

Ameliyat sonrası gelişen karın içi yapışıklıkların önlenmesinde metilen mavisinin etkinliğinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi: Deneysel bir çalışma

The efficiency of methylene blue against postoperative adhesions: An experimental study

Erkan Hazar*, Metin Şen, Sedat Çiftel, Ersin Tuncer

Genel Cerrahi Kliniği (Dr. E. Hazar), İç Hastalıkları Kliniği (Dr. S. Çiftel), Sivas Numune Hastanesi, TR-58040 Sivas, Genel Cerrahi Anabilim Dalı (Prof. Dr. M. Şen), Patoloji Anabilim Dalı (Yrd. Doç. Dr. E. Tuncer), Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-58140 Sivas

Özet

Amaç. İntestinal tıkanıklıkların önemli bir nedeni ameliyat sonrası yapışıklıklardır. Bu çalışmanın amacı, metilen mavisinin ameliyat sonrası yapışıklıkları önleyici etkilerini araştırmaktır. **Yöntem.** Matür 40 adet sıçan kullanılıp, ameliyat öncesi sıçanlar rastgele olarak her biri 10 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı. I. Gruba çekum ön duvarında 0,5 cm'lik alan 15 no lu bistüri ile travmatize edilerek, II. Gruba çekum ön duvarda 1 cm'lik alana bistüri ile tam kat kesildi ve kapatıldı. Bu iki gruba karın içerisine 2 mL SF konuldu. III. Gruba çekum ön duvarında 0,5 cm'lik alan 15 no'lu bistüri ile travmatize edilerek, IV. Gruba çekum ön duvarda 1 cm'lik alana bistüri ile tam kat kesildi ve kapatıldı. Bu iki gruba da karın içerisine %1'lik metilen mavisinden 2 mL konuldu. Ameliyat sonrası 14. günde çekumdan histopatolojik inceleme için biyopsi alınarak fibrozis, neovaskülarizasyon, ve inflamasyon dereceleri incelendi. **Bulgular.** Fibrozis bakımından; 2 ve 4. Gruplar tamamen pozitif (+), 1. Grubun %80'i negatif (-) olarak değerlendirildi. İnflamatuar cevap için hastaların %25'i negatif (-), %75'i pozitif (+)'tir. 2. Grup için tamamı %100'ü pozitif (+)'tir. Neovaskülarizasyon bakımından, tüm hastaların %35'i negatif (-) %65'i pozitif (+)'tir. Her gruptan en az bir hasta negatifken en çok 1. Grupta %70 negatif (-) hasta vardır. Mezotel hücre proliferasyonu bakımından, hastaların %27.5'i negatif,%62.5'i pozitif(+)tir. Grup 1'de negatiflik(-) oranı %80, grup3'te pozitiflik oranı %90, grup 4 için deneklerin tamamı pozitifdir. **Sonuç.** Metilen mavisinin fibrozisi, neovaskülarizasyonu ve inflamasyonu azaltmadığı, mezotel hücre proliferasyonunu azalttığı görüldü. Bu bulgular, metilen mavisinin mezotel hücre proliferasyonunu azaltarak ameliyat sonrası yapışıklıkları önleyebileceğini desteklemektedir"

Anahtar sözcükler: Ameliyat sonrası gelişen yapışıklıklar, metilen mavisi

Abstract

Aim. Post-operative adhesions are a major cause of intestinal obstructions. The aim of this study is to investigate the effects of methylene blue on preventing post-operative adhesions. **Methods.** Forty mature rats were used. They were randomly divided into four groups of 10 rats. In group I, 0.5 cm area at the front side of the caecum was traumatized using a No: 15 lancet, in group II the front side of the caecum was cut through for 1 cm by lancet and closed. In both groups 2 ml of saline was added into the abdomen. In group III 0.5cm area at the front side of the caecum was traumatized using a No: 15 lancet, in group IV the front side of the caecum was cut through for 1 cm by lancet and closed. In both groups 2 mL of 1% methylene blue was added into the abdomen. On the postoperative 14th day biopsy was taken for histopathological examination; at which degrees of fibrosis, neovascularization and inflammation were evaluated. **Results.** By means of fibrosis; the second and fourth groups found to be completely positive while eighty percent of the first group was negative. By means of inflammatory response, twenty-five of the patients were negative while seventy-five percent of them were positive. All of the patients in the second group were positive. By means of neovascularization; thirty-five percent of all patients were negative while sixty-five of them were positive. While at least one patient from each group was negative; seventy percent of the patients in the first group being the largest number of patients when

compared with the other groups were negative. By means of mesothelial cell proliferation; 27.5 percent of the patients was negative while 62.5 percent of the patients was positive. The negativity ratio of group 1 was 80%, while it was 90% for group 3 and it was positive for all of the patients in group 4. **Conclusion.** We found that methylene blue does not decrease fibrosis, neovascularization and inflammation but it was found to decrease mesothelial cell proliferation. These findings suggest that methylene blue can decrease post-operative adhesions by decreasing mesothelial cell proliferation.

Keywords: Post-operative adhesions, methylene blue

Geliş tarihi/Received: 08 Temmuz 2013; **Kabul tarihi/Accepted:** 13 Ağustos 2013

***İletişim adresi:**

Dr. Erkan Hazar, Genel Cerrahi Kliniği, Sivas Numune Hastanesi, TR-58040 Sivas. E-posta: er.hazar@hotmail.com

Giriş

Ameliyat sonrası oluşan yapışıklıklar cerrahide çözülmesi gereken önemli bir problemdir. Intestinal tıkanıklıkların ana nedeni (%80-%90) ameliyat sonrası yapışıklıklardır [1]. Pelvik bir cerrahi girişim sonrası oluşan yapışıklıklar ise kronik pelvik ağrı, infertilite gibi ciddi sorunlara neden olmaktadır [1]. Ameliyat sonrası dönemde oluşan bu yapışıklıklar daha sonraki abdominal ve pelvik ameliyatların mortalité ve morbilite oranlarını da ciddi oranda artırmaktadır [2].

Yapışıklıklar; doku travması, iskemi, infeksiyon, kanama ya da peritoneal yüzeydeki yabancı cisimlere karşı oluşan inflamatuvar cevabın sonucunda gelişir. Ameliyat sonrası yapışıklıkları önlemek için birçok madde, klinik ve deneysel çalışmalarda kullanılmıştır [3]. Bunların arasında sadece yapışıklık önleyici bariyerler günümüzde klinikte kullanım alanı bulabilmiştir [4-7]. Yapışıklık önleyici bariyerlere ek olarak; inflamasyon ve koagülasyon yolları üzerinden etkili olan birçok madde peritoneal yaralanma sonrası oluşan yapışıklıkları önlemek amacı ile araştırılmıştır. Glukokortikoidler, non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), prokoagulan solüsyonlar, heparin ve fibrinolitik ajanlar (doku plazminojen aktivatörü) bu amaçla kullanılan maddelerdir [4-7].

Metilen mavisinin oksijen radikallerinin üretimini engelleyerek ameliyat sonrası yapışıklık gelişiminin azaltılmasında kullanılabileceği bildirilmiştir [8]. Metilen mavisinin tetrametilitionin klorid yapısında, koyu yeşil kristal şeklinde olup su ve alkolde çözüldüğünde koyu mavi renk alır. İlk zamanlar üriner antiseptik olarak kullanılmıştır. [8].

Bu çalışmanın amacı, çekal abrazyon ve çekal delinme yapılan sıçanlarda ameliyat sonrası gelişen yapışıklıkların önlenmesinde metilen mavisinin etkinliğini histopatolojik olarak incelenmesidir.

Gereç ve yöntem

Bu çalışma; Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında, Hayvan Etik Kurulunun 04/11/2004 tarih ve 50/146 sayılı izni alınarak yapıldı.

Deneysel hayvanları: Bu çalışmada Wistar-Albino tipi 200-230 g ağırlığında matür 40 adet sıçan kullanıldı. Sıçanların bakımları Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı koşullarına uygun olarak yapıldı. Deneysel süresince sıçanlar 21-23 C oda ısısında ve kafeslerde tutularak, standart yem ve şehir suyu ile beslendi.

Yapışıklıkların oluşturulması ve ilaçların uygulanması: Ameliyat öncesi sıçanlar rastgele olarak her biri 10 sıçandan oluşan 4 gruba ayrıldı. Sıçanlar deney öncesi 12 saat süre ile aç bırakıldı. Sıçanlara intramusküler (İM) olarak 3 mg/kg Xylazine Hydrochloride

(Rompun, Bayer, İstanbul) ve 90 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul) ile anestezi uygulandı. Karın derisi tıraş edilip ve %10 povidon-iyot solüsyonu ile saha temizliğini takiben steril örtüm yapıldı. Deneyler sırasında cerrahi sterilite protokollerine uyularak, karın 2 cm standart orta hat kesisi ile açılarak karın içine girildi.

- I. Grupta karın açıldıktan sonra çekum açığa çıkarılıp çekum ön duvarında 0,5 cm lik alan 15 no'lu bistüri ile travmatize edilerek, 2 mL SF konuldu.
- II. Grupta karın açıldıktan sonra çekum açığa çıkarılıp çekum ön duvarda 1 cm'lik alana bistüri ile tam kat kesildi ve 4/0 prolene sutür materyali ile tek tek tamir edilerek 2 mL SF konuldu.
- III. Grupta karın açıldıktan sonra çekum açığa çıkarılıp çekum ön duvarında 0,5 cm lik alan 15 no'lu bistüri ile travmatize edilerek, karın kapatılmadan önce karın içerisine %1'lik metilen mavisinden 2 mL konuldu.
- IV. Grupta karın açıldıktan sonra çekum açığa çıkarılıp çekum ön duvarda 1 cm'lik alana bistüri ile tam kat kesildi ve 4/0 prolene sutür materyali ile tek tek tamir edilerek, karın kapatılmadan önce karın içerisine %1'lik metilen mavisinden 2 mL konuldu.
- V. Tüm gruplarda abdominal insizyon tek tabaka halinde 3/0 nonabsorbable suture ile devamlı olarak kapatıldı, toplam ameliyat zamanı 10 dk'dan daha az bir sürede tamamlandı. Sıçanlara ameliyat sonrası dönemde analjezik olarak İM. Meperidin 1,25 mg/kg, 2x1 dozunda 2 gün verildi.

Kullanılan ilaçlar: Metilen mavisi verilen gruplardaki bütün sıçanlara intraperitoneal verilen miktarın 2 mL olmasına dikkat edildi. Deneylerde kullanılan SF (Serum Fizyolojik), Eczacıbaşı firmasından (İstanbul), metilen mavisi sigma Chemical firmasından (St Louis, Missouri, USA) temin edildi, %1'lik metilen mavisi solüsyonu 100 cc SF içerisine 1 g metilen mavisi konularak hazırlandı.

Ameliyat sonrası izlem ve yapışıklıkların değerlendirilmesi: Sıçanlar 14 gün iyileşmeye bırakıldı, sıçanlar ameliyat sonrası 14. gün servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Daha önceki orta hat abdominal insizyon yerleri kontrol edildi ve önceki laparotomi insizyonundan tekrar insizyon yapılarak karına girilerek periton boşluğu ve çekum değerlendirildi. Yapışıklıkların histopatolojik skorlaması için suture veya abrazyon hattının proksimal ve distalini içerecek şekilde çekum parçası biyopsi şeklinde alındı. Biyopsi ile elde edilen doku %10'luk formaldehit çözeltisi içerisine konuldu. Alman doku 24 saat fikse edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Daha sonra bu parafin bloklardan 0,4 mikron kalınlığında kesitler hazırlanarak Hemotoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyanarak histopatolojik incelemeye alındı. Histopatolojik incelemede doku örnekleri ışık mikroskopunda fibrozis, inflamatuvar cevap, neovaskülarizasyon ve mezotelyal proliferasyon olmak üzere dört ayrı kriter bakımından semikantitatif olarak;

- (*) yok,
- 1 (+) az düzeyde,
- 2(++) orta düzeyde,
- 3 (+++) çok düzeyde,

olacak şekilde değerlendirildi.

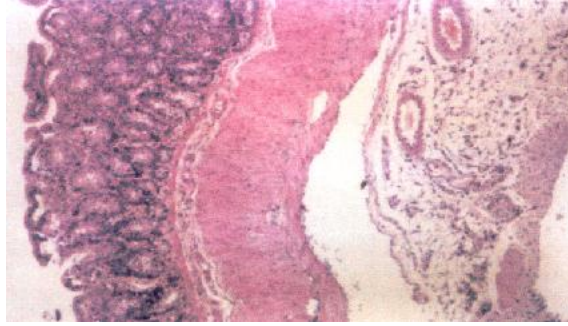
İstatistiksel analiz

İki yüzde (%) arasındaki farkın önemlilik testi uygulanmış olup; veriler, tablolarda denek sayısı ve yüzde (%) olarak belirtilip, yanılma düzeyi p=0,05 olarak alınmıştır.

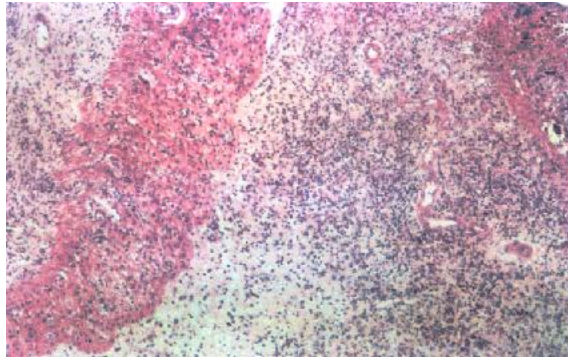
Bulgular

Çalışma; denek sayısı 10 olan, 4 grupta toplam 40 adet sıçanla tamamlandı. Dört ayrı çalışma grubuna ait çekum biyopsileri fibrozis, inflamatuvar yanıt, neovaskülarizasyon ve mezotelyal hücre proliferasyonu yönünden ışık mikroskopunda H&E boyası ile

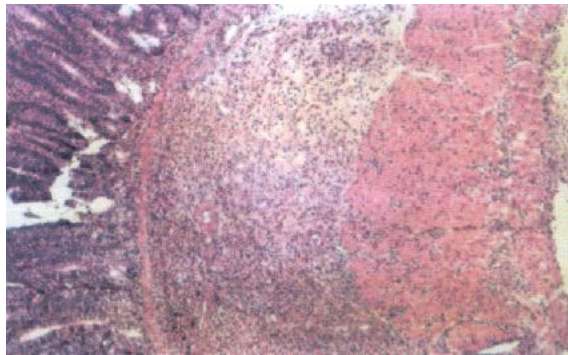
semikantitatif skorlama ile değerlendirildi. Her bir grupta saptanan histopatolojik özelliklere ait resimler bulgular bölümünün sonunda gösterilmiştir (Resim 1, 2, 3, 4). Fibrozis yokluğu (-) yönünden grup 1'de 10 sıçandan 8'inde (%80), grup 3'te 10 sıçanın 4'ünde (%40), grup 2 ve grup 4'te hiçbir sıçanda fibrozis için yokluk (-) görülmedi (%0). Fibrozis yokluğu (-) yönünden gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında; grup 1 ve 2, grup 1 ve 4. , grup 2 ve 3, grup 3 ve 4 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunurken, grup 1 ve grup 3 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur.



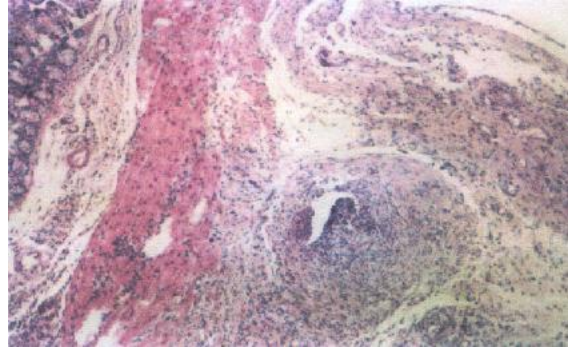
Resim 1. Çekal abrazyon ve SF uygulaması yapılan sıçan çekum duvarında serozal alanda hafif inflamasyon, neovaskülarizasyon ve mezotel hücre proliferasyonu (H-E x 10).



Resim 2. Çekal delinme ve SF uygulaması yapılan sıçan çekum duvarında yaygın transmural mikst selüler inflamasyon, neovaskülarizasyon ve fibrozis (H-E x 10).



Resim 3. Çekal abrazyon ve metilen mavisi uygulanan sıçan çekum duvarında yaygın mikst selüler inflamasyon, submukazada hafif neovaskülarizasyon ve fibrozis (H-E x 10).



Resim 4. Çekal delinme ve metilen mavisi uygulanan sıçan çekum duvarında özellikle serozal alanda belirgin mikst selüler inflamasyon, fibrozis ile neovaskülarizasyon alanları (H-E x 10).

Fibrozis (+)'lik yönünden gruplar incelendiğinde grup 1'de 2 olguda (%20), grup 2'de 6 olguda (%60), grup 3'te 5 olguda (%50), grup 4'te 4 olguda (%40) (+) şiddetinde fibrozis görüldü. Fibrozis (+)'lik şiddet yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 2, grup 3 ve grup 4 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Fibrozis (++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde grup 2, grup 3 ve grup 4'te 1'er olguda (-H-)'lik şiddetinde fibrozis izlenirken (bu gruplar için %10), grup 1'de (++)'lik şiddetinde fibrozis izlenmedi (%0). Buna göre (-H-)'lik fibrozis yönünden gruplar karşılaştırıldığında tüm gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Fibrozis (+++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde grup 2'de 3 olguda (%30), grup 4'te ise 5 olguda (%50) (+++)'lik yönünden fibrozis saptanırken, grup 1 ve grup 2'de (+++)'lik yönünden fibrozis izlenmedi (%0). Buna göre (+++)'lik yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 1 ve 2, grup 1 ve 4, grup 2 ve 3, grup 3 ve 4, arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunurken, grup 2'de (+-H-)'lik yönünden fibrozis istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Fibrozis (+)'lik yönünden gruplar incelendiğinde grup 1'de 2 olguda (%20), grup 2'de 6 olguda (%60), grup 3'te 5 olguda (%50), grup 4'te 4 olguda (%40) (+) şiddetinde fibrozis görüldü. Fibrozis (+)'lik şiddet yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 2, grup 3 ve grup 4 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Fibrozis (++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde grup 2, grup 3 ve grup 4'te 1'er olguda (-H-)'lik şiddetinde fibrozis izlenirken (bu gruplar için % 10), grup 1'de (++)'lik şiddetinde fibrozis izlenmedi (%0). Buna göre (-H-)'lik fibrozis yönünden gruplar karşılaştırıldığında tüm gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Fibrozis (+++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde grup 2'de 3 olguda (%30), grup 4'te ise 5 olguda (%50) (+++)'lik yönünden fibrozis saptanırken, grup 1 ve grup 2'de (+++)'lik yönünden fibrozis izlenmedi (%0). Buna göre (+++)'lik yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 1 ve 2, grup 1 ve 4, grup 2 ve 3, grup 3 ve 4, arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) bulunurken, grup 2'de (+-H-)'lik yönünden fibrozis istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0,05$) bulunmuştur. Fibrozis yönünden yapılan değerlendirme sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Fibrozis.

Fibrozis	Grup I		Grup II		Grup III		Grup IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%
(-)	8	80	--	--	4	40	--	--
(+)	2	20	6	60	5	50	4	40
(++)	--	--	1	10	1	10	1	10
(+++)	--	--	3	30	--	--	5	50

İnflamatuvar cevap yokluğu (-) yönünden gruplar incelendiğinde; grup 1'de 5 olguda (%50), grup 3'te 4 olguda (%40), grup 4'te 1 olguda (%10) inflamatuvar cevap yokluğu (-) görülürken, grup 2'de inflamatuvar cevabın yokluğuna (-) hiçbir olguda (%) rastlanılmamıştır. İnflamatuvar cevabın yokluğu (-) yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 1 ve 2, grup 2, grup 3 ve grup 4 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunurken, grup 1 ve 3, grup 1 ve 4, grup 2 ve 4, grup 3 ve 4 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) olarak bulunmuştur.

İnflamatuvar cevabın (+)'lik şiddeti yönünden gruplar incelendiğinde grup 1'de 4 olgu (%40), grup 2'de 3 olgu (%30), grup 3'te 3 olgu (%30) ve grup 4'de 3 olgu (%30), (+)'lik şiddetinde inflamatuvar cevap izlenmiştir. İnflamatuvar cevap (+)'lik şiddet yönünden gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur.

İnflamatuvar cevap (-H-)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde; grup 1'de 1 olguda (%10), grup 2'de 2 olguda (%20), grup 3'te 3 olgu (%30), grup 4'de 3 olgu (%30) görülmüş olup, inflamatuvar cevabın (++)'lik şiddet yönünden gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur.

İnflamatuvar cevap (+++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde; grup 2'de 5 olgu (%50) ve grup 4'te 2 olgu (%20) görülürken, grup 1, grup 3 (+++)'lik şiddet yönünden inflamatuvar cevap izlenmemiştir. Buna göre; grup 1 ve grup 2, grup 2 ve grup 3 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) olduğu görülmüştür. İnflamatuvar cevap yönünden yapılan değerlendirme sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İnflamatuvar cevap.

İnflamatuvar cevap	Grup I		Grup II		Grup III		Grup IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%
(-)	5	50	--	--	4	40	1	10
(+)	4	40	3	30	3	30	4	40
(++)	1	10	2	20	3	30	3	30
(+++)	--	--	5	50	--	--	2	20

Neovaskülerizasyon; grup 1'de 7 olgu (%70), grup 2'de 3 olgu (%30), grup 3'te 3 olgu (%30), grup 4'te 1 olgu (%10) görülmüdü. Neovaskülerizasyonun yokluğu (-) yönünden gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında; grup 1 ve grup 4, grup 2 ve grup 3 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur.

Neovaskülerizasyon (+)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde; grup 1'de 3 olgu (%30), grup 2'de 2 olgu (% 20), grup 3'te 4 olgu (%40) ve grup 4'de 4 olgu (% 40) görülmüş olup, buna gruplar arası karşılaştırma yapıldığında grup3 ile grup4 arası farklılıklar anlamlı ($p<0,05$), diğer gruplar arası farklılıklar anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur.

Neovaskülerizasyon (++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde; grup 2'de 1 olgu (%10), grup 3'te 3 olgu (%30) ve grup 4'te 1 olgu (%10) izlenirken, (-H-)'lik şiddette neovaskülerizasyon görülmemiştir (%0). Buna göre; gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur.

Neovaskülerizasyon (+++)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde; grup 2'de 4 olgu (% 40) ve grup 4'de 4 olgu (%40) izlenirken, grup 1'de (+++)'lik şiddet yönünden neovaskülerizasyon görülmemiştir (%0). Neovaskülerizasyon (+++)'lik şiddet yönünden karşılaştırıldığında; grup 2 ve grup 1, grup 2 ve grup 4, grup 3 ve grup 1, grup 3 ve grup 4, arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklar anlamsız ($p>0,05$) bulunmuştur. Neovaskülerizasyon yönünden yapılan değerlendirme sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Neovaskülarizasyon.

Neovaskülarizasyon	Grup I		Grup II		Grup III		Grup IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%
(-)	3	70	3	30	3	30	1	10
(+)	7	30	2	20	4	40	4	40
(++)	--	--	1	10	3	30	1	10
(+++)	--	--	4	40	--	--	4	40

Mezotelyal hücre proliferasyonu bakımından gruplar değerlendirildiğinde proliferasyonun görülmediği olgu sayıları grup 1'de 8 olgu (%80), grup 2'de 2 olgu (%20), grup 3'te 1 olgu (%10), grup 4'te 0 olgu (%0) olarak bulunmuştur. Mezotelyal proliferasyon yokluğu (-) yönünden gruplar arasında karşılaştırıldığında; grup 1 ve grup 1 ve grup 3, grup 1 ve grup 4, arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki fark anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur.

Mezotelyal hücre proliferasyonu (+)'lik şiddet yönünden gruplar incelendiğinde; grup 1'de 2 olgu (%20), grup 2'de 4 olgu (%40), grup 3'de 5 olgu (%50), grup 4'te 7 olgu (%70) izlenmiştir. Mezotelyal hücre proliferasyonu (+)'lik şiddet yönünden gruplar karşılaştırıldığında; grup 1 ve grup 3, grup 1 ve grup 4 arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklar anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur.

Mezotelyal hücre proliferasyonu (++)'lik şiddet yönünden gruplar karşılaştırıldığında; grup 2'de 4 olgu (%40) ve grup 4'te 2 olguya (%20) rastlanırken, diğer gruplarda rastlanılmamıştır (%0). Mezotelyal hücre proliferasyonu (-H-)'lik şiddet yönünden gruplar karşılaştırıldığında grup 1 ve grup 2, grup 2 ve grup 3 arasındaki farklar anlamlı ($p<0.05$) bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur.

Mezotelyal hücre proliferasyonu (+++)'lik şiddetinde yalnızca grup 4'te 1 olgu (%10) saptanmış olup, diğer gruplarda görülmemiştir (%0). Mezotelyal hücre proliferasyonu (+++)'lik şiddet yönünden karşılaştırıldığında bütün gruplar arasındaki farklar anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur.

Mezotel hücre proliferasyonu yönünden yapılan değerlendirme sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Mezotel hücre proliferasyonu.

Mezotel hücre proliferasyonu	Grup I		Grup II		Grup III		Grup IV	
	n	%	n	%	n	%	n	%
(-)	8	80	2	20	1	19	--	--
(+)	2	20	4	40	9	90	7	70
(++)	--	--	4	40	--	--	2	20
(+++)	--	--	--	--	--	--	1	10

Tartışma

Karın ameliyatlarından sonra oluşan peritoneal yapışıklıklar tüm çabalara rağmen halen sorun olarak devam etmektedir. Yapışıklıklar ameliyat sonrası dönemde hastanın morbiditesini artıran önemli bir sorundur [9]. Cerrahi prensiplere titizlikle uyulması, ameliyat sonrası yapışıklıkları önlemek için en önemli kuraldır. Ameliyat sırasında doku manüplasyonunu en aza indirmek, çok iyi hemostaz sağlamak, reaksiyonu az sütür materyali kullanmak ve yabancı cisimlerden korunmak, ameliyat sonrası yapışıklık oluşumunu önemli derecede azaltmaktadır. Bunların yanısıra serozal yüzeylerin kurumaması ve karın içi serbest kan tek başlarına nadiren yapışıklık oluşumuna sebep olsalar dahi bu konulara da özen göstermek gereklidir [10, 11].

Peritoneal iyileşme ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda yapışıklık gelişiminin mekanizması daha iyi anlaşılır hale gelmiştir. Bir kısım cerrahlar peritonun kendine has tamir yeteneğinden faydalanarak, karın ameliyatlarından sonra peritonda oluşan kesi ve defektleri kapatmadan olduğu gibi bırakmayı denemişler ve olumlu sonuçlar almışlar, bu tip bir uygulamayla yapışıklık ve dolayısı ile intestinal tıkanıklık olasılığının çok azaldığını bildirmişlerdir [12-16].

İntraperitoneal yapışıklık gelişimini önlemek için çeşitli kimyasal maddelerle ilgili bir çok deneysel hayvan çalışması yapılmıştır. Metilen mavisi ameliyat sonrası yapışıklık gelişiminin önlenmesinde çalışılmış maddelerden bir tanesidir. Metilen mavisinin yapışıklık gelişimini önleyici etkisinin süperoksit radikallerinin oluşumunu engellemesiyle olduğu düşünülmektedir [8, 17]. Kluger ve ark. [8] ameliyat sonrası yapışıklıkları etkili düzeyde engelleyebilen, intraperitoneal uygulanan metilen mavisinin minimum dozunu bulmak için yaptıkları çalışmada, en etkili metilen mavisi konsantrasyonlarının %1 lik olduğunu buldular. Onlar bu çalışmalarında ameliyat sonrası yapışıklıkların önlenmesinde daha düşük metilen mavisi konsantrasyonlarının daha az etkili olduğunu ve daha yüksek konsantrasyonların ise istenmeyen etkilere neden olabileceğini belirttiler [8]. Bu nedenle bizde yaptığımız deneysel çalışmada metilen mavisini %1'lik konsantrasyonda kullandık. Yapılan son çalışmalar metilen mavisinin serbest oksijen radikal gelişiminin önlenmesinde oldukça etkili olduğunu göstermiştir [18, 19]. Doku iskemisi sırasında ksantin dehidrogenaz enzimi, ksantin oksidaza çevrilir [20]. Bu esnada dokuda hipoksantin birikimi olur. İskemik dokuların reperfüzyonu ile ksantin oksidaz, hipoksantini katalize eder ve elektronlarını moleküler oksijene transfer ederek oksijeni süperoksit anyonu ve hidrojen perokside indirger [21].

Yara iyileşmesinde gerçekleşen olaylar sırası ile akut iltihabi cevabın uyarılması, parankim hücre rejenerasyonu, parankim ve bağ dokusu hücrelerinin migrasyon ve proliferasyonu, ekstraselüler matris proteinlerinin sentezi, doku fonksiyonunu yeniden sağlamak için parankim elemanlarının taslak oluşumu ve bağ dokusu taslakta yara direncinin kazanılması şeklindedir [22]. İlk basamak olan inflamasyon gelişimidir. En şiddetli inflamasyon serum fizyolojik kullanılan kesi grubunda gerçekleşti. Bu grup ile abrazyon grupları arasındaki farklılıkların anlamlı bulunması doku hasarının daha büyük olduğu düşünüldüğünde anlamlıdır. Ancak serum fizyolojik kullanılan kesi grubu ile metilen mavisi kullanılan kesi grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı, (+) ve (++) şiddetindeki inflamasyonlarda çalışma grupları arasında anlamlı farklılıklar olmadığı göz önüne alındığında metilen mavisinin literatürdeki inflamasyon şiddetini azaltarak yapışıklık önleyici etkisinin çalışmamızla uyumlu olmadığı sonucuna varıldı [8, 17]. Bunun nedeninin literatürde belirtildiği gibi enfeksiyonun ameliyat sonrası yapışıklıkları artırıcı etkisi göz önüne alınarak cerrahi işlemler sırasında olası bir kontaminasyonun gerçekleşmiş olabileceği düşünüldü. [10, 23].

Yapışıklık oluşumunun aşamaları Milligan [24] tarafından yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Yapışıklık oluşumunda kollajen sentezi 3. günde başlamakta 5-7. günlerde önemli boyutlara gelmekte ve 14. günde en üst düzeye çıkmaktadır. Daha sonra giderek azalmaktadır. Nishimura [25] yaptığı çalışmalarda 5-7. günlerde kollajen sentezinin önemli düzeylere çıktığını ve yapışıklık şiddeti ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle çalışmamızda kollajen sentezinin en üst düzeyde olduğu 14. günde yapışıklık skorlarının değerlendirilmesi yapılmıştır.

Çalışmada grupları arasında fibrozis yönünden değerlendirme yapıldığında abrazyon grubunda fibrozisin anlamlı derecede az olduğu görüldü. Cerrahi kesinin olmadığı bu grubunda primer yara iyileşmesinin bulunmaması nedeniyle fibrozis gelişiminin olmaması anlamlıdır. Ancak abrazyonun neden olduğu serozal alandaki hafif doku hasarı nedeniyle bu gruplarında özellikle (+) şiddetindeki fibrozis varlığı da hafif şiddette bir iyileşmeyi göstermesi bakımından anlamlı olabilir. Fibrozisin şiddetli olduğu (+++)’lik olgulara ise yalnızca cerrahi kesilerde rastlanması ve bu grupların diğer gruplarla farklılık göstermesi de kesilere bağlı primer yara iyileşmesi prensipleri bakımından anlamlıdır.

Fibrozisin gruplar arası farklılıkları metilen mavisi kullanımı yönünden incelendiğinde özellikle Fibrozis negatifliği bakımından metilen mavisi kullanılan grupların yüzdesi serum fizyolojik kullanılan gruplara göre anlamlı derecede az iken (+) ve (+++)’lik fibrozis, metilen mavisi kullanılan gruplarda anlamlı fazlalık gösterdi. Bu durum metilen mavisi kullanılan gruplarda literatürde çevre dokulara yapışıklığın az olması bulguları ile çelişkili görünmektedir. Literatürde ameliyat sonrası yapışıklıkların enfeksiyon nedeni ile oluştuğu öne sürüldüğü göz önüne alındığında [10, 23]. histopatolojik incelemede inflamasyonun tüm gruplarda fazla olması nedeniyle kontaminasyona bağlı olası yaygın bir enfeksiyonun bu sonucu yaratmış olabileceği düşünülebilir.

Normal peritondaki fibrinolitik aktivite mezotelyal ve submezotelyal kan damarlarında lokalize plazminojen aktivatör aktivitesinin süresi değişir. Serozal iyileşme, hasarlı alanın kenarlarından değil, tabanından köken alan mezotelial hücrelerce başarıldığı için hasarın büyüklüğü onarım için bir kriter değildir. Yapılan çalışmalarda peritonsuz bırakılan alanların daha sonra epitelize oldukları ve bu alanlarda yapışıklık olmadığını göstermiştir [10].

Çalışmada çekumda yara iyileşmesinin bir komponenti olan serozal yüzeyin peritoneal kısmında yer alan mezotel hücre proliferasyonu incelendiğinde mezotel hücre proliferasyonunun özellikle Serum fizyolojik kullanılan abrazyon grubunda mezotel hücre proliferasyonunun anlamlı derecede az olduğu görüldü. (+) ve (++) mezotel hücre proliferasyonu bakımından cerrahi kesi yapılan ve metilen mavisi kullanılan gruplarda mezotel hücre proliferasyonunun anlamlı fazlalık gösterdiği dikkati çekti. Metilen mavisinin kullanıldığı gruplarda mezotel hücre proliferasyonunun fazla görülmesi, epitelizasyonun olduğu dokularda yapışıklığın daha az olduğu yönündeki literatür bilgileri de göz önüne alındığında metilen mavisinin mezotel hücre proliferasyonu üzerinde bir etkisi olabileceğini düşündürülebilir.

Anjiogenezis zedelenme alanında iyileşmenin kritik olayıdır. [26] Ameliyat sonrası yapışıklıkların peritonda iskemik alanda daha sık oluştuğu öne sürülmektedir [10, 23]. Cerrahi sonrası devaskularize olan alanlar hipoksiktir ve plazminojen aktivatör aktivitesi az olduğundan fibrin yıkımı azalır ve bu alanlarda yapışıklık gelişir. En sık yapışıklık oluşan yerler devaskularize alanlardır. Bu alanlara sistemik verilen maddelerin ulaşması zor olduğundan yapışıklık gelişimi ancak lokal ilaçların kullanımı ile engellenebilir.

Çalışmada serum fizyolojik kullanılan abrazyon grubunda neovaskularizasyonun anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır. Literatür bilgileri göz önüne alındığında bu grubun yapışıklık için riskli grup olduğu düşünülebilir. (+) şiddetindeki neovaskularizasyon bakımından kesi ve abrazyon grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. (++) şiddetindeki neovaskularizasyon ise metilen mavisi kullanılan abrazyon grubu ile serum fizyolojik kullanılan kesi gruplarında diğer gruplara göre anlamlı fazlalık gösterdi. Özellikle metilen mavisi kullanılan kesi grubunda (++) şiddetindeki neovaskularizasyonun düşük bulunması literatür bilgilerine göre metilen mavisinin yapışıklıku azaltmadaki etkisi ile uyumlu bulunmadı. Bu sonuçlara göre metilen mavisi kullanımı orta şiddette bir neovaskularizasyon oluşumu ile ilişkilidir ve bu durumda neovaskularizasyon açısından yapışıklık oluşumunu bir avantaj oluşturmadığı düşünülebilir.

Ameliyat sonrası yapışıklıkların gelişimini önlemek veya azaltabilmek amacıyla ameliyat teknikleri geliştirmek ve çeşitli adjuvanlar uygulamak en önemli iki stratejidir. Cerrahi yöntemlere ek olarak etkili maddelerin arayışı devam etmektedir. Periton hasarını izleyen ilk bir haftalık süre, yapışıklıkların gelişiminde kritik bir dönemdir, yapışıklıkları engelleyici yöntemlerin bu süre boyunca aktif olarak yapışıklıkları oluşturan bir dizi reaksiyonu engellemesi gerekmektedir. Yapışıklıkları engellemek için kullanılan lokal maddelerin dokuda kalış süreleri yara yüzeyini kaplama yetenekleri ve vizkoziteleri önem kazanmıştır [27].

Galili ve ark. [17] yapışıklık gelişiminin önlenmesinde metilen mavisinin çok etkili olduğunu belirttiler ve onlar metilen mavisinin ameliyat sonrası yapışıklıkları engellemedeki etkisinin serbest radikal oluşumunu inhibe edebilme yeteneğine bağlı olabileceğini ileri sürdüler [22]. Saykılı ve ark. [28] yaptıkları çalışmada metilen mavisi 1 mg/kg intraperitoneal solüsyon enjekte ettikleri ratlarda anlamlı derecede yapışıklık önleyici etkisini saptamışlardır [28]. Boztosun ve ark. [29] ise metilen mavisi, pentoksifilin ve enoksaparinin rat uterin horn modelindeki postoperatif yapışıklığa etkisini araştırmışlar ve metilen mavisi ile enoksaparinin pozitif etkisinin olduğunu ancak aynı etkinin pentoksifilinde gözlenmediğini tespit etmişlerdir.

Süperoksit dismutaz ve katalaz gibi serbest radikal tutucularından farklı olarak metilen mavisi doku ve hücrelere penetre olabilir. Bu özelliği onu uygulanabilir ve etkili bir histolojik boya yapar. Metilen mavisi ameliyatlarda rutin olarak kullanılabilir, intestinal sistemde veya bir pilonidal sinüste, fistül yolunun gösterilmesinde, intraoperatif üreter lokalizasyonunun doğrulanmasında kullanılabilir. Metilen mavisi uygun dozlarda herhangi bir sistemik reaksiyon göstermez [27].

Metilen mavisinin peritoneal yapışıklık gelişimini önlemedeki etki mekanizmasını tam olarak açıklayabilmek için yeterli etkiye sahip ve güvenilir protokollerin geliştirilebilmesi amacıyla daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Ellis H, Moran BJ, Thompson JN, Parker MC, Wilson MS, Menzies D, McGuire A, Lower AM, Hawthorn RJ, O'Brien F, Buchan S, Crowe AM. Adhesion-related hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1476-80.
2. Menzies D. Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice. *Ann R Coll Surg Engl* 1993; 75: 147-53.
3. DeCherney AH, diZerega GS. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. *Surg Clin North Am* 1997; 77: 671-88.
4. diZerega GS. Use of adhesion prevention barriers in ovarian surgery, tubalplasty, ectopic pregnancy, endometriosis, adhesiolysis, and myomectomy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1996; 8: 230-7.
5. Keckstein J, Ulrich U, Sasse V, Roth A, Tuttlies F, Karageorgieva E. Reduction of postoperative adhesion formation after laparoscopic ovarian cystectomy. *Hum Reprod* 1996; 11: 579-82.
6. Haney AF, Doty E. A barrier composed of chemically cross-linked hyaluronic acid (Incert) reduces postoperative adhesion formation. *Fertil Steril* 1998; 70: 145-51.
7. Sawada T, Nishizawa H, Nishio E, Kadowaki M. Postoperative adhesion prevention with an oxidized regenerated cellulose adhesion barrier in infertile women. *J Reprod Med* 2000; 45: 387-9.
8. Kluger Y, Weinbroum A, Ben-Avraham R, Galili Y, Klausner J, Rabau M. Reduction in formation of peritoneal adhesions by methylene blue in rats: a dose response study. *Eur J Surg* 2000; 166: 568-71.
9. DiZerega GS. Contemporary adhesion prevention. *Fertil Steril* 1994; 61: 219-35.
10. Holtz G. Prevention and management of peritoneal adhesions. *Fertility Sterility* 1984; 41: 497-507.
11. Diamond MP. Reduction of adhesions after uterine myomectomy by Seprafilm membrane (HAL-F): a blinded, prospective, randomized, multicenter clinical study. *Seprafilm Adhesion Study Group. Fertil Steril* 1996; 66: 904-10.
12. Ray NF, Larsen JW Jr, Stillman RJ, Jacobs RJ. Economic impact of hospitalizations for lower abdominal adhesiolysis in the United States in 1988. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 176: 271-6.

13. Ellis H. Internal overhealing: the problem of intraperitoneal adhesions. *World J Surg* 1980; 4: 303-6.
14. Ellis H. The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Surg Gynecol Obstet* 1971; 133: 497-511.
15. Ellis H. The causes and prevention of intestinal adhesions. *Br J Surg* 1982; 69: 241-3.
16. Ellis H. Wound repair. Reaction of the peritoneum to injury. *Ann R Coll Surg Engl* 1978; 60: 219-21.
17. Galili Y, Ben-Abraham R, Rabau M, Klausner J, Kluger Y. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by methylene blue. *Am J Surg* 1998; 175: 30-2.
18. 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 heme proteins. *Arch Biochem Biophys* 1988; 262: 422-6.
19. Kelner MJ, Bagnell R, Hale B, Alexander NM. Potential of methylene blue to block oxygen radical generation in reperfusion injury. *Basic Life Sci* 1988; 49:895-8.
20. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol* 1988; 254: G768-774.
21. Salaris SC, Babbs CF, Voorhees WD 3rd. 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.
22. Mitchell RN, Cotran RS. Doku onanımı: Hücre rejenerasyonu ve fibrozisi in: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, editors basis pathology. Çeviri editörü: Çevikbaş V. 7. Edisyon, 2003; 61-78.
23. Jonathon E. Rhodas: The Peritoneum Gasrtroenteroloji (Ed. Bochus) 1990; 2: 902-8.
24. Milligan DW, Raftery AT. Observations on the pathogenesis of peritoneal adhesions: a light and electron microscopical study. *Br J Surg* 1974; 61: 274-80.
25. Nishimura K, Nakamura RM, diZerega GS. Biochemical evaluation of postsurgical wound repair: prevention of intraperitoneal adhesion formation with ibuprofen. *J Surg Res* 1983; 34: 219-26.
26. Mitchell RN, Cotran RS, Doku onarımı: Hücre rejenerasyonu ve fibrozisi in: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. editors basis pathology\ . Çeviri editörü: Çevikbaş V. 7. Edisyon, 2003; 61-78.
27. Şen M, Bal F, Ceran T. Ameliyat sonrası oluşan karın içi yapışıklıkların önlenmesinde hyaluronik asitin etkisi. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 1998; 20: 175-8.
28. Saykılı S, Şen M, Ameliyat sonrası karın içi yapışıklıkların önlenmesinde klorheksidin glukonat, lornoksikam, seprafilm ve metilen mavisinin etkinliklerinin karşılaştırılması. *C.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Çalışma*; 2008.
29. Boztosun A, Piçnak A, Koşar MI, Gültürk S, Çetin A. Effects of methylene blue, pentoxyphylline and enoxaparin on postoperative adhesion formation and markers of angiogenesis in a rat uterine horn model. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2012; 39: 89-95.