

RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN İNTRAABDOMİNAL ADEZYONLARIN ÖNLENMESİNDE APROTİNİN İLE METİLEN MAVİSİNİN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI*

Cihan GÜNAY¹ Aydın SAĞLIYAN² İhsan YAMAN³

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ – TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi, Süleyman Demirel Keban Meslek Yüksekokulu, Elazığ – TÜRKİYE

³Fırat Üniversitesi, Sivrice Meslek Yüksekokulu, Elazığ – TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 07.09.2004 Kabul Tarihi: 19.01.2005

ÖZET

Bu çalışma; ratlarda deneysel olarak oluşturulan intraabdominal adezyonları önlemede aprotinin ve metilen mavisinin etkinliğini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Ağırlıkları 175-200 gr arasında değişen 45 adet erkek rat rastgele 15'erli üç gruba ayrıldı. Ratlar eter ile anestezide alındı. Steril şartlar altında karın boşluğuna 3 cm'lik bir ensizyonla girildi. Tüm ratlarda karın duvarının iç yüzünde ve sekum serozasında steril bir diş fırçasıyla hasar oluşturuldu. Birinci gruptaki ratlara tek doz 25000 KIU (2.5 ml) aprotinin, ikinci gruptaki ratlara tek doz %1'lik metilen mavisi 2.5 ml, üçüncü gruptaki ratlara ise yine tek doz 2.5 ml serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. Karın boşluğu 3/0 ipek iplikle kapatıldı. On beş gün sonra tüm ratlar yüksek dozda eterle ötenazi edilerek laparotomi yapıldı ve adezyonlar 0-3 arasında değişen derecelerle derecelendirildi.

Birinci gruptaki ratların 13 tanesinde adezyon görülmezken, 1 tanesinde birinci derecede, 1 tanesinde ise ikinci dereceden adezyon gözlemlendi.

İkinci gruptaki ratların 7 tanesinde adezyon görülmezken, 4 tanesinde birinci derecede, 2 tanesinde ikinci derecede ve 2 tanesinde ise üçüncü dereceden adezyon gözlemlendi.

Üçüncü grupta 1 ratta adezyon gözlenmezken, 12 ratta üçüncü derecede ve 2 ratta ikinci derecede adezyon gözlemlendi.

Her iki grup, kontrol grubu ile adezyon açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu. ($p<0,01$).

Anahtar Kelimeler: Adezyon, Aprotinin, Metilen Mavisi

ABSTRACT

Effects of Aprotinin and Methylene Blue in Prevention of Experimentally Performed Intraabdominal Adhesions in Rats

This study was aimed to carry out a research on the effects of aprotinin and methylene blue in the prevention of experimentally performed adhesions in the rat models.

Forty five male rats weighed between 175-200 gr were randomly divided into three groups of 15 rats each. After anesthesia with ether and preparation of the surgical field for aseptic surgery an incision of 3 cm in length was performed along the abdominal midline. The serosal layer of the cecum and the inner surface of abdominal wall corresponding to the cecum were abraded aseptically with a tooth-brush. Groups 1, 2 and 3 rats were given intraperitoneally a single dose of 2.5 ml aprotinin (25000 KIU), methylene blue (1 %) and saline; respectively. The abdominal incision was closed with 3/0 silk suture. Fifteen days after the surgery all rats were killed with overdose administration of ether, their abdominal cavities were exposed and the adhesions occurred were graded on a scale of 0-3.

In group 1, there were 13 rats with grade 0, 1 rat with grade 1 and 1 rat with grade 2 adhesion.

In group 2, there were 7 rats with grade 0, 4 rats with grade 1, 2 rats with grade 2 and 2 rats with grade 3 adhesion.

In the control group there was 1 rat with grade 0, 2 rats with grade 2 and 12 rats with grade 3 adhesion.

The grade of adhesion was significantly higher in groups 1 and 2 compared to the control group ($p<0,01$).

Key Words: Adhesion, Aprotinin, Methylene Blue

* Bu çalışma, IX. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresinde poster olarak sunulmuştur (Side-Antalya-2004).

GİRİŞ

İntraabdominal adezyonların en yaygın sebebi daha önce bu bölgede yapılan şirurjikal işlemlerdir. İntraabdominal operasyon geçiren hastaların yaklaşık % 90'ında adezyon gelişebilir. Adezyon oluşumuna neden olan temel faktörler; damarlardaki lezyonlar, doku ezilmesi, enfeksiyon, operasyon dikişlerinin sıkı atılmasına bağlı olarak dokularda iskemi oluşması, yabancı cisimler (iplik parçası, pamuk, saman, operasyon eldivenindeki talk ve bağırsak içeriği) olarak sıralanmıştır(1-5).

Adezyonlar defektli ve iskemik yüzeylerde yeniden damarlaşmaya yardım ederek, bu bölgedeki dokunun canlılığının devamını sağlayan, vücudun bir savunma sistemi olarak kabul edilir. Fakat adezyonlar sıklıkla ağrı, bağırsak tıkanıklığı, infertilite ve hatta ölüme neden olabilirler (2, 3, 6, 7).

Postoperatif intraperitoneal adezyonların gelişiminin önlenmesi yada istenmeyen etkilerinin azaltılması için profilaksiye önem verilmesi tavsiye edilmektedir. Bu amaçla steroid ve nonsteroid antiinflamatuvarlar, antihistaminikler, antikoagulanlar, antioksidanlar, proteolitik enzimler, plazminojen aktivatörleri ile sindirim sistemi organlarının peristaltliğini artırıcı prostigmin veya yıkımlanmış serozal yüzeylerin temasını mekanik olarak önleyici sıvı yağ, parafin likit, dekstroz ve karboksimetilselüloz gibi madde ya da sıvılar kullanılmaktadır (1-3, 5, 8-10).

Aprotinin, sığır akciğerinden izole edilen doğal bir serin proteaz inhibitörüdür. Değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmakla birlikte, daha çok kalp cerrahisinde kan kaybını azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (11, 12). Diğer yandan araştırmacılar (13, 14) antiinflamatuvar ve fibrinolitik etkisinden dolayı intraabdominal adezyon oluşumunu önlemek amacıyla da kullanılabileceğini bildirmektelerdir.

Süperoksit, peroksidaz ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal oluşumları, doymamış yağ asitlerine oksitlenmektedir. Bu oluşum da hücre zarında hasara yol açarak intraperitoneal adezyonların oluşmasına neden olur. Metilen mavisi, hücre ve dokuların içine rahatlıkla girerek serbest radikal oluşumlarını inhibe eder ve bu şekilde antiadeziv etkisini gösterir (6, 15-18).

Bu çalışmada amaç; ratlarda deneysel olarak oluşturulan intraabdominal adezyonların önlenmesinde aprotinin ve metilen mavisinin etkinliğini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, ağırlıkları 175-200 gram arasında değişen 45 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar eterle anesteziye alındı. Laparatomiden önce tüm ratların karın bölgesi traş ve dezenfekte edildi. Yaklaşık 3 cm'lik median ensizyonla karın boşluğuna girildikten sonra, ileosekal bağırsak bölgesi ve karın duvarının iç yüzü steril bir diş fırçası ile birkaç kez fırçalanarak serozal hasar oluşturuldu. Ratlar 15'erli 3 eşit gruba ayrıldı. Birinci gruptaki ratlara i.p. olarak 2.5 ml (25000 KIU) aprotinin (Trasyol, Bayer, UK); ikinci gruptaki ratlara i.p. olarak % 1'lik 2.5 ml metilen mavisi (Raught, Ilford, UK) ve üçüncü gruptaki ratlara da yine i.p. olarak 2.5 ml serum fizyolojik solüsyonu uygulanarak karın ensizyonları 3/0 ipek iplikle kapatıldı.

Postoperatif onbeşinci günde tüm ratlar uzun süreli eter anestezisinde tutularak ötenazi edildi. Karın boşlukları paramedian laparotomi ile tekrar açılarak oluşan adezyonlar Duran ve ark. (6) belirttiği yöntemle göre 0-3 arasında değişen derecelere derecelendirildi. Çıkan sonuçlar Khi-kare testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Operasyondan önce anesteziye bağlı olarak iki ratın öldüğü görüldü. Bunların yerine yenileri konularak çalışma tamamlandı. Her üç grupta da postoperatif komplikasyon gelişmedi.

Ratlara aprotinin uygulanmasından sonra 13 tanesinde adezyon görülmezken, 2 ratta adezyon (1 ratta birinci derecede "Şekil 1", 1 ratta ise ikinci derecede) tespit edildi (Tablo 1).



Şekil 1. Aprotinin grubunda oluşan birinci derecede adezyon

Tablo 1. Oluşan adezyonların gruplara göre derecelendirilmesi

Adezyon derecesi	0	1	2	3
Aprotinin	13 (%86.6) ^a	1 (%6.6) ^a	1 (%6.6) ^a	-
Metilen mavisi	7 (%46.6) ^b	4 (%26.6) ^b	2 (%13.3) ^b	2 (%13.3) ^a
Kontrol	1 (%6.6) ^c	-	2 (%13.3) ^b	12 (%80.0) ^b

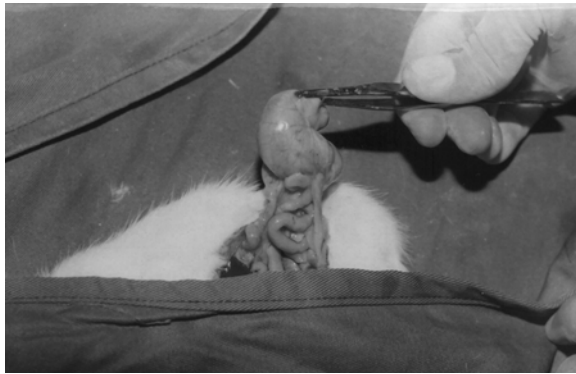
a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. (p<0,01)

0: Adezyon yok

1: Lezyonlu bölgeye lokalize olmuş, ince film şeklinde, kolaylıkla ayrılabilen adezyonlar

2: Lezyonlu bölgeye lokalize olmuş, güçlkle ayrılabilen kalın adezyonlar

3: Lezyonlu bölgenin dışında da şekillenen yaygın adezyonlar (6)



Şekil 2. Metilen mavisi grubunda oluşan ikinci derecede adezyon

Ratlara metilen mavisi uygulanmasından sonra 7 tanesinde adezyon görülmezken, 8 ratta adezyon (4 ratta birinci derecede, 2 ratta ikinci ve 2 ratta ise üçüncü derecede “Şekil 2”) tespit edildi (Tablo 1).

Kontrol grubunda ise 1 ratta adezyon görülmezken 14 ratta adezyon (2 ratta ikinci derecede, 12 ratta ise üçüncü derecede Şekil 3) tespit edildi (Tablo 1).



Şekil 3. Kontrol grubunda oluşan üçüncü derecede adezyon

Her üç grubun adezyon önleme açısından başarı oranı sırasıyla % 86, % 46 ve % 6 olarak ölçüldü.

Aprotinin ve metilen mavisi grupları, intraabdominal adezyonları önleme yönünden, kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (p<0.01). Ayrıca aprotininin metilen mavisine göre daha etkili olduğu ve aralarındaki farkın da istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü (p<0.01) (Tablo 1).

TARTIŞMA

Peritoneal yüzeylerin mekanik, şimik, termik, enfeksiyöz ve yabancı cisim gibi etkenlerle zedelenmesi, adezyon oluşması ile sonuçlanan olayları başlatır. Peritoneal mezotelial hücrelerin zedelenmesi, tromboplastin salınımına yol açarak fibrin oluşumu ile sonuçlanan pıhtılaşma mekanizmasını harekete geçirir. Aşırı fibrin üretimi veya zayıflamış peritoneal plasminojen aktivatör aktivitesi nedeniyle ortamdan uzaklaştırılmayan fibrin, adezyon oluşumu için matris oluşturur. Adezyon önleyici amaçla kullanılan ajanlar, peritoneal hasarın aktive ettiği ve adezyon oluşumunu sonuçlanan bu mekanizmaları etkiler (1, 2, 5, 8). Bu çalışmada kullanılan ve bir serin proteaz inhibitörü olan aprotinin antiinflamatuvar ve fibrinolitik etkisi ile adezyon oluşumunu önlerken (11-13); metilen mavisi süperoksit gibi oksijen radikallerinin oluşumunu inhibe ederek antiadeziv etkisini gösterir (6, 15, 16).

Bu çalışmada, intraperitoneal aprotinin uygulanan grupta, adezyon oluşumunun metilen mavisi ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az olduğu tespit edildi. Bu bulgu aprotininin i.p. olarak uygulandığı diğer çalışmaların (12, 13, 19, 20) sonuçları ile uyumludur.

Araştırmacılar (12, 13) yaptıkları çalışmada i.p. aprotinin uygulamalarının kontrol grubuna göre adezyon derecesi ve oranını önemli oranda düşürdüğü için aprotininin güçlü bir antiadeziv ajan olduğunu vurgulamışlardır. Perovic ve ark. (19) yaptıkları çalışmada, çocuklarda perfore apandisit operasyonundan sonra i.p. aprotinin uygulamalarının intraabdominal adezyonları önleyerek, gelişmesi muhtemel postoperatif bağırsak tıkanıklığını önemli oranda azalttığını tespit etmişlerdir. Dai ve ark. (11) köpeklerde laparatomiden sonra subkutan aprotinin uygulamalarının adezyon oluşumunu önemli oranda azalttığını, Young ve ark. (14) ratlarda adezyon oluşumunun önlenmesi için aprotininin mutlaka i.v. yolla verilmesi gerektiğini, bu yolla etkisini hemen gösterdiğini, aksi halde i.p. yolla verilen aprotininin etkisinin çok az olacağını vurgulamışlardır. Raftery

(20) ise yaptığı çalışmada aprotininin mevcut adezyonları çözemediğini, fakat ilk operasyondan sonra i.p. olarak verilecek aprotininin adezyon oluşumuna engel alabileceğini açıklamıştır.

Bu çalışmada deneysel olarak oluşturulan intraabdominal hasardan sonra i.p. olarak tek doz uygulanan 2.5 ml. (25000 KIU) aprotininin postoperatif adezyon oluşumunu önlediği ve % 86'lık bir başarı sağladığı görüldü. Bu sonuç yukarıdaki araştırmacıların (12, 13, 19) sonuçları ile örtüşmektedir.

Galili ve ark. (15) yaptıkları çalışmada, metilen mavisinin peritoneal adezyonların derece ve oranını düşürdüğünü belirtmişlerdir. Ancak metilen mavisinin etki mekanizmasını tam olarak açıklayamamakla beraber, serbest radikal oluşumu ile metilen mavisinin arasındaki ilişkiden kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır. Kelner ve ark. (16) metilen mavisinin süperoksitlerin üretimini inhibe ettiğini, bunu da purin substratlarının aneorobik oksidasyonu için gerekli olan xanthine oksidaza bağlı, demir sülfür iyonlarındaki oksijen molekülleri ile sağladığını belirtmişlerdir. Salaris ve ark. (18) süperoksit-dismutaz ve katalaz gibi serbest radikal artıklarının aksine, metilen mavisinin hücre ve dokuların içine rahatlıkla girerek hiçbir yan etki oluşturmadan adezyonları önleyebileceğini ve insanlarda 7 mg/kg dozun rahatlıkla kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Kluger ve ark. (17) yaptıkları çalışmada, % 1'lik metilen mavisinin intraperitoneal adezyon oluşumunu önlediğini ancak % 0.5 den daha düşük konsantrasyonlarda ise

adezyon oluşumu üzerinde ters etki yapacağını bildirirken, Duran ve ark. (6) % 0.1'lik metilen mavisinin adezyon oluşumunu önlemede kontrol grubuna göre orta düzeyde bir başarı sağlamasına rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark oluşturmadığını vurgulamışlardır.

Araştırmacılar (7, 8) yüksek konsantrasyonlardaki metilen mavisinin (% 5-9) ratlarda adezyon oluşumlarını arttıracaklarını belirtirken, % 9'luk metilen mavisinin aynı zamanda şiddetli perikardiyal ağrı, dispnea, huzursuzluk, titreme, korku ve anemi gibi yan etkiler oluşturabileceğini vurgulamışlardır. Matsuoka ve ark. (21), metilen mavisinin 1 mg/kg'lık i.v. dozunun tavşanlarda kalp ritminde bir artışa neden olmaksızın; vazokonstriksiyon, kardiyak output ve oksijen tüketimini arttıracığından söz etmiştir.

Yapılan çalışmada, metilen mavisinin intraperitoneal uygulanmasıyla, araştırmacıların (7, 8, 21) belirttiği post operatif komplikasyonlar gelişmedi. Fakat % 1 konsantrasyondaki 2.5 ml'lik metilen mavisinin adezyon oluşumunu yeterli oranda (% 46 oranında başarı sağladığı) önleyemediği görüldü. Bu nedenle metilen mavisinin adezyon oluşumlarının önlenmesi üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlardaki uygulamalarının araştırılması gerektiği kanısına varıldı.

Sonuç olarak; yapılan çalışmada aprotininin metilen mavisine göre intraabdominal adezyonları önlemede daha etkili olduğu kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Gül A, Kotan Ç, Şahin G, Timurkan H, Eryavuz Y. The effectiveness of intraperitoneal usage of hydroxyprogesterone caproate in prevention of postoperative adhesion: an experimental study. Eastern Journal of Medicine 1999; 4: 85-87.
2. Karabulut E. İntraabdominal adezyonlar. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2001; 15: 417-422.
3. Kotan Ç, Gül A, Şahin G, Timurkan H, Çelebi H. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan intraabdominal adezyonların önlenmesinde polietilen glikolün etkinliğinin araştırılması. Türk Fertilite Dergisi 1999; 3-4: 187-192.
4. Metler L, Audebert A, Lehman-Willenbrock E, Schive K, Jacobs R. Prospective clinical trial of spray gel as a barrier to adhesion formation: an interim analysis. J Am Assoc Gynecol Laparosc 2003; 10: 338-344.
5. Pestieau SR, Marchettini P, Stuart OA, Char D, Sugarbaker PH. Prevention of intraperitoneal adhesions by intraperitoneal lavage and intraperitoneal 5-Fluorouracil: experimental studies. Int Surg 2002; 87: 194-200.
6. Duran HE, Kuşçu E, Zeyneloğlu HB, et al. LipiodolTM versus methylene blue for prevention of postsurgical adhesion in a rat model. European Journal Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2002; 102: 80-82.
7. Prien SD, Dunn C, Messer RH. Adhesion-promoting properties of dyes routinely used during fertility surgeries. J Assist Reprod Genet 1995; 12: 136-140.
8. Gül A, Kotan Ç, Dilek İ, et al. Effects of methylene blue, indigo carmine solution and autologous erythrocyte suspension on formation of adhesions after injection into rats. Journal of Reproduction and Fertility 2000; 120: 225-229.
9. Koç Y, Alkan F, Erol M. Tavşanlarda postoperatif intraabdominal adezyonların önlenmesinde sodyum karboksimetilsellülozün etkilerinin deneysel olarak

- incelenmesi. *Revue De Medecine Veterinaire* 2002; 153: 803-807
10. Koç Y, Alkan F, Uyaroğlu A. Tavşanlarda intraabdominal adezyonların önlenmesinde sodyum karboksimetilsellülozün kullanımı. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27: 965-970.
 11. Dai ND, Hung NC, Tam TH. Prevention of peritoneal adhesions by trasylol, a proteinase inhibitor. *Asian J Med* 1972; 8: 278-280.
 12. Mooney R. Prevention of peritoneal adhesions with aprotinin (Trasylol). *J Int Med Res* 1976; 4: 360-363.
 13. Özoğul Y, Baykal A, Renda N. An experimental study of the effect of aprotinin on intestinal adhesion formation. *Am J Surg* 1998; 75: 137-141.
 14. Young HL, Wheeler MH, Morse D. The effect of intravenous aprotinin (Trasylol) on intraperitoneal adhesion formation in the rat. *Br J Surg* 1981; 68: 59-60.
 15. Galili Y, Abraham RB, Rabau M, Klausner J, Kluger Y. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by methylene blue. *Am J Surg* 1998; 175: 30-32.
 16. Kelner MJ, Bagnell R, Hale B, Alexander NM. Methylene blue competes with paraquat for reduction by flavo-enzymes resulting in decreased superoxide production in the presence of home potiens. *Arch Biochem Biophys* 1988; 262: 422-426.
 17. Kluger Y, Veinbroum A, Avraham RB, et al. Reduction in formation of peritoneal adhesions by methylene in rats: a dose response study. *Eur J Surg* 2000; 166: 568-571.
 18. Salaris SC, Babbs CF, Voorhes WD. Methylene blue as an inhibitor of superoxide generation by xanthine oxidase. A potential new drug for the attenuation of ischemia/reperfusion injury. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 499-506.
 19. Perovic S, Maksimovic LJ, Djaja M, et al. Prophylaxis of adhesions with Trasylol in cases of perforated appendicitis in children. *J Int Med Res* 1978; 6: 89-93.
 20. Raftery AT. Noxythiolin (Noxyflex), aprotinin (Trasylol) and peritoneal adhesion formation: an experimental study in the rat. *Br J Surg* 1979; 66: 654-656.
 21. Matsuoka I, Sakurai K, Ono T, Nakanishi H. Involvement of endogeneous noradrenaline release in methylene blue-induced contraction of isolated rabbit aorta. *Jpn J Pharmacol* 1987; 44: 23-33.