ve arkadaşlarının 1994 yılında yaptığı bir çalışmada deneysel olarak adezyon oluşturan modellerde nitrik oksitin serbest radikalleri azaltarak adezyonları azalttığı bulunmuştur. Bu amaçla NO arttırıcı özelliğinden dolayı sildenafil benzeri ilaçlar kullanılmıştır. Ancak sildenafilin yan etkilerinin fazla olması bizim çalışmamızdan olan eksiklikleridir.

Bizim peritoneal adezyonu önlemek için oluşturduğumuz mekanizma D vitamininin inflamasyonu önlemede etkili olduğu bilgisine dayanmaktadır. D vitamini alımı kolay diğer uygulanabilecek tekniklere göre ucuz, etkisi ve etkinliği bilinen, terapötik sınırları üzerinde bir çok çalışma yapılmış bir madde olup ve uygulanması için herhangi bir cerrahi teknik gerektirmez, ağızdan alınabilir.

Cerrahi sonrası D vitamin uygulanması ; yüzeyler arasında tabaka oluşturacak olan fibrin dokularının önlenmesinde deperitonize yüzeyin, çevre dokularla temasında oluşan inflamasyonu önleyerek PPA'ları önlediği öne sürülmektedir.

Nitekim, invitro çalışmalar göstermiştir ki , yüksek viskoziteli bir ortamın iki yanında bulunan hücre ya da hücre gruplarının birbirine doğru olan hareketi gecikmekte ve viskozite düzeyine bağlı olarak birleşme (adezyon) ya hiç oluşmamakta ya da geç gerçekleşmektedir.

Ellis H. ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratlar üzerinde deneysel olarak peritonit oluşturulmuş ve sıvıda yapılan incelemelerde PAI düzeyinde belirgin artış saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarında PAI artışının fibrinoliz ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da D vitamininin PAI düzeylerini arttırıcı özelliğinden faydalanılarak adezyon oluşumunun azalacağı öngörülmüştür.

Gervin ve arkadaşlarının 1973 yılında yaptığı bir çalışmaya göre serozal hipofibrinolizisin olması fibrin oluşumunun nedenlerinden biri olarak bulunmuş. Bu çalışmaya göre damar endotelindeki hücrelerin Pa üretmesi ile plasmin miktarı artar

ve fibrinolitik aktivite artar. Bizim çalışmamızdaki sonuçlardan birisi de bu çalışma ile benzerlik göstermekte. Yani D vitamininin plasmin miktarı artar ve fibrin oluşumu azalır.

Mezotel yüzeylerinin, damar endotelindeki gibi kendine ait bir fibrinolitik aktivitesi vardır (141). Periton travmasından sonra (örneğin karın ameliyatı) karın boşluğunda oluşan fibrin pıhtı plazmin aracılığıyla yıkılır. Plazmin, Pa stimülasyonu ile inaktif formu olan plazminojenden sentezlenir. Bu yüzden ortamdaki fibrinolitik aktivite ne kadar yüksekse adezyon gelişimi o oranda azalmaktadır. Deneysel modelimizde Vitamin D 'nin uygulanması serum örneklerindeki Pa konsantrasyonlarını azaltmıştır.

Pa'nın, PAI-1 tarafından inhibisyonu peritonda azalmış fibrinolizin en önemli nedenidir (142). Çalışmamızda serum örneklerindeki PAI-1 ortalamaları PA ve PAD gruplarında kontrol grubundan daha düşüktü, bu yüzden Vitamin D'nin peritoneal fibrinolizi serum PAI-1 üzerinden etkilemediği yargısına varılabilir. PAI-1, plazminojen aktivatörleriyle birleşerek inaktif kompleksler oluşturur ve sonuç olarak fibrin yıkımını engeller.

Ivarsson ve arkadaşları (98) 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada postoperative dönemde adezyonların göztergesi olarak doku faktörlerinin kullanılabilmesini öne sürmüşlerdir. Bu çalışmaya göre PAI-1 ile tPA/PAI-1 konsantrasyonları arasında doğru orantı olduğunu öne sürmüştür.

Bizim çalışmamızda ise Pa/PAI-1 kompleks ile Pa düzeyleri arasında pozitif yönlü bir ilişki bulunmuştur.

Weibel ve arkadaşlarının 2001 yılında postmortem vakalarda yaptığı bir çalışmada abdominal cerrahi sonrasında peritoneal adezyonların gelişimini incelemiş ve iskemi- travma sonrasında fibrosis oluştuğunu göstermişlerdir. Çalışmaya göre doku plazminojen aktivatörü düzeyinin azalmasıyla plazminojen activator inhibitor tip 1 ve tip 2 düzeyleri artmaktadır. Yani PAİ düzeylerinin artması fibrosis ile ilişkilidir.

Bizim çalışmamızda bu nedenle D vitamininin PAİ miktarını azaltması ve fibrin oluşumunu önlemesi gerektiği düşünülmüş ve yapılan ikinci cerrahi incelemede hem makroskopik olarak hemde histopatolojik olarak D vitamin

kullanımı sonrasında Pa miktarının arttığı PAİ miktarının azaldığı görüldü.

Gruplarda yapılan H&E boyalarına göre; fibrozis, inflamasyon ve vasküler proliferasyon değerlendirilmiştir. Buna göre D vitamini uygulaması peritoneal adezyondaki fibrozisi, inflamasyonu ve vasküler proliferasyonu D vitamini uygulanmayan gruba göre azaltmaktadır. Yalnız fibrozis, inflamasyon ve vasküler proliferasyon kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur.

PAI-1 boyaması skorlamasında, dokularda PAI tulumuna göre; PAD grubunda PA grubundan daha az, kontrol grubuna göre daha fazla tutulum söz konusudur. PTAH boyamasında da buna benzer sonuç gözlenmiştir.

Gruplarda yapılan özel boyalara göre; PAI-1 boyaması skorlamasında, dokularda PAI tulumuna göre; PAD grubunda PA grubundan daha az, kontrol grubuna göre daha fazla tutulum söz konusudur. PTAH boyamasında da buna benzer sonuç gözlenmiştir.

Buradaki iki temel fark, epitelizasyon ve fibrinin birikiminin sonucudur. Peritonun epitelizasyonu yaralanma bölgesinin her tarafında aynı anda başlarken, diğer yaralarda epitelizasyon yara kenarlarından merkeze doğru olur. Bir diğer fark ise, normal şartlarda peritondaki fibrinin, fibrinolizle yıkıldıktan sonra emilirken, diğer yaralarda fibrin matriks kollajenden zengin skar dokusuna dönüşmesidir.

Weimann ve arkadaşlarının 1999 yılında insan cilt hücre kültürlerinde yaptığı çalışmada; Kalsiyum-Vit D-pantotenat eklenmiş insan cilt hücre kültüründe yapay olarak oluşturulmuş yaraya cilt hücre migrasyonunun daha fazla ve hızlı olduğu ve yara iyileşmesinin hızlandığı saptanmıştır (143).

Özetle bu çalışmada, Vit D'nin Pa konsantrasyonu ve Pa aktivitesi bakımından olumlu etkilerinin olmamasına karşılık, histolojik kesitlerin incelenmesine göre peritoneal fibrinoliz üzerine olumlu etkileri olduğunu ve ikinci operasyonda D vitamini verilen gruplarda peritoneal adezyon gelişiminin daha az olduğu bulunmuştur.

Deneysel olarak PPA oluşturmak için çeşitli modeller geliştirilmiştir : Abrazyon, lokal periton eksizyonu, iskemik hasar, peritoneal kavite içine yabancı cisim konulması (örneğin; talk pudrası), termal hasar, bakteriyel kontaminasyon vs.

Biz bu çalışmada model olarak, laparotomilerde oluşan mekanik travmayı çok

iyi taklit ettiği için PBC modelini tercih ettik. Çünkü laparotomiler sırasında elle ya da cerrahi aletlerle gerçekleştirilen her türlü manüpilasyon bir mekanik travmadır ve zaten PPA'ların en sık nedeni de laparotomiler sırasında gerçekleşen bu mekanik travmalardır.

PPA'ların önlenmesi için önümüzde müdahale edilebilecek iki temel süreç vardır:

1-Peritoneal travmanın önlenmesi.

2-Travma görmüş peritoneal alanın herhangi bir yüzeye adezyonunun önlenmesi.

Travma oluştuktan sonra başlayan inflamasyon ve yara iyileşme süreçleri oldukça karmaşıktır ve birçok bilinmeyen basamaklar içermektedir . Bu süreçlerin fizyopatolojisi tam olarak aydınlatılmadan yapılacak uygulamalarda başarı şansı görece düşük olacaktır. Üstelik, travma oluştuktan sonra kullanılacak madde/yöntem ne olursa olsun ; bir yandan peritoneal mezotelial hücrelere toksik etki oluşturmazken, bir yandan da yara iyileşmesini hızlandırmak ve /veya bu süreç tamamlanana kadar mezotelial yüzeylerin birbirine adezyonunu önlemek zorunda kalacaktır.

Bizim bu çalışmada Vitamin D'yi tercih etmemizin iki nedeni vardı : Vitamin D'nin inflamasyon önleme üzerine olan olumlu etkileri , diğeri uygulamanın kolay ve ucuz olması.

Bu çalışmanın kısıtlayıcı yanları dokuda tPA düzeyine bakılmamış olması, Vitamin D'nin sadece oral olarak uygulanmış olması, Vitamin D'nin farklı dozlarda etkisi olup olmadığının test edilmemiş olması ve biyokimyasal sonuçların histolojik sonuçları desteklemiyor olmasıdır.

6-SONUÇ VE ÖNERİLER

D vitamini verdiğimiz olgularda peritoneal adezyonların cerrahi laparotomi ile azaldığını, bunun histolojik skorlarının istatikselsel olarak anlamlı düzeyde azaldığını görmemizle beraber; biyokimyasal verilerde bu bulgularımızı destekleyemedik. Denek sayısının artırılması bu bulgumuzu destekleyebilir.

Buradan, D vitamininin bu uygulama dozu ve sıklığının diğer yara iyileşme süreci üzerine olumlu etkilerinin olduğu fakat yapılacak yeni çalışmalarla (doz ve tedavi süresi) bu verilerin artırılması gerekliliği sonucunu çıkardık. D vitamini kullanılması dokularda fibrozis, inflamasyon ve vasküler proliferasyonu tam olarak geriletememesi etkili ve/veya yeterli bir tedavi önermesini güçlendirmemiştir ve bunu nasıl ortaya koyduğu sonuçlandırılmamıştır.

Bu çalışmadan iki önemli sonuç çıkarabiliriz:

1-D vitamini, periton travması sonrası peritoneal yüzeylere uygulandığında peritoneal adezyonları azaltabilir.

2-Vital dokulara ve özellikle peritoneal mezotelial hücrelere toksik etki oluşturmayan D vitamini peritoneal travma sonrası uygulandığında inflamasyonu önleyerek/azaltarak peritoneal adezyon oluşumunu azaltabilir.

Bu sonuçlar abdominal cerrahi pratiğinde şöyle kullanılabilir : Ameliyata sonrası D vitamin verilebilir PPA'lar gerileyebilir ya da daha az oluşabilirler.

Bu verilerin daha güvenilir olması için yeni çalışmalarla doz ve tedavi süresi değiştirilerek verilerin artırılması gerekliliği sonucunu çıkardık.

KAYNAKLAR

- 1-Tittel A, Treutner KH, Titkova S, Öttinger A, Schumpelic V: New adhesion formation after laparoscopic and conventional adhesiolysis. *Surg Endosc* 2001; 15: 44-46.
- 2-Cittadini E, Orland F, Benigno M: Pelvic adhesions and infertility: classification, prevention and therapy. *Acta Eur Fertil* 1982; 13: 105-111.
- 3-Holmdahl L; Risberg B: Adhesions: prevention and complications in general surgery. *Eur J Surg* 1997; 163: 169-174.
- 4-Bumin O. Sindirim Sistemi Cerrahisi. I.Cilt. 6.Basım. Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi; 1983: 244-254
- 5-Bumin O. Sindirim Sistemi Cerrahisi. II.Cilt. 3.Basım Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi; 1986:174-181
- 6-Shackelford RT. *Surgery of the Alimentary Tract*. 2nd ed. London: W.B.Saunders Co. Philadelphia; 1986: 144-149
- 7- Hodgkin T. *Lectures on the Morbid Anatomy of the Serous and Mucous Membranes*. Vol. 1. London: Simpkin, Marshall and Co; 1836:
- 8-Ballie M. *The Morbid Anatomy of the Human Body*. London: 1833:
- 9-Cruveilhier J. *Traite d'anatomie pathologique generale*. Paris: 1849:
- 10-Replogle RL, Johnson R, Gros RE: Prevention of postoperative intestinal adhesions with combined promethazine and dexamethasone therapy. *Ann Surg*. 1966; 163: 580–588.
- 11-Paget J. *Lectures on Surgical Pathology*. 3rd ed. London: Longman; 1870:
- 12-Treves F. *Intestinal obstruction; its varieties, with their pathology, diagnosis and treatment*. London: Cassell Co. Ltd; 1888:
- 13-Ellis H, Moran DJ, Thompson JN, Parker MC, Wilson MS: Adhesion-related

- hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1476-1480.
- 14-Menzies D, Ellis H: Intestinal obstruction from adhesions; how big is the problem? *Ann R Coll Surg* 1990; 72: 60-63.
- 15-Bryant T. Clinical Lectures on intestinal obstructions. *Med. Times Gazette* 1872: 363-370.
- 16-Battle WH. intestinal obstructions coming on 4 years after the operation of ovariectomy. *Lancet* 1883; 1: 818-827.
- 17-Von Dembovski T. Ueber die ursachen der peritonealen adhasionen nach chirurgischen eingriffen mit riicksicht auf die frage des ileus nach laparotomien. *Arch. Klin. Chir* 1888; 37: 745-749.
- 18-Franz K. Ueber die Bedeutung der Brandschorfe in der Bauchhöhle *Z. Geburtsh. Gynaek* 1902; 47: 64-75.
- 19-Weibel MA, Majno G: Peritoneal adhesions and their relation to abdominal surgery. *Am J Surg.* 1973; 126: 345-353.
- 20-Zorluoğlu A , Yılmazlar T, Koru N , Kaya E , Şavkın B , Kızıl A: Adhesiv incebarsak tıkanıklığı. *Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi*; 1991: 1-5
- 21-Risberg B. Adhesions: Preventive strategies *Eur J Surg.* 1997; 577: 32-39.
- 22-Gibson CL. A study of 1000 operations for acute intestinal obstruction. *Ann. Surg.* 1900; 32: 486-493.
- 23-Vick RM: Statistics of acute intestinal obstruction. *Brit. Med*; 1932: 546-551.
- 24-Mc iver MA. Acute intestinal obstruction: general considerations. *Arch. Surg*; 1932: 1098-1106.
- 25-Moss W, Mc Fetridge EM: Acute intestinal obstruction: a comparative study of 511 cases. *Ann. Surg.* 1934; 100: 158-164.

- 26-Conolly BW, Stephens OF: Factors influencing the incidence of intraperitoneal adhesions: An experimental study. *Surgery*; 1968: 976-979.
- 27-Wangensteen OH. *Intestinal Obstruction*. 3rd ed. Springfield: Charles C.Thomas, 1955.
- 28-Ellis H: The causes and prevention of intestinal adhesions. *Brit. J. Surg.* 1982; 69: 241-249.
- 29-Füzün M, Harmancıoğlu Ö, Tatar FA, Yürekli S: Major causes of mechanical intestinal obstruction in Western Turkey. 2nd Mediterranean Surgical Congress. Athens 24th-30th of June 1989.
- 30-Jones PF. *Intestinal Obstruction-Emergency Abdominal Surgery*. 2nd ed. Blackwell: 1987.
- 31-Weibel MA, Majno G: Peritoneal adhesions and their relation to abdominal surgery postmortem study. *Am. J. Surg.* 1973; 126: 345-356.
- 32-Nemir P. intestinal obstruction ten year statistical survey at the Hospital of the University of Pennsylvania. *Ann. Surg.* 1952; 135: 367-372.
- 33-Shapiro I, Granath M, Sharf M: The effect of intraperitoneal colchicine on formation of peritoneal adhesions in the rat. *Arch. Gynecol.* 1982; 231: 227-235.
- 34-Raf LE: Causes of small intestinal obstruction; a study covering the Stockholm area. *Acta. Chir. Scand.* 1969; 135: 67-78.
- 35-Raf LE: Causes of abdominal adhesions in cases of intestinal obstruction. *Acta. Chir. Scand.* 1969; 135: 73-81.
- 36-Bryant LR: An evaluation of the effect of fibrinolysin on intraperitoneal adhesion formation, *Am J Surg.* 1963; 106: 892-901.
- 37-Collins DL, Sandy J T: Peritoneal adhesions: Experimental use of fibrinolysin to prevent reformation, *Arch Surg* 1965; 91: 413-419.

- 38-Knightly J, Agostine D, Clifton E: The effect of fibrinolysin and heparin on the formation of peritoneal adhesions, *Surgery* 1962; 52: 250-258.
- 39-Hugh T B, Ellis H: Postoperative abdominal adhesions an experimental study of the value of polyvinylpyrrolidone in prophylaxis, *Brit J Surg* 1964; 51: 381-388.
- 40-Kalaycı Ş. *Histoloji*, Bursa: Uludağ Üniversitesi Basım Evi; 1986.
- 41-Erbendi T. *Histoloji*, Ankara: Güneş Kitap Evi; 1992.
- 42-Yıldırım M . *Sistemik Resimli Anatomi Sözlüğü* , Ankara: Nobel Kitap Evi; 2004
- 43-Temel Klinik Anatomi. İstanbul: Güneş Kitabevi; 2006; 118-185.
- 44-Ozan H. *Anatomi*, Ankara: Nobel Tıp Kitap Evi; 2004.
- 45-Flament AU: Functional anatomy of the abdominal wall. *JB SO Chirurg.* 2006; 77: 401-409.
- 46-Drake R, Vogl W, Mitchell AWM. *Grays Anatomy for Students*, 2nd Edition, Abdominal Viscera, 2009: 406
- 47.Tank P. *Grants Dissector 15th ed.*, ch.4 The abdomen, 2013: 99
48. Ellis H: The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Surg Gynecol Obstet.* 1971: 497-511
49. Baxter GM, Broome TE, Moore JN: Abdominal adhesions after small intestinal surgery in the horse. *Vet Surg.* 1989: 18;409-414.
50. Bjorling DE, Latimer KS, Rawlings CA, Kolata RJ, Crowe DT Jr: Diagnostic peritoneal lavage before and after abdominal surgery in dogs. *Am J Vet Res.* 1983;44 :816-820.
51. diZerega GS: Contemporary adhesion prevention. *Fertil Steril.* 1994; 61: 219-35.
- 52.Wittman DH, Walker AP, Condon RE. Peritonitis and intraabdominal infection.

- In: Schwartz S, Shires G, Spencer F(eds), Principles of Surgery, 6 th ed. New York, NY: McGraw- Hill; 1991: 1449-1483.
53. Leak LV, Rahil K: Permeability of the diaphragmatic mesotelium: the ultrastructural basis for stomata. *Am J Anat* 1978; 151: 557-594.
54. Ertekin C. Karın İçi Enfeksiyonlar . In Kalaycı G. Eds. Genel Cerrahi. İstanbul Nobel Tıp, 2002: 217-243
55. Zink J, Greenway CV: Intraperitoneal pressure in formation and resorption of ascites in cats. *Am J Physiol* 1977; 233: 185-190.
56. Abu Hijleh MF, Habbal OA, Moqattash ST: The role of the diaphragm in lymphatic absorption from the peritoneal cavity. *J Anat* 1995; 186: 453-467.
57. Heel KA, Hall JC: Peritoneal defences and peritoneum-associated lymphoid tissue. *Br J Surg* 1996; 83: 1031-1036.
58. Von Recklinghausen FT: Zur Fettresorption. *Arch Pathol Anat Pathol* 1863; 26: 172-176.
59. Hedenstedt S: Elliptocyte transfusions as a method in studies on blood destruction, blood volume and peritoneal resorption. *Acta Chir Scand* 1947; 95: 141- 143.
60. Dumont AE, Robbins E, Martelli A, Iliescu H: Platelet blockade of particle absorption from the peritoneal surface of the diaphragm. *Proc Soc Exp Biol Med* 1981; 167: 137-142
61. Gürleyik G, Gürleyik E, Ünalmişer S: Systemic spread of intreabdominal infection via transdiaphragmatic lymphatics: evaluation with serum endotoxin and cytokine level in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2000; 6: 24-27.
62. Aysan E, Kurt G, Aren A: The effect of diaphragmatic peritoneal lymphatics on peritoneal adhesions: an experimental study. *Lymphology.* 2004; 37: 134-140.
63. Dahan A, Mendelman A, Amsili S, Ezov N, Hoffman A: The effect of general

- anesthesia on the intestinal lymphatic transport of lipophilic drugs: comparison between anesthetized and freely moving conscious rat models. *Eur J Pharm Sci.* 2007; 32: 367-374.
64. Flessner MF, Parker RJ, Sieber SM: Peritoneal lymphatic uptake of fibrinogen and erythrocytes in the rat. *Am J Physiol.* 1983; 244: 89-96.
65. Yoffey JM, Courtice CF: The pathophysiology of lymph flow. In: *Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex.* New York, Academy Press, Inc. 1970, 356- 443.
66. Yoffey JM, Courtice FC: *Lymphatics, lymph and the lymphomyeloid complex.* Academic press, London, New York 1970: 517-619.
67. Nigam Y, Knight J. The lymphatic system. Part 2--the lymphatic organs. *Nurs Times.* 2008; 8-14; 104: 26-27.
68. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PI: Structure, blood supply, and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. *Am J Anat* 1982; 165: 277-278.
69. Courtice FC, Steinbeck AW: Absorption of protein from the peritoneal cavity. *J Physiol* 1951; 114: 336-355.
70. Bettendorf U. Lymph flow mechanism of the sub-peritoneal diaphragmatic lymphatics. *Lymphology* 1978; 11: 111-116.
71. Parker RJ, Hartman K, Sieber S: Lymphatic absorption and tissue disposition of liposome-entrapped C-adriamycin following intraperitoneal administration to rats. *Cancer Res* 1981; 41: 1311-1317.
72. Speyer J, Collins J, Dedrick R, Brennan M, London H, De Vita V, Myers C: Phase I and pharmacological studies of 5-fluorouracil administered intraperitoneally. *Cancer Res* 1980; 40: 567-572.
73. Olszewski WL: Continuing discovery of the lymphatic system in the twenty-first century: A brief overview of the past. *Lymphology* 2002; 35: 99-104.

- 74-McHale NG: Innervation of the lymphatic circulation. In: Experimental biology of the lymphatic circulation. Ed. Johnston MG, Elsevier Science Publishers, BV 1985, 121-140.
- 75-Johnston MG, Elias R: The regulation of lymphatic pumping. *Lymphology* 1987; 20: 2158-2164.
- 76-Erol Ç: Vücut Sıvılarının ve Dolaşımın Birbirine Bağlı İlişkileri : Editör, Bor N. Sodemans Fiziopatoloji. 2.Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi; 1991. 245- 246.
- 77-Drake RE, Allen SJ, Gabel JC, Katz J, Laine GA: Effect of endotoxin on diaphragm lymph contamination in unanesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1987; 62: 706-710.
- 78-Brouard R, Tozer TN, Baumelou A, Gambertoglio JG: Transfer of autologous haemoglobin from the peritoneal cavity during peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 57-62.
- 79-Browse NL, Lord RSA, Taylor A: Pressure waves and gradients in the canine thoracic duct. *J Physiol* 1971; 213: 507-524.
- 80-Campbell T, Heath T: Intrinsic contractility of lymphatics in sheep and dogs. *Quart J Exp Physiol* 1973; 58: 207-217.
- 81-Kalaycı Ş. Histoloji 1. Baskı Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi; 1986.
- 82-Neurath MF: New therapies for sepsis: focus on the interleukin (IL)12 family member IL27. *Ann Rheum Dis.* 2007; 66: 29-31.
- 83- Steinhäuser ML, Hogaboam CM, Lukacs NW, Strieter RM, Kunkel SL: Multiple roles for IL-12 in a model of acute septic peritonitis. *J Immunol.*1999; 162: 5437-5443.
- 84-Chen JY, Chiu JH, Chen HL, Chen TW, Yang WC, Yang AH: Human peritoneal mesothelial cells produce nitric oxide: induction by cytokines. *Perit Dial Int;*

- 2002; 20: 772-777.
- 85-Ellis H: The causes and prevention of intestinal adhesions. *Br J Surg.* 1982;69:241-243,
- 86-Menzies D, Ellis H: Intestinal obstruction from adhesions--how big is the problem? *Ann R. Coll Surg Engl.* 1990;72:60-63.
- 87.Soo KC, Davidson T, Parker M, Paterson I, Paterson A: Intestinal obstruction in patients with gynaecological malignancies. *Ann Acad Med Singapore.* 1988: 15: 72-75.
- 88- Holtz G: Prevention and management of peritoneal adhesions. *Fertil Steril.* 1984 Apr;41(4):497-507.
- 89- DeSimone JM, Meguid MM, Kurzer M, Westervelt J: Indomethacin decreases carrageenan-induced peritoneal adhesions. *Surgery.* 1988; 104: 788-795.
- 90- Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, Reijnen MM, van Goor H: Recent clinical developments in pathophysiology, epidemiology, diagnosis and treatment of intra-abdominal adhesions. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 2000;(232):52-9.
- 91- diZerega GS, Campeau JD: Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. *Hum Reprod Update.* 2001 Nov-Dec;7(6):547-55.
- 92- Raşa K, Erverdi N, Karabulut Z, Renda N, Korkmaz A: The effect of methylene blue on peritoneal adhesion formation. *Turk J Gastroenterol.* 2002 Jun;13(2):108-11.
- 93-Rosin RD: Treatment of peritonitis. *Br J Surg.* 1985 Apr;72(4):326.
- 94- Steinleitner A, Lambert H, Montoro L, Kelly E, Swanson J, Sueldo C: The use of calcium channel blockade for the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril.* 1988 Nov;50(5):818-21.
- 95- Müller SA, Treutner KH, Tietze L, Jansen M, Anurov M, Titkova S, Oettinger AP, Schumpelick V: Influence of early drainage of intraperitoneal phospholipids

- on efficacy of adhesion prevention. *J Invest Surg.* 2002 Jan-Feb;15(1):23-8.
- 96- Avsar FM, Sahin M, Aksoy F, Avsar AF, Aköz M, Hengirmen S, Bilici S: Effects of diphenhydramine HCl and methylprednisolone in the prevention of abdominal adhesions. *Am J Surg.* 2001 Jun;181(6):512-5.
- 97- Holtz G: Prevention of postoperative adhesions. *J Reprod Med.* 1980: 241;141-146.
- 98- Ivarsson ML, Bergström M, Eriksson E, Risberg B, Holmdahl L: Tissue markers as predictors of postoperative adhesions. *Br J Surg.* 1998 Nov;85(11):1549-54.
- 99- Durmuş AS, Han MC: Effect of bovine amniotic fluid on intraabdominal adhesions. *Indian Vet J.* 2006: 83; 621-623
- 100- Kappas AM, Barsoum GH, Ortiz JB, Keighley MR: Prevention of peritoneal adhesions in rats with verapamil, hydrocortisone sodium succinate, and phosphatidylcholine. *Eur J Surg.* 1992; 158(1):33-5.
- 101-Yilmazlar T, Kaya E, Gürpınar E, Emiroğlu H: Efficacy of tenoxicam on intra-abdominal adhesion prevention in a rat model. *J Int Med Res.* 1996;24(4):352-7.
- 102- Yilmaz HG, Tacyildiz IH, Keles C, Gedik E, Kilinc N: Micronized purified flavonoid fraction may prevent formation of intraperitoneal adhesions in rats. *Fertil Steril.* 2005 Oct;84 Suppl 2:1083-8.
- 103-Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Derveniz C, Young RL. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dig Surg.* 2001;18:260-273.
- 104-Weibel MA, Majno G: Peritoneal adhesions and their relation to abdominal surgery. A postmortem study. *Am J Surg.* 1973;126(3):345-53.
- 105-Menzies D, Ellis H: Intra-abdominal adhesions and their prevention by topical tissue plasminogen activator. *J R Soc Med.* 198; 82(9):534-5.

- 106-Ray NF, Denton WG, Thamer M, Henderson SC, Perry S. Abdominal adhesiolysis: inpatient care and expenditures in the United States in 1994. *J Am Coll Surg.* 1998 ;186:1-9.
- 107-Wilson MS, Hawkswell J, McCloy RF. Natural history of adhesional small bowel obstruction: countingthecost. *Br J Surg.* 1998;85:1294-1298.
- 108-Monk BJ, Berman ML, Montz FJ. Adhesions after extensive gynecologic surgery: clinical significance, etiology, and prevention. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 170:1396-1403.
- 109-Ellis H. The clinical significance of adhesions: focus on intestinal obstruction. *Eur J Surg Suppl.* 1997;5-9.
- 110-Markogiannakis H, Messaris E, Dardamanis D, Pararas N, Tzertzemelis D, Giannopoulos P, Larentzakis A, Lagoudianakis E, Manouras A, Bramis I: Acute mechanical bowel obstruction: clinical presentation, etiology, management and outcome. *World J Gastroenterol.* 2007 Jan 21;13(3):432-7.
- 111-Millbourn D, Cengiz Y, Israelsson LA: Effect of stitch length on wound complications after closure of midline incisions: a randomized controlled trial. *Arch Surg.* 2009; 144(11):1056-9.
- 112-.Stewardson RH, Bombeck CT, Nyhus LM: Critical operative management of small bowel obstruction. *Ann Surg.* 1978; 187:189-193.
- 113-Jansen RP: Prevention of pelvic peritoneal adhesions. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1991;3:369-374.
- 114-Belzer FO: The role of venous obstruction in the formation of intra-abdominal adhesions: an experimental study. *Br J Surg.* 1967 Mar;54(3):189-90.
- 115- Cameron JL, Halsted WS: Our surgical heritage. *Ann Surg.* 1997;225:445-458
- 116-Monaco JL, Lawrence WT: Acute wound healing: an overview. *Clin Plast Surg*

- 2003;30:1–12.
- 117-Nagase H, Woessner JF Jr: Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491–4.
- 118-Raza SL, Cornelius LA: Matrix metalloproteinases: pro- and antiangiogenic activities. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2000;5:47–54.
- 119- Baum C, Arpey C. Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events; *Dermatol Surg* 2005; 31(6):674-86
- 120- Brayton CF: Dimethyl sulfoide (DMOS). *Corneil Vet.* 1986: 76; 61-90
- 121- Tsimoyiannis EC, Tsimoyiannis JC, Sarros CJ, Akalestos GC, Moutesidou KJ, Lekkas ET, Kotoulas OB: The role of oxygen-derived free radicals in peritoneal adhesion formation induced by ileal ischaemia/reperfusion. *Acta Chir Scand.* 1989 Mar;155(3):171-4.
- 122- Chase JP, Beard WL, Bertone AL, Goltz K: Open peritoneal drainage in horses with experimentally induced peritonitis. *Vet Surg.* 1996 May-Jun;25(3):189-94.
- 123- Southwood LL, Baxter GM, Hutchison JM, Shuster R: Survey of diplomates of the American College of Veterinary Surgeons regarding postoperative intra-abdominal adhesion formation in horses undergoing abdominal surgery. *J Am Vet Med Assoc.* 1997 Dec 15;211(12):1573-6.
- 124-Holick MF: High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin. Proc.* 2006;. 81; 353–73.
- 125-Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN: Vitamin D intake: a global perspective of current status. *J. Nutr.* 2005: 135; 310–6.
- 126-Norman AW: From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008: 88; 491S–499S

- 127-Germain P, Staels B, Dacquet C, Spedding M, Laudet V: Overview of nomenclature of nuclear receptors. *Pharmacol. Rev.* 2006: 58 ; 685–704.
- 128-Adorini L, Daniel KC, Penna G: Vitamin D receptor agonists, cancer and the immune system: an intricate relationship. *Curr Top Med Chem* 2006: 12; 1297–301.
- 129-Gasser WR: Cholestasis and metabolic bone disease-a clinical review. *Wien Med Wochenschr* 2008: 158; 553-7.
- 130- Whang SH, Astudillo JA, Sporn E, Bachman SL, Miedema BW, Davis W, Thaler K: In search of the best peritoneal adhesion model: comparison of different techniques in a rat model. *J Surg Res.* 2011:167; 245-50.
- 131.Riet M, Steenwijk PJV, Bonthuis F, Marquet RL, Steyerberg EW, Jeekel J, Bonjer HJ.: Prevention of Adhesion to Prosthetic Mesh. Comparison of Different Barriers Using an Incisional Hernia Model. *Ann. Surg.* 2003: 237; 123-128,.
- 132.Irkorucu O, Ferahköşe Z, Memiş L, Ekinci Ö, Akın M.: Reduction of postsurgical adhesions in a rat model: A comparative study. *Clinics.* 2009: 64; 143-148.
- 133.Lalountas M, Ballas KD, Michalakis A, Psarras K, Asteriou C, Giakoustidis DE, Nikolaidou C, Venizelos I, Pavlidis TE, Sakantamis AK.: Postoperative adhesion prevention using a statin-containing cellulose film in an experimental model. *Br J Surg.* 2012: 99; 423-9.
- 134-Cotovio M, Monreal L, Armengou L, Prada J, Almeida JM, Segura D.: Fibrin deposits and organ failure in newborn foals with severe septicemia. *J Vet Intern Med* 2008: 22; 1403-1410.
- 135-Herrera VLM, Shen L, Lopez LV, Didishvili T, Zhang YX, Opazo NR.: *Chlamydia pneumoniae* accelerates coronary artery disease progression in transgenic hyperlipidemia-genetic hypertension rat model. *Mol Med* 2003: 9; 135-142.

- 136-Ito T, Kawahara K, Nakamura T, Yamada S, Nakamura T, Abeyama K, Hashiguchi T, Maruyama I.: High-mobility group box 1 protein promotes development of microvascular thrombosis in rats. *J Thromb Haemost* 2007; 5:109-116.
- 137-Winkler JT, Swaim STF, Sartin EA, Henderson RA, Welch JA.: The effect of a porcine-derived small intestinal submucosa product on wounds with exposed bone in dogs. *Vet Surg* 2002; 31; 541-551.
- 138-Binnebösel M, Klinge U, Rosch R, Junge K, Jansen PL, Schumpelick V: Morphology, quality, and composition in mature human peritoneal adhesions. *Langenbecks Arch Surg* 2008; 393;59-66.
- 139.Mutsaers SE.: Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. *Respirology* 2002; 7;171-191.
- 140.Başbuğ M, Bülbüller N, Camcı C, Ayten R, Aygen E, Özercan İH, Arıkanoğlu Z, Akbulut S.: The effect of antivascular endothelial growth factor on the development of adhesion formation in laparotomized rats: Experimental study. *Gastroent Res Pract* 2011, Article ID 578691, 8 pages. DOI:10.1155/2011/578691.
141. Gervin AS, Puckett CL, Silver D.:Serosal hypofibrinolysis. A cause of postoperative adhesions. *Am J Surg* 1973; 125;80-8.
142. Vipond MN, Whawell SA, Thompson JN, Dudley HA. Peritoneal fibrinolytic activity and intra-abdominal adhesions. *Lancet* 1990; 335;1120-2.
143. Weimann BI, Hermann D. Studies on wound healing: effects of calcium D-pantothenate on the migration, proliferation and protein synthesis of human dermal fibroblasts in culture. *Int J Vitam Nutr Res* 1999; 69;113-9.

