

**1993**  
**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

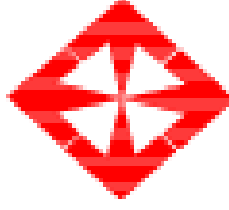
**Genel Cerrahi Anabilim Dalı**  
**Genel Cerrahi Bilim Dalı**

**POSTOPERATİF PERİTONEAL ADEZYONLARI ÖNLEMEDE**  
**İNTRAPERİTONEAL PROPOLİS TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Birkan Birben**

**Ankara, 2014**



1993  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

Genel Cerrahi Anabilim Dalı  
Genel Cerrahi Bilim Dalı

**POSTOPERATİF PERİTONEAL ADEZYONLARI ÖNLEMEDE  
İNTRAPERİTONEAL PROPOLİS TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Birkan Birben**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Feza Karakayalı**

**Tez Danışman Yrd: Öğr. Gör. Dr. Tugan Tezcaner**

**Ankara, 2014**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan ve cerrahi etik kural ve ilkelerini benimsememizi sağlayan Genel Cerrahi Anabilim dalı başkanı sayın Prof. Dr. Gökhan MORAY başta olmak üzere tüm genel cerrahi ekibine ve hepimizin hocası olan sayın Prof. Dr. Mehmet HABERAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda büyük emeği olan ve aynı zamanda fikir babası olan Öğr. Dr. Tugan TEZCANER'e ve tez danışmanım sayın Doç. Dr. Feza KARAKAYALI'ya hem çalışmamdaki katkıları hem de mevcut uzmanlık eğitimim süresince bana kazandırdıkları bilgi ve tecrübeleri ve de yol göstericilikleri için ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Beş yıllık eğitimim boyunca beraber yürüdüğümüz, hayatın ve cerrahinin zorluğunu ve güzelliğini beraber görüp beraber sinirlendiğimiz ve güldüğümüz yeri geldi tüm sırlarımızı paylaştığımız yüreği temiz tüm genel cerrahi asistan ekibine geçirdiğimiz ve geçireceğimiz güzel günler için teşekkürlerimi sunarım.

En son olarak beni ben yapan anneme, babama ve doktor olmamda büyük katkısı olan dayım İlhan BİRBEN'e ve asistanlık eğitim sürecimin en güzel hediyesi olan eşime hayat boyu yanımda oldukları için teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Birkan BİRBEN

## ÖZET

Karın içi yapışıklıklar; peritonun hasara karşı oluşturduğu dinamik, fibroproliferatif ve inflamatuvar bir savunma mekanizması sonucu dokular veya organlar arasında bağlantı oluşturan fibröz bantlar olarak bilinir (11). Karın içi operasyon geçiren hastalarda oluşan yapışıklık oranının %64 ile %97 arasında değiştiği, açık cerrahi girişimler sonrası bu oranın laparoskopik girişimlere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (1,2). Ameliyat sonrası yapışıklıklar, cerrahlar için tekrar ameliyat durumlarında, karın içine ulaşma süresini artırması, karın içinin eksplorasyonunu zorlaştırması ve karın içi organların yaralanma riskini arttırması nedeni ile önemli bir sorundur (4-6). Yapışıklıklar klinik olarak semptomatik hale geldiklerinde tedavi edilmeye çalışılır. Konservatif tedavi ile düzelmeyen durumlarda cerrahi gerekir (12). Bugüne kadar kullanılan ajanlardan hiçbirinin karın içi yapışıklığı önlemede kesin ve tam etkili olduğu ispatlanamamıştır (10). Propolis arıların kendilerini böcekler ve mikroorganizmalardan korumak için ürettikleri bir üründür (71). Propolisin antibakteriyel, anti-inflamatuvar, iyileşme, anestetik, çürük önleyici, antifungal, antiprotozoal ve antiviral aktiviteler gibi çeşitli terapötik etkileri vardır (72, 80). Birçok propolis ürünü veya izole bileşikleri farklı mekanizmalarla inflamasyonu inhibe etmektedir. Bununla beraber propolisin anti-inflamatuvar etkileri temel olarak uygulama şekli ve dozajına bağlıdır (89).

Bu deneysel çalışmada ciddi sorunlara yol açabilen postoperatif intraabdominal yapışıklıkları önlemede anti-inflamatuvar ve anti-oksidan etkileri olan propolis maddesinin adezyonlar üzerindeki önleyici etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Bu çalışmada 30 adet yakın yaş aralığında genç erkek Sprague-Dawley ırkı ratlar rastgele 10'arlı 3 gruba ayrıldı. Üç cm'lik median laparotomi sonrası tüm ratların çekum duvarında 1 cm<sup>2</sup> alanda spanç ile 60 kez sürtünme yaparak abrazyon oluşturuldu ve bu çekal abrazyon bölgesinin karşısındaki periton parçası eksize edildi. Bu çalışmada kullanılacak olan propolis maddesi Rize-Artvin bölgesi propolisi olarak Hacettepe Üniversitesinden temin edildi. Grup 2'ye 0,4 ml etanol (%96'lık), grup 3'e 0,4 ml propolis (900 mg/kg) ve etanol (%96'lık) intraperitoneal olarak uygulandı. Grup 1 sham grubu olarak belirlendi ve abrazyon sonrası hiçbir solüsyon verilmedi ve sonrasında karın kapatıldı. Postoperatif 21. günde ratlar sakrifiye edildi. Karın ters U şeklinde açıldı. Adezyonlar makroskopik olarak sayıldı ve Nair skorlamasına göre değerlendirildi. Abrazyon oluşturulan alandan biyokimyasal analiz ( malondialdehit (MDA), glutatyon düzeyi (GSH) ) ve histopatolojik değerlendirme için örnekler alındı. Yaklaşık olarak 5-6

ml kan örneği alınarak fibrinolitik sistemi değerlendirmek için doku plazminojen aktivatörü (TPA), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1),  $\alpha$ 2-makroglobulin,  $\alpha$ 1-antitripsin ve prostaglandin E2 (PGE2) ve lökotrien B4 (LB4) değerleri bakıldı.

Propolis grubunun makroskopik Nair (etanol-propolis,  $P>0,002$  ve sham-propolis,  $P>0,023$ ) ve mikroskopik Zühlke (etanol-propolis,  $P>0,033$  ve sham-propolis  $P>0,024$ ) skalasına göre anlamlı farklılık gösterdiği görülmüştür. Hasta grupları arasında fibrozis açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P>0,01$ ). Hasta grupları arasında vasküler proliferasyon açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P>0,01$ ). Hasta grupları arasında yabancı cisim reaksiyonu açısından anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P>0,007$ ). Biyokimya sonuçlarına göre TPA grubunda ( $P>0,029$ ),  $\alpha$ 1-antitripsin grubunda ( $P>0,023$ ), GSH grubunda ( $P>0,040$ ), alfa2-makroglobulin grubunda ( $P>0,01$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Propolis grubunda istatistiksel olarak yapışıklığın daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durumun propolisin uygulama şekline, uygulanan miktara ve çözücüsünün konsantrasyonunun yüksekliğine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Propolisin yapışıklığı artırması nedeniyle intraperitoneal uygulamada doz ayarlaması yapılması gerektiği, çözücüsünün daha düşük konsantrasyonlarda ayarlanması ve uygulanan anti-inflamatuar maddenin uzun süreli karın içinde bırakılmaması için uygulama sonrası erken dönemde çözücüsü ile peritoneal lavaj ile yıkama yapılması propolisin etkinliğini değerlendirmek için yapılacak diğer çalışmalarda göz önünde bulundurulmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Anti-inflamatuar, Anti-oksidan, Peritoneal adezyon, Propolis

## ABSTRACT

### **The Effect of Propolis Treatment to Prevent Postoperative Intra-peritoneal Adhesions**

Intra-abdominal adhesions; caused against peritoneal injury and they known as fibrous bands that are dynamic, fibroproliferative and inflammatory defense mechanisms of the tissues or organs (11). The consists of patients undergoing intra-abdominal surgery and caused with adhesion rates varied between 64% and 97%, this ratio is higher in open surgical procedures to laparoscopic sugery (1,2). Post-operative adhesions are serious problems because surgeons In cases of reoperation can have many difficulties like increasing the time to reach into the abdominal cavity, to complicate the exploration of intra-abdominal area and increase the risk of injury of the abdominal organs (4-6). Adhesions when they become clinically symptomatic treatment is attempted. Surgery is required in cases not get better with conservative treatment (12). So far, none of the agents used in the prevention of intra-abdominal adhesions has not been proven to be effective (10). Bee propolis is a product that they produce to protect themselves from insects and microorganisms (71). Propolis have various therapeutic effects such as antibacterial, anti-inflammatory, healing, anesthetic, anti-caries, antifungal, antiprotozoal and antiviral activities (72,80). Most of propolis product or isolated indicates inhibit inflammation with different mechanisms. However, the anti-inflammatory effect of propolis mainly depends on the route of administration and dosing (89).

In this experimental study, we aimed to evaluate the effect of propolis which has anti-inflammatory and anti-oxidant effects in the prevention of postoperative intra-abdominal adhesions that can result in serious problems.

In this study, totaly 30 young male Sprague-Dawley rats close in age range randomly were divided into three groups with 10 animals. After three cm median laparotomy all rat's 1 cm<sup>2</sup> area in the wall of the cecum has been created abrasion by friction of sponge per 60 times and was excised across the peritoneal part of the cecal abrasion. Propolis material that will be used in this study was obtained as propolis of Rize and Artvin region from Hacettepe University. For group 2, 0.4 mL ethanol (96%), for group 3, 0.4 mL of propolis (900 mg / kg) and ethanol (96%) was intraperitoneally applied. Group 1 was identified as Sham group was and no solution applied after abrasion and then abdomen was closed. Rats were sacrificed on day 21. Inverted U-shaped abdomen was opened. Adhesions were counted macroscopically and was evaluated by Nair scoring.

From abrasion created space samples were obtained for biochemical analysis (malondialdehyde (MDA), the level of glutathione (GSH) and histopathological evaluation. To assess the fibrinolytic system approximately 5-6 ml blood samples were taken and tissue plasminogen activator (TPA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1),  $\alpha$ 2-macroglobulin the  $\alpha$ 1-antitrypsin and prostaglandin E2 (PGE2) and leukotriene B4 (LB4) values were measured.

Propolis group was found to have significant differences according to the macroscopic Nair (ethanol-propolis,  $P > 0.002$  and sham-propolis,  $P > 0.023$ ) and microscopic Zühlke (ethanol-propolis,  $P > 0.033$  and sham-propolis,  $P > 0.024$ ) scale. In terms of fibrosis a significant difference was found in patient groups ( $P > 0.01$ ). In terms of vascular proliferation A significant difference was found in patient groups ( $P > 0.01$ ). In terms of foreign body reaction a significant difference was found in patient groups ( $P < 0.007$ ). According to Biochemistry a statistically significant difference was found in TPA group ( $P > 0.029$ ),  $\alpha$ 1-antitrypsin group ( $P > 0.023$ ), GSH group ( $P > 0.040$ ), alpha2-macroglobulin group ( $P > 0.01$ ).

In the group of propolis we found statistically significant more adhesions. This situation is thought to be related to propolis route of administration, the amount applied and concentration of the solvent. To evaluate the effectiveness of propolis should be considered in other studies dose adjustment should be done in practice, setting the lower concentrations of solvent, did the anti-inflammatory agent not be left in prolonged in abdominal area, after application in the early period with the solvent by washing the peritoneal lavage are suggested to be done for avoiding propolis due to the increase intraperitoneal adhesions.

**Keywords:** Anti-inflammatory, Anti-oxidant, Peritoneal adhesions, Propolis.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER .....	x
TABLolar.....	xii
KISALTMALAR .....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karın içi ameliyat sonrası yapışıklıklar .....	3
2.2. Peritonun mikroskopik yapısı ve fizyolojisi .....	5
2.3. Peritonun makroskopik yapısı .....	6
2.4. Peritonun iyileşmesi.....	6
2.5. Yapışıklık oluşum mekanizması.....	7
2.6. Yapışıklıkların önlenmesinde genel prensipler.....	8
2.6.1. Cerrahi teknik .....	9
2.6.2. Farmakolojik maddeler .....	9
2.6.3. Fiziksel bariyerler .....	10
2.7. Propolis hakkında genel bilgiler .....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Araştırma tipi .....	17
3.2. Deney hayvanlarının özellikleri ve deney ortamı .....	17
3.3. Anestezi .....	17
3.4. Deney modeli .....	18
3.5. Araştırma grupları.....	19
3.6. Makroskopik değerlendirme .....	19
3.7. Histopatolojik değerlendirme .....	21
3.8. Biyokimyasal parametre .....	21
3.8.1. Doku MDA ve GSH derişiminin saptanması.....	22
3.8.2. Serum parametrelerinin analizi .....	22
3.9. İstatistiksel yöntem .....	24
4. BULGULAR .....	25



4.1. Makroskopik değerlendirme .....	25
4.2. Mikroskopik değerlendirme.....	27
4.3. Biyokimyasal değerlendirme .....	34
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	48
7. KAYNAKLAR.....	49

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Yapışıklık oluşum mekanizması .....	4
Şekil 3.1. İntraperitoneal anestezi uygulama .....	17
Şekil 3.2. Povidon-iyot uygulaması.....	18
Şekil 3.3. Çekal abrazyon .....	18
Şekil 3.4. Peritonda 1 cm <sup>2</sup> 'lik eksizyon.....	18
Şekil 3. 5. Tek bant varlığı .....	20
Şekil 3.6. İki bant varlığı .....	20
Şekil 3.7. İki'den fazla bant varlığı.....	20
Şekil 3.8. Karın duvarına direkt yapışma .....	20
Şekil 4.1. Makroskopik olarak grupların grade ve sayısal karşılaştırılması.....	25
Şekil 4.2. Makroskopik yapışıklık sıra ortalama değerleri .....	26
Şekil 4.3. Mikroskopik olarak grupların grade ve sayısal karşılaştırılması.....	27
Şekil 4.4. Mikroskopik yapışıklık sıra ortalama değerleri.....	28
Şekil 4.5. Fibrozis derecelendirilmesi .....	29
Şekil 4.6. Fibrozis sıra ortalama değerleri .....	30
Şekil 4.7. İnflamasyon derecelendirilmesi .....	30
Şekil 4.8. İnflamasyon sıra ortalama değerleri .....	31
Şekil 4.9. Vasküler proliferasyon derecelendirilmesi.....	32
Şekil 4.10. Vasküler proliferasyon sıra ortalama değerleri .....	32
Şekil 4.11. Yabancı cisim reaksiyonu değerlendirilmesi.....	33
Şekil 4.12. Yabancı cisim reaksiyonu sıra ortalama değerleri .....	34
Şekil 4.13. PAI-1 sonuçları.....	35
Şekil 4.14. PAI-1 sıra ortalama değerleri .....	35
Şekil 4.15. TPA sonuçları.....	36
Şekil 4.16. TPA sıra ortalama değerleri .....	36
Şekil 4.17. Alfa1-antitripsin sonuçları.....	37
Şekil 4.18 Alfa1-antitripsin sıra ortalama değerleri .....	38
Şekil 4.19. Alfa2-makroglobulin sonuçları .....	38
Şekil 4.20. Alfa2-makroglobulin sıra ortalama değerleri .....	39
Şekil 4.21. PGE2 Sonuçları .....	40
Şekil 4.22. PGE2 sonuçları sıra ortalama değerleri.....	40
Şekil 4.23. GSH sonuçları .....	41

Şekil 4.24. GSH sıra ortalama değerleri .....	42
Şekil 4.25. MDA Sonuçları .....	42
Şekil 4.26. MDA sonuçları sıra ortalama değerleri .....	43

## TABLÖLAR

Tablo 2.1. Katı ve solüsyon bariyerler .....	10
Tablo 3.1. Nair adezyon skor skalası.....	20
Tablo 3.2. Zühlke mikroskopik adezyon skalası .....	21
Tablo 3.3. Mikroskopik değerlendirme .....	21
Tablo 4.1. Nair adezyon skor skalası ikili karşılaştırma.....	26
Tablo 4.2. Zühlke mikroskopik adezyon skalası ikili karşılaştırma .....	28

## KISALTMALAR

<b>ACE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>CAPE</b>	Kafeik asit fenil ester
<b>COX-2</b>	Siklooksijenaz-2
<b>DOÇ</b>	Doçent
<b>DR</b>	Doktor
<b>EDTA</b>	Etilen diamin tetra asetikasit
<b>GSH</b>	Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	Glutasyon peroksidaz
<b>H&amp;E</b>	Hematoksilen-eozin
<b>H2O2</b>	Hidrojenperoksit
<b>HA</b>	Hyaluronik asit
<b>HA-CMC</b>	Hyaluronik asit – karboksimetilselüloz
<b>HA-PBS</b>	Hyaluronik asit ile kombine fosfat-tamponlu-tuzlar
<b>HRP</b>	Horseradish Peroksidaz
<b>IC50</b>	Maksimum inhibisyonun%50'sini oluşturan ilaç konsantrasyonu
<b>IFN-γ</b>	İnterferon gama
<b>IL-1</b>	İnterlökin-1
<b>IL-10</b>	İnterlökin-10
<b>IL-1β</b>	İnterlökin-1β
<b>IL-2</b>	İnterlökin-2
<b>IL-6</b>	İnterlökin-6
<b>IL-8</b>	İnterlökin-8
<b>IP</b>	İntraperitoneal
<b>LB4</b>	Lökotrien B4
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>NADPH-oksidaz</b>	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
<b>NF-Kb</b>	Nükleer faktör kB
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>ORC</b>	Okside Rejenere Selüloz
<b>ÖĞR. GÖR</b>	Öğretim görevlisi
<b>PAA</b>	Plazminojen aktivatör aktivitesi
<b>PAI-1</b>	Plazminojen aktivatör inhibitör-1

<b>PAI-3</b>	Plazminojen aktivatör inhibitör-3
<b>PGE2</b>	Prostaglandin E2
<b>PROF</b>	Profesör
<b>PTFE</b>	Politetrafloretillen
<b>SOD</b>	Süperoksit dismutaz
<b>TBA</b>	Tiyobarbitürik asit
<b>TCA</b>	Trikloroasetik asit
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrotik faktör- $\alpha$
<b>TPA</b>	Doku plazminojen aktivatörü
<b>uPA</b>	Ürokinaz tip plazminojen aktivatörü

# 1.GİRİŞ

Çağdaş cerrahinin temelleri atıldığından bu yana karın içi operasyonlar sonrası oluşan yapışıklıklar cerrahlar için büyük sorun oluşturmaya devam etmektedir. Cerrahide birçok yeni yaklaşım ve gelişime rağmen ameliyat sonrası karın içi yapışıklıklarının önlenmesi için halen etkin bir yöntem bulunmamaktadır. Yapışıklık, gerek hastanın yaşam kalitesini etkilemesi, gerek morbidite ve mortaliteyi, gerek maliyeti artırması açısından halen güncelliğini korumaktadır. Karın içi operasyon geçiren hastalarda oluşan yapışıklık oranının %64 ile %97 arasında değiştiği, açık cerrahi girişimler sonrası bu oranın laparoskopik girişimlere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür (1, 2). Toplumda yaşam beklentisinin artması, gelişen teknik yöntemler ve düzenli sağlık taraması programları nedeni ile ameliyat olan hasta sayısı artmaktadır. Buna paralel olarak oluşabilecek ameliyat sonrası yapışıklık sayısı da orantılı şekilde artmaktadır. Bu durum topluma ve sağlık sistemine sosyal ve ekonomik olarak anlamlı bir yük getirmektedir (3).

Ameliyat sonrası yapışıklıklar, cerrahlar için reoperasyon durumlarında, karın içine ulaşma süresini artırması, karın içinin eksplorasyonunu zorlaştırması ve karın içi organların yaralanma riskini arttırması nedeni ile önemli bir sorundur (4-6). Farklı çalışmalarda, karın içi cerrahi girişimlerle yapışıklık oluşumu arasındaki doğrudan ilişki ortaya konmuş ve günümüzde barsak tıkanıklığının en önemli nedeninin önceden geçirilmiş ameliyatlara bağlı yapışıklıklar olduğu belirtilmiştir (7, 8). Karın içi yapışıklık olan hastalarda klinik genellikle kolik tarzda karın ağrısı, kusma, karında distansiyon ve azalmış gayta ve gaz geçişi şeklindedir (9). Yapışıklığın istenmeyen etkileri barsaklarla sınırlı değildir. Kadınlarda sekonder infertiliteye, kronik karın ve pelvik ağrıya neden olabilir. Yapışıklıklar periton dializini de olanaksız kılabilir. Yapışıklık genellikle laparoskopik yaklaşımları zorlaştırır veya olanaksız kılabilir (10). Ancak, ameliyat sonrası karın içi yapışıklık önlemede bugüne kadar hiçbir ajanın kesin ve tam etkili olduğu ispatlanamamıştır.

Propolis farklı renk ve kıvamlı, karmaşık bir kimyasal bileşimi olan bitkisel doku reçineli bal arısı ürünüdür (69). Milattan önce 300 yılından beri popüler tıpta kullanılmaktadır. Propolisin şimdiye kadar alifatik asitler, esterler, aromatik asitler, vitaminler ve inorganik maddeler dahil 300'den fazla farklı bileşeni tespit edilmiştir. Fare ve tavşan çalışmaları propolisin hidroalkolik solüsyonunun topikal, injeksiyon ve oral yoldan uygulanmasından sonra anti-inflamatuar etkiye sahip olduğunu göstermiştir (70).

Biz bu çalışmamızda propolisin anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkilerini hem lokal hemde peritondan emilerek sistemik olarak değerlendirek postoperatif yapışıklıklar üzerindeki olumlu etkilerini görmeyi amaçlamaktayız.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karın içi ameliyat sonrası yapışıklıklar

Karın içi yapışıklıklar; dokular veya organlar arasında bağlantı oluşturan fibröz bantlar olarak bilinir. Peritonun hasara karşı oluşturduğu dinamik, fibroproliferatif ve inflamatuvar bir savunma mekanizmasıdır (11).

Ameliyat sonrası karın içi yapışıklıklar klinik olarak semptomatik hale geldiklerinde tedavi edilmeye çalışılır. Tedavi çeşitleri arasında konservatif ve cerrahi girişimler yer alır.

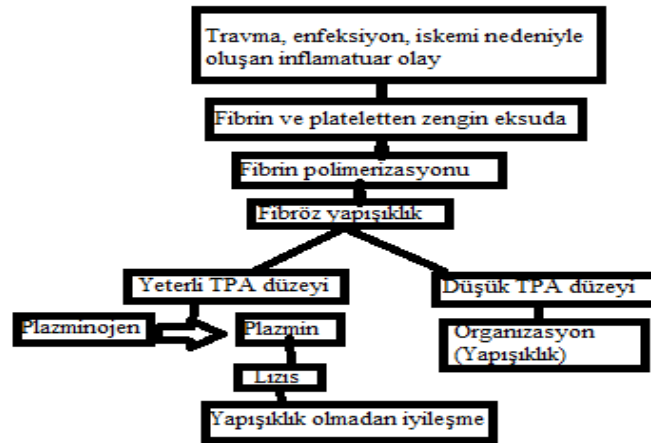
Hastaların yaklaşık yarısı konservatif tedavi yöntemleriyle, diğer yarısı ise cerrahi tedavi ile düzelir. Eğer nazogastrik drenaj ve intravenöz sıvı desteği şeklindeki konservatif yöntemlerle düzelme olmaz ise ameliyat gerekir (9). Tüm karın ameliyatlarının %90'dan fazlasının yapışıklıklara neden olduğu tahmin edilmektedir (12). Cerrahi nedenlerle hastaneye başvuran hastaların %1-3'ünde yapışıklığa bağlı barsak tıkanıklığı tespit edilmektedir ve bu vakalar cerrahi kliniklerde yapılan laparatomilerin %1'ini oluşturmaktadır (13). Yapışıklık oluşumunun yaygınlığı hastalar arasında değişir. Yapışıklık oluşumunu en çok etkileyen faktörler geçirilen ameliyatların tipi, büyüklüğü ve ameliyat sonrası gelişen komplikasyonlardır. Yapışıklık oluşumuna etkisi olduğu bilinen diğer faktörler karın içi yabancı cisimler, termal hasar, enfeksiyon, iskemi, abrazyonlar, karın içi yıkama sıvıları, ameliyathane lambalarının aşırı ısı yayması ve radyoterapi gibi nedenlerdir (14, 15).

Peritonun bütünlüğünü bozan bütün cerrahi girişimlerden sonra yapışıklık meydana gelebilir. Ama oluşan bu yapışıklık serozal bir yüzeyde zor görülebilen bir skar dokusu olabileceği gibi, tüm çevre dokuları içine alan yoğun bir oluşum şeklinde de görülebilir. Peritoneal kavite; herhangi bir cerrahi işlem sonrası yapışıklık veya bant oluşumu potansiyeline sahiptir. Bu yapılar ince barsak tıkanıklığının en sık nedenidir (16). Karnın alt kadrantlarına yapılan cerrahi girişimler yapışıklığa bağlı ince barsak tıkanıklığı yaratma açısından daha ön plana çıkmaktadır. Bunun nedeni olarak cerrahi diseksiyon esnasında daha geniş bir peritoneal alanın yaralanmış olduğu düşünülmektedir (12). Amerika Birleşik Devletlerinde 1994 yılında yapışıklıklarla doğrudan ilişkili hastane masrafları yıllık 1,6 milyar \$ olarak belirlenmiştir (14).

Yapışıklık oluşumunu tam olarak anlamak için, periton travması sonrasında oluşan normal mezotelyal hücre cevabını incelemek gerekir. Peritoneal yara iyileşmesi hem epitelizasyon şekli, hem de fibrin birikiminin etkileri ile ciltte gerçekleşen yara iyileşmelerinden ayrılır. Peritoneal yaralanma sonrasında, hasar gören mezotelyum, koagülasyonu aktive eder. Travmatize doku üzerinde fibrin tabakası oluşur. Cerrahi sonrası yapışıklık oluşumunun ana basamağı olan fibrin birikimi, peritonda fibrin oluşumu ile yıkımı arasında dengesizlik sonucu meydana gelir. Fibrin, filamentöz bir protein olup lökosit, eritrosit ve trombositlerin dokuya yapışmasına neden olur. Normal mezotelyal doku cevabında, mezotelyal hücreler yara bölgesine göç ederler. Oluşan fibrin, fibrinolizise uğrar. Serozal hasar sonrası mast hücreleri tarafından histamin ve diğer medyatörlerin salınımıyla damar geçirgenliği artar, peritonda plazma eksudasyonu olur ve fibrin oluşmaya başlar. Fakat cerrahi işlem esnasında oksijenizasyon azalır. Plazminojen aktivatör inhibitörlerinin düzeyi artar ve neticede fibrinolitik aktivite azalır. Tüm bunların sonucunda fibröz yapıdan oluşan yapışıklıklar ve band yapısı karşımıza çıkar (17-20).

Hayvan çalışmalarında interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-6 (IL-6)'nın yapışıklık oluşumunda en önemli mediyatörlerden olduğu gösterilmiştir. Yine erken intraoperatif dönemde IL-1 ve tümör nekrotik faktör- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) seviyesi yüksek seyreden hastalarda, yapışıklık oluşumunun daha sık olduğu gösterilmiştir (21-24).

Yapışıklık oluşum mekanizması şekil-2.1.'de özetlenmiştir.



**Şekil 2.1.** Yapışıklık oluşum mekanizması

Yapışıklık oluşumunu önlemek amacıyla sistemik ve lokal olarak uygulanan birçok ilaç kullanılmıştır. Bununla beraber travmaya uğramış dokular arasında çeşitli maddelerden yapılmış bariyer yerleştirmek, batın içi yapışıklık oluşumunu önlemeye yönelik diğer bir

girişimdir. Postoperatif yapışıklıkların engellenmesi amacıyla birçok materyal kullanılmıştır. Bunlar;

- Hyalüronik asit ve karboksimetilsellülozdan oluşan membran (6, 25, 26)
- Politetrafloroetilenden geliştirilen membran (27)
- Okside edilmiş rejenere selüloz (Surgicel®) (26)
- N, O - carboxymethyl chitosan (28)
- Polyethyleneglycol/polylactic acid film (30)
- Human amniotic membran (31)
- Fibrin glue (Fibrin sealant) (33)

## **2.2. Peritonun mikroskopik yapısı ve fizyolojisi**

Periton abdominopelvik duvarı döşeyen ve karın içi organları saran seröz bir membrandır. Yukarıda diyafragmadan aşağıda en kaudal kısmında pelvise kadar uzanır. Periton kavitesi ön tarafta, ön abdominal kasların arka yüzüyle sınırlanmıştır. Arkada ise peritoneal döşeme; aorta, vena cava, üreterler ve böbrekleri de içine alan retroperitoneal organları yüzeyel olarak örter (29). Peritonun toplam alanı yaklaşık 1.8 m<sup>2</sup>'dir. Tek tabaka mezotelyal hücrelerden oluşmuştur. Altında destekleyici tabaka olarak oldukça vaskülarize gevşek bağ dokusu bulunur. Bu bağ dokusu vasküler yapıdan zengin, kollajen, lenfosit, fibroblast, makrofaj, plazma hücreleri ve mast hücreleri içeren bağ doku tabakasıdır (32).

Mezotelyal hücreler mikrovilluslar bulundurlar, bunlar mezotelyal hücrelerin yüzey alanını büyük ölçüde artırır. Mikrovillusların dansitesi, tüm periton kavitesi boyunca farklılık gösterir. Mezotelyal hücre metabolizmasındaki değişiklikler ve hücre ödemi, bu hücre tabakası boyunca oluşan difüzyonu etkileyebilir. Mezotelyal hücreler kubik ve yassı hücreler olmak üzere iki tiptir. Bunlardan komşu kubik hücreler arasında yarıklar vardır, peritonitte bu yarıklar arasındaki çap artar. Mezotelyal hücrelerin altında gevşek kollajen fibrillerden oluşan bir bazal membran vardır; bu membran küçük moleküllerin difüzyonuna az bir direnç gösterir. Bazal membranın üzerini örttüğü bağ dokusu içerisinde kollajen ve diğer bağ dokusu proteinleri, elastik fibriller, fibroblastlar, yağ hücreleri, mast hücreleri, endotelyal hücreler, eozinofiller, makrofajlar ve lenfositler bulunur. Kapillerler peritoneal döşeyici tabaka içerisinde dallanırlar ve daha küçük dallara ayrılırlar. Ayrıca zengin bir lenfatik ağ mevcuttur (31).

Periton sıvısı; periton serozasından salgılanır, lenfatik sıvının özelliklerine sahiptir. Diyafragmatik lenfatik kanallar, periton sıvısının torasik kanal boyunca venöz dolaşıma girişi için pasaj sağlar.

### **2.3. Peritonun makroskopik yapısı**

Ön ve arka periton tabakalarının tümüne pariyetal periton denir. Karın ön, arka ve yan duvarlarını, diafragma alt yüzünü ve pelvis tabanını kaplar. Karın içi organların ve mezenterlerin yüzeylerini kaplayan peritona viseral periton denir. Barsakları örten periton barsakların serozasıdır (31).

Peritonun genişliği vücut yüzeyine eşittir. Peritoneal kavitede yaklaşık 50 ml transüda karakterinde sıvı vardır. Periton sıvısının dansitesi 1010, protein konsantrasyonu 3 gr/dl'den az ve lökosit miktarı  $3000/\text{mm}^3$ 'den azdır. Bu sıvı peritonun normal kayganlaştırıcı fonksiyonuna yardımcıdır ve kompleman aracılıklı antibakteriyel aktivitesi ve fibrinojeniz pıhtı oluşturma yeteneği vardır (34, 35).

### **2.4. Peritonun iyileşmesi**

Periton iyileşme periyodu dört basamak halinde özetlenebilir:

- I. Peritoneal zedelenme özellikle, sekresyonu artan prostaglandin E2 (PGE2) ve histamin aracılığıyla damar permeabilitesinin artışına yol açar.
- II. Damar permeabilitesinin artışına bağlı olarak peritoneal kavite içerisine seroanginöz, proteinden zengin bir eksuda birikir ve 3 saat içerisinde pıhtılaşır. Oluşan fibrinöz yapı zedelenme bölgesine yapışarak inflamatuvar hücrelerce infiltre edilir.
- III. Normal iyileşme olamazsa bu fibrinöz yapı eritilir ve yıkım ürünleri emilir. Bu emilim mekanizması mezotelial ve submezotelial vasküler yapılarda plazminojen aktivatör aktivitesinin (PAA) yeterli düzeyde olmasını gerektirir. PAA inaktif plazminojeni fibrinolitik aktivitenin esas ajanı olan plazmin haline çevirir. Plazmin fibrini sonuçta absorbe olacak fibrin yıkım ürünlerine dönüştürür. Fibrinolitik aktivite normalde peritoneal zedelenmeden 3 gün sonra

başlar ve 8. günde en üst seviyeye ulaşır. Fibrinin tamamıyla yıkıldığı durumlarda normal iyileşme oluşur.

IV. Peritoneal iyileşme zedelenmeden sonra 2-3 gün içerisinde başlar, mezotelyal hücreler 48 saat içerisinde zedelenme bölgesinde belirir ve takip eden 5 gün içerisinde defekt tek tabaka mezotelyal hücre ile örtülmüş olur.

İyileşme süreci tüm hasarlı hat boyunca çok odaklı olarak oluşur (27, 36).

## **2.5. Yapışıklık oluşum mekanizması**

Peritoneal adezyonların oluşum mekanizması arasında; peritonun mekanik, kimyasal, termal ajanlarla zedelenmesi, yabancı cisimler, enfeksiyon gibi faktörler tarafından etkilenmesi ve iskemi bulunmaktadır.

Yapışıklık oluşumu cerrahi sırasında başlar ve hızla ilerler. Peritoneal mezotelyal hücre yüzeyinin hasarı, alttaki bağ dokuya zarar verici etki yapar ve burayı peritoneal sıvı ile temashı hale getirir. Bu yaralanmalar esnasında inflamatuvar bir cevap meydana gelir. Hiperemi, sıvı eksüdasyonu, lökositlerin ve plateletlerin peritoneal kaviteye göçü başlar. Bu durum peritoneal sıvıda lökotrien B4 (LTB4) ve PGE2 seviyesinin artması ve PAA inhibisyonu ile sonuçlanır. LTB4 ve PGE2 adezyogenezisi stimüle ederken PAA inhibisyonu fibrin yıkımını azaltır. Sonuçta denge; yapışıklık oluşması lehine değişir. Peritoneal yaralanma aynı zamanda tromboplastin (doku faktörü) salınmasına neden olan fibrin oluşması ile sonuçlanan pıhtılaşma kaskadını aktive eder. Degradasyon gerçekleşirse rejenerasyon yapışıklıksız olarak mezotelyal hücrelerce tamamlanır. Eğer fibrin yıkımı yeterli olmaz ise bu fibrin yapışıklık oluşumu için gerekli matriksi sağlar. Fibrin üretimi fazla ise peritoneal plazminin fibrin yıkma kapasitesi aşılmış olacağından fibröz matriks oluşur. Fibrinöz eksüdatın çözülmesinde yetersiz kalırsa fibrinöz yapışıklıklar ilerleyerek fibröz ağ örtüsüne dönüşür. Fibrösitlerin göçü ve kollajen birikimiyle bu fibrin örtüsü büyüyerek kapillerlerin regresyonu ve fibroblastların alanı doldurmasıyla fibröz yapışıklıklara dönüşür ve bu yapışıklıklar kalıcıdır. Tam olarak gelişen fibröz yapışıklıklar peritoneal yaralanmadan 10 gün sonra görülür ve iki ile üç haftada maksimum düzeye erişir. GSH endojen bir anti-oksidadır. MDA ise oksidatif stres belirteci olarak kullanılan lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Yapışıklıkların oluşumunu önleyen en önemli doğal korunma mekanizması fibrinolitik sistemdir. Fibrinolitik sistemin aktivasyonu plazminojenin plazmine dönüşmesiyle fibrinin, fibrin yıkım ürünlerine yıkımı

ile sonuçlanır. TPA ve ürokinaz tip plazminojen (uPA)'in ikisinde plazminojen aktivatörleridir. Bunlar endotelyal hücreler mezotelyal hücreler ve makrofajlar tarafından eksprese edilir. TPA ana plazminojen aktivatörüdür ve fibrine yüksek afinitesi vardır. Plazminojen aktivasyonu plazminojen aktivatör inhibitör 1 ve 2 tarafından inaktivite edilir. TPA ve uPA'nın en potent inhibitörü PAI-1'dir. Bunların her ikisinde endotelyal hücreler, mezotelyal hücreler, monositler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından üretilir. Diğer plazminojen aktivatör inhibitörleri tanımlanmıştır: Plazminojen aktivatör inhibitör-3 (PAI-3) ve proteaz neksin-1,  $\alpha$ 2-makroglobulin,  $\alpha$ 1-antitripsin ve  $\alpha$ 2-antiplasmin gibi birçok proteaz inhibitörler plazmini direkt inhibe eder. Ancak peritoneal fibrinolizdeki rolleri iyi tanımlanmamıştır. Plazminojen aktivatörleri ve inhibitörleri arasındaki denge normal iyileşme yada adezyon formasyonu oluşumunun belirlenmesinde çok önemlidir. Bu nedenle PAI-1 adezyon gelişimindeki kabul görmüş en önemli faktördür. Ve yüksek PAI konsantrasyonu, geniş adezyonlar ile birlikte hastaların adezyonlarında ve peritoneal dokusunda bulunur (37).

## **2.6. Yapışıklıkların önlenmesinde genel prensipler**

Literatürde ameliyat sonrası karın içi yapışıklıkları önlemek için kullanılan madde ve tekniklerle ilgili birçok yayın bulunmaktadır (38, 39). Yapışıklık oluşumunun patofizyolojisi tanımladıktan sonra patofizyolojide rol alan farklı basamaklara etkili olabilen tedavi stratejileri geliştirilmiştir. İlk olarak 1942 yılında Boys ve ark. adezyonların azaltılması için beş maddelik bir yaklaşım önermiştir (40).

1. Peritoneal travmanın azaltılması ya da peritonun korunması
2. Seröz eksuda pıhtılaşmasının engellenmesi
3. Biriken fibrinlerin parçalanması
4. Mezotel regenerasyonu olana kadar yüzeylerin ayrı tutulması
5. İnflamatuar reaksiyonun engellenmesi.

Aslında 1942 yılında önerilen bu yaklaşımlar halen önemini sürdürmektedir. Günümüzde yapışıklığı azaltmak için ana prensipler: peritona travmanın azaltılması, mikrocerrahi veya endoskopi gibi minimal travmatik cerrahi teknikleri, farmakolojik yapışıklık profilaksisi, endojen doku greftlemesi ve eksojen bariyerler fibrin oluşum ve yıkım dengesine tıbbi müdahale ve karın içinde organların başka yapılara yapışıklık oluşturup köprüleşmelerinin bariyerlerle engellenmesidir (41, 42). Yapışıklıkların

önlenmesi için fibrinolitik ajanlar, antikoagülanlar, anti-inflamatuar ajanlar, antibiyotikler, surfaktan gibi maddelerin kullanımı üzerinde durulmuş ve çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte bu ve benzeri ajanların çoğunun tek başına etkinlikleri oldukça sınırlıdır (43, 44). Yapışıklığı önleme yolu toksik olmamalı ve yara anastomoz iyileşmesi gibi diğer iyileşme işlemleri ile etkileşmemeli, peritoneal immün fonksiyonlar ile de etkileşmemelidir.

Yapışıklık önleyici sistem hedef alana kolay uygulanabilmeli, tercihen biyolojik olarak yıkılabilmeli ve işlevini tamamlandığında peritoneal boşluktan temizlenmelidir.

### **2.6.1. Cerrahi teknik**

Yapışıklığın önlenmesinde titiz cerrahi tekniğin uygulanması gerekliliği savunulmuştur. Bu uygulamalar pek çok vakada etkili olmasa da terk edilmemelidir çünkü bu tür girişimler cerrahi ile ilişkili komplikasyon gelişimini etkiler. Önerilen yöntemler arasında peritoneal yabancı cisimlerin azaltılması, dokulara dikkatli davranılması, mümkün olduğu kadar az koter ve ekartör kullanılması, hassas hemostaz ile dikkatli diseksiyon ve iskeminin önlenmesi vardır (14). Her ne kadar mikrocerrahi tekniklerinin kullanılması yapışıklık oluşumunu tamamen ortadan kaldırmasa da azaltmıştır (41). Laparoskopik cerrahi sonrası açık cerrahiye göre klinik çalışmalarda ve çoğu deneysel çalışmalarda yapışıklık oluşumunda azalma tespit edilmiştir (14).

### **2.6.2. Farmakolojik maddeler**

Yapışıklıkları önlemek için kullanılan ilaçlar ya inflamatuvar olaylara ya da oluşturan etkenlere (enfeksiyon, endotoksin, eksüda v.s.) yöneliktir. İlaç kullanımında bazı sorunlar vardır. Etkin maddenin en çok ihtiyaç olan yerde olması gerekir. Yapışıklığa en yatkın alanlar iskemik bölgelerdir ve buralarda kan akımı kesilir. Aynı zamanda periton zarının absorpsiyon gücü fazladır ve kullanılan ilaçların yarı ömrü kısadır. İlacın yapışıklığa spesifik olup normal yara iyileşmesini etkilememesi gerekir (45, 46). Yapışıklıkları önlemek için kullanılan ilaçların başında nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar gelir. Bunların arasında ibuprofen, tolmetin ve oxyphenbutazon en yaygın olarak bilinenleridir. Sistemik ve bazen de batın için de kullanılırlar. Anti-inflamatuar ilaçlardan bir diğer grup da steroidlerdir. Klinik ve deneysel etkinliği kuşkulu olup, immünsüpresyon ve yara iyileşmesini geciktirme gibi yan etkileri vardır (47, 48). Antikoagülanlar,

streptokinaz, ürokinaz, anjiogenez inhibitörleride yapışıklık oluşumunu azaltmada denenen diğer biyolojik müdahale yöntemleridir (50).

### 2.6.3. Fiziksel bariyerler

İdeal fiziksel bariyer şu özellikleri taşımalıdır (28);

- Yara iyileşmesini etkilememeli
- Vücut tarafından kabul edilebilirliği yüksek olmalı
- Fibrozis oluşumunu uyarmamalı
- Yapışıklık oluşumunun başlangıç fazında stabil kalmalı ve bu fazdan sonra metabolize olmalı
- Sızdıran yüzeylerde (Vücut sıvıları ve kan varlığında) etkili olabilmeli
- Kullanımı kolay olmalı
- Bioemilebilir olmalı
- Bakteriyal çoğalmaya engel olmalı
- Pahalı olmamalı

Bariyerler jel veya membran formunda mevcuttur ve hasarlı veya yaralı, yapışma riski olan yüzeyleri ayırarak etkiler. Bu ajanlar etkilerini lokal olarak uyguladıkları alanda gösterir ve peritoneal kavitede uzak alanlarda etkileri yoktur (14). Fizik bariyerler yapışıklık oluşumunda erken bir basamak olan fibrin köprülerin oluşumunu önler, bu işlemi travmatize alanları çevre dokulardan ayırarak yaparlar. Solid ajanlar ve jeller travmatize alanı özgün şekilde izole ederler. Bunun karşılığı olarak sıvı ajanlar tüm karın boşluğunu kaplar ve travmatize dokuyu yüzdürme ile ayırır (49). Katı ve solüsyon bariyerler tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Katı ve solüsyon bariyerler

<b>Solüsyonlar</b>	<b>Katı Bariyerler</b>
Kristaloidler	Otolog Peritoneal transplantlar
%32 Dextran 70	PTFE (Gore-Tex)
Hyaluronik Asit (HA)	Okside Rejenere Selüloz (ORC) (Interceed)
HA-PBS/ Sepracoat	HA-CMC (Seprafilm)
Karboxymetilsellüloz	



Kristaloidler, solüsyon bariyerlerdendir. Peritoneal boşluktan su ve elektrolit emilimi hızlıdır, 500 ml'ye kadar olan isoosmolar sodyum klorid 24 saatten daha az bir sürede emilir (51). Çünkü peritoneal yüzeyde yeni mezotelyal hücreler oluşumu 5-8 gün sürer, fibrin depozisyonu ve yapışıklık gelişimi aşamalarından önce kristaloid bir solüsyon absorbe edilmiş olmalıdır. İntraperitoneal kristaloid yüklenmesinin yapışıklık gelişimini engellemesi beklenmez. Çalışmalar kristaloid yüklemesi alan hastaların yaklaşık %80'inde tekrar yapışıklık gelişimi olduğunu göstermiştir (52, 53). Cerrahi sonrası peritoneal boşluk asidiktir ve cerrahide kullanılan yıkama solüsyonu verilmesi düşünülebilir (52). Ringer laktat güvenli, ucuz, kolay ulaşılabilir ve normal tuza göre daha yüksek etki kapasitesine sahiptir. İntraperitoneal Ringer laktat yüklenmesi hayvan modellerinde yapışıklık gelişimini azaltığı gösterilmiştir (54, 55). Etki mekanizması açık değildir. Ancak karın içi boşlukta büyük hacimde Ringer laktat varlığında peritoneal yüzeyleri ayırır ve yapışıklık gelişimini önler. Ayrıca ringer laktatın yeni oluşmuş fibrin eksüdatını da temizlemesi muhtemeldir. İlk fibrin, fibrinoliz veya absorpsiyonla ortadan kalkmamışsa inflamatuvar bir yanıt üretir, fibroblast proliferasyonu olur ve yapışıklık gelişimi oluşur. Ringer laktat'ın etkinliği klinik olarak ispatlanabilmiş değildir (56).

İkinci bir solüsyon bariyer %32 dextran 70'dir. Yapışıklığın önlenmesinde sık kullanılan bir solüsyondur. Dextran solüsyonuyla intraabdominal organların yuzdürülmesi peritoneal yüzeylerde mekanik bir ayrılmaya sebep olur (57). Dilüsyon süresince, dextran lokal fibrin konsantrasyonunu azaltır, lokal plazminojen aktivatörlerini hazırlar ve yapışıklık moleküllerinin polimorfonükleer nötrofil salınımını engeller. Dextran solüsyonu yavaşça emilir ve sıvı karın boşluğuna yönlendirilir. Bu ayrıca pıhtı oluşumunu da azaltır (51). İlk gözlemleri takip eden çalışmalar, yapışıklıklarda bir azalma göstermiştir. Bununla beraber, asit, kilo alımı, plevral effüzyon, labial ödem, karaciğer fonksiyon bozuklukları ve ne kadar nadir de olsa yaygın damar içi koagülasyon bozukluğu ve anafilaksi gibi anlamlı yan etkiler tespit edilmiştir (57).

HA ekstraselüler matriksin ana elemanı olup doğal bir glikozaminoglikan'dır. Bağ dokusunda, deride, kıkırdakta, vitröz sıvıda ve sinoviyal sıvıda bulunur. HA non-immünojen, non-toksik ve doğal bioabsorbabldır (58). Karboksimetilselüloz gibi fizyolojik pH'ta negatif yüklenir ve serbest olarak çözünebilir (52). HA serozal yüzeyleri kaplar ve serozal yüzeyleri kuruluktan ve diğer tip doku hasarlarından korur (56, 59).

HA yapışıklık gelişimini önlemek için fosfat-tamponlu-tuzlar (PBS) ile makromoleküler bir solüsyonda birleştirilir ve buna Sepracoat® (Genzyme, Cambridge, Mass) adı verilir. HA ile kombine fosfat-tamponlu-tuzlar (HA-PBS) intraoperatif olarak

diseksiyona başlamadan önce uygulanır ve travmadan sonra peritoneal yüzeylerin ayrılmasından ziyade; indirekt cerrahi travmadan korumak için kullanılır (60). Hayvan modellerinde bu solüsyon serozal hasarı, inflamasyonu ve cerrahi sonrası yapışıklıkları azalttığı gözlenmiştir (60). Laparotomi ile jinekolojik pelvik yaklaşımlarda multipl travmatize edilen hastalar üzerinde HA-PBS denenmiş ve yeni yapışıklık oluşum insidansını, boyutunu ve şiddetini anlamlı ve güvenli olarak azalttığı tesbit edilmiştir (61).

Karboksimetilselüloz bir selüloz derivesidir. Glikosidik hidroksil gruplarının karboksimetilasyonu polimeri hidrofilik yapar. Fizyolojik pH'ta negatif yüklenir ve serbestçe çözünebilir. Karboksimetilselüloz yüzeylerin ayrılması yoluyla iş görür bunu da travmatize peritoneal yaprakların ayrı iyileşmesini sağlayarak yapışıklık gelişimini azaltır (52, 56).

Deneysel çalışmalarda; paryetal peritondaki lezyonların mikrocerrahi yoluyla otolog peritoneal transplantlarla kapatmak şiddetli yapışıklık oluşumunu önleyebileceği gösterilmiştir (41). Visseral peritoneal yapışıklıkların otolog peritoneal transplantlar kullanılarak uterin serozanın yaralanması durumunda daha anlamlı düşüşler görülmüştür. Bu da, jinekolojik cerrahi sonrası visseral peritondaki yaralanmadan dolayı yapışıklık gelişim riski, paryetal peritondakine göre daha fazla olduğunu göstermektedir. Visseral periton genellikle cerrahinin sonlanmasıyla, hem otolog peritoneal greftlerle hem de sentetik bariyerle kaplanabilir (41).

Doğal ve sentetik greft materyallerinin birçoğu travmatize yüzeylerde yapışıklık gelişimini önlemek için kullanılmaktadır. Doğal materyaller; periton, omentum, HA, yağ, amnion zarıdır (62). Sentetik materyaller; polivinil alkol film ve tantalum kağıdı olup geçmişte kullanılmıştır (51). Son zamanlarda ilgi; doku yüzeylerini ayırmak için cerrahi sonunda travmatize dokuya mekanik bariyerler konulmasına odaklandı. Bu sentetik bariyerler; Gelfilm®, Gelfoam®, Surgicell®, Silastic®, politetrafloretillen mesleri (PTFE, Gore-Tex®), Interceed (TC7) ® ve Seprafilm®-sodyum hyaluronat ve karboksimetilselüloz kimyasal olarak üretilmiş biyolojik olarak kendi kendine eriyebilen membranlardır (62).

Genişletilmiş PTFE non-reaktif, anti-trombojenik, non-toksik sentetik üretim olup hücrel transmigasyon ve doku yapışmasını inhibe eden gözenekleri vardır. Travmatize olmuş dokuya uygulandığında yapışıklık gelişimini azalttığı gösterilmiştir (63). Bir PTFE bariyeri doku hasarının tipine veya hemostaz sağlanmış olmasına bakılmaksızın yapışıklık gelişimini önler. Genişletilmiş PTFE'nin postmiyomektomi yapışıklıklarını ve pelvik yan duvar yapışıklıklarını azalttığı gösterilmiştir (64). PTFE'nin laparoskopide kullanımı kolay

değildir (56). PTFE'nin ayrıca fizyolojik ve non-absorbable bir alanda tutulması gerekmektedir. Bundan dolayı hem sürekli olarak bu yerde bırakılmalıdır hem de cerrahi olarak çıkarılmalıdır. PTFE en az reaksiyona sebep olan polimerlerden biridir ve peritonda morfolojik değişikliklere az yol açar ya da yol açmaz ve in-vivo birkaç yıldan sonra bile kimyasal ve biyolojik bozulmaya karşı koyar. PTFE ayrıca kardiyovasküler cerrahide de başarıyla kullanılmıştır, burada perikardiyal yama olarak kullanılarak minimal yapışıklık gelişimi ve minimal yabancı cisim reaksiyonu gibi istenen sonuçlar elde edilmiştir (56, 63).

Okside Rejenere Selüloz (ORC) hem hayvan hem de insan çalışmalarında peritoneal yüzeyleri ayırarak ve aralarında bariyer oluşturarak yapışıklık gelişimini azalttığı gösterilmiştir. ORC'nin yapışıklık gelişimini önlemenin ötesinde ince cerrahi teknik elde etmeyi sağladığı görülmektedir. ORC yüzey alanını ve yapışıklık gelişimini %20 oranında azaltır. Peritoneal bir yüzeye uygulandığında 8 saat içinde jel haline gelir. ORC laparoskopiyile kolaylıkla uygulanabilir, organ sınırlarını takip eder ve tespit edilmeye ihtiyaç duyulmaz (51). ORC peritoneal yüzeye uygulanmadan önce tam bir hemostazın sağlanması gereklidir, nitekim intraperitoneal kan varlığı etkisini azaltır (65). Klinik gözlemler göstermektedir ki; ORC konduğu esnadaki küçük miktardaki kanama, materyalin büzülmesine neden olmaktadır. Fibroblastlar pıhtılaşmış kanın kenarlarında ortaya çıkar ve kollajen birikimiyle vasküler proliferasyon ortaya çıkarırlar (52). Bu da yapışıklık bariyeri olmaksızın yapışıklık görülmesini açıklar. ORC bariyerlerinin etkinliğini en fazla yapmanın en önemli adımları; periton içi sıvıları temizlemek, yeterli hemostaz elde edildiğinden emin olmak için operatif alanı araştırmak ve yeterli büyüklükte bir ORC parçasını kullanmaktır. Hemostaz yeterince sağlanamadığında ORC siyaha veya kahve-siyah renge döner. Bu tür olgularda materyal alınmış olmalı, hemostaz sağlanmalı ve yeni bir ORC parçası uygulanmalıdır (52, 57). ORC; ameliyat sonrası yapışıklıkların insidansını, büyüklüğünü ve şiddetini azaltır, ancak önlemez.

Hyaluronik asit/karboksimetilsellüloz (HA-CMC); ameliyat sonrası şiddetli yapışıklıkların önlenmesinde kullanılan non-toksik, non-immünojenik, biyolojik olarak uyumlu bir maddedir. Uygulandıktan yaklaşık 24 saat sonra hidrofilik jel haline gelir ve hasarlı dokuyu yeni mezotelyal hücrelerin oluşumu sırasında 7 gün boyunca koruyan bir tabaka sağlar. ORC gibi HA komponenti de vücuttan 28 gün içinde temizlenir; daha az temizlenen ise CMC komponentidir. ORC'den farklı olarak HA-CMC kan varlığında kullanılabilir (66). HA-CMC; insizyon hattındaki ameliyat sonrası yapışıklık insidansını %50'den fazla azalttığı gözlenmiştir. Laparotomi uygulanan hastalarla karşılaştırıldığında ise yapışıklık oranı %40'ın altında olarak tespit edilmiştir. HA-CMC'ye cevap veren

hastalar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ayrıca daha hafif şiddette yapışıklıklara sahip olduğu gözlenmiştir. Omentum, mide, ince barsak, karın duvarı ve dalakla ilişkili kesiye bağlı yapışıklıkların en önemli sebebi orta hat insizyonu olup HA-CMC uygulanan hastalarda anlamlı olarak düşük bulunmuştur. HA-CMC ile tedavi edilen hastalarda yüksek bir pulmoner emboli ve intraperitoneal apse tespit edilmiştir ancak, bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (67, 68). Bu komplikasyonların mekanizmaları bilinmemektedir. HA ve CMC'nin temizlenmesindeki relatif değişiklikler film fragmantasyonuna ve artmış emboliye ve apse riskine neden olabileceği belirtilmiştir (52).

## **2.7. Propolis hakkında genel bilgiler**

Propolis farklı renk ve kokulu, sakız kıvamlı, reçineli bir kimyasal bileşimdir. Arılar tarafından filizler, çiçek tohumları, ağaçlar ve diğer bitkisel doku eksudalardan toplanan bal arısı ürünüdür. Propolis kelimesi Yunanca'dan gelir. Pro anlamı 'savunmada' ve polis anlamı 'şehir' dir. 'Arıkovanı savunması gibi' (69). Aslında, arılar kendilerini böcekler ve mikroorganizmalardan korumak için kovan içindeki çatlakların ya da açık alanların çimento gibi kapatılmasında kraliçe arının bulunduğu kısmın sterilize edilmesinde ve işgalci böceklerin mumyalanmasında propolisi kullanırlar (70). Propolis toplama sırasında, arılar balmumu ve toplanan propolisi tükürüklerinin içinde bulunan 13-glicosidase enzim ile karıştırırlar, flavanoid glikozidazı flavanoid aglikoz haline hidroliz ederler (71). Daha sonra toplanan malzeme enzimatik ve tükürük salgıları ile arttırılır. Diğer bal arısı ürünleri ile birlikte (bal, arı sütü, polen) propolisin olağanüstü tedavi edici özellikleri vardır (72).

Milattan önce 300 yılından beri dünyanın çeşitli bölgelerinde popüler tıpta kullanılmaktadır. Persler, Yunanlılar, Romalılar ve İnkalar da tedavi amaçlı propolis kullanmışlardır. Ancak, propolisin kimyasal bileşimi ve farmakolojik aktivitelerinin korelasyonuna olan ilgi sadece 40 yıl önce başladı (70). Propolis farklı uygarlıklar tarafından uzun zamandan beri kullanılan birkaç doğal ilaçtan biridir (73). Bu günlerde farklı propolis ürünleri şekerleme, çikolata, şampuan, cilt losyonları, antiseptik karışımlar ve diş macunları içinde dünya çapında ticari ediliyor (74).

Propolisin rengi onun aslına bağlıdır. Bu yeşilimsi bir tonda koyu kahverengiden kırmızımsı kahverengiye kadar değişir. Erime noktası 60-70°C arasında değişmekle birlikte bazı vakalarda 100°C'ye kadar çıkabilir. Genellikle, etanol propolis hazırlığı için

en iyi çözücüdür ve etil eter, su, metanol ve kloroform gibi diğer çözücülerde propolis bileşiklerinin tanımlanmasında ve ekstre edilmesinde kullanılabilir (75). Propolis arı kovanından elde edilir. Ham propolis yaklaşık %50 balsam reçinesi, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve ahşap parçaları da dahil olmak üzere %5 diğer maddelerden oluşmaktadır (76). Propolisin farmakolojik aktiviteleri tropik bölgelerde ılıman bölgelere göre daha çoktur (77). Propolisin şimdiye kadar alifatik asitler, esterler, aromatik asitler, yağlı asitler, karbonhidratlar, aldehytler, aminoasitler, ketonlar, chalcone, dihidrochalcone, terpenoidler, vitaminler ve inorganik maddeler dahil olmak üzere 300'den fazla farklı bileşeni tespit edilmiştir (70). Tüm bunlar arasında flavonoidler araştırmalar arasında en ilgi çekenlerdir (78).

Propolisin antibakteriyel, anti-inflamatuar, iyileşme, anestetik, çürük önleyici, antifungal, antiprotozoal ve antiviral aktiviteler gibi çeşitli terapötik etkileri vardır (71, 79). In vitro antibakteriyel aktivitesi birçok Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı doğrulandı, bu sonucun propolisin bileşenlerinden esas olarak pinocembrin ve galangin flavonoidlerinin sinerjik etkisi ile olduğu saptandı. Diğer flavonoidlerden örnek olarak chrysin ve kaempferol'ün herpes simplex gibi virüslerin intraselüler proliferasyonunu azaltarak antiviral etkisi olduğu gösterildi (70). Propolisin birçok diğer farmakolojik ve biyolojik özellikleri not edilmiştir: Kartilaj, kemik ve diş minesini rejenerasyonu; immünolojik özellikleri; karaciğer savunması ve antitoksik etki; antioksidan ve bağışıklık eylemleri bunlardandır (80). Fare ve tavşan çalışmaları propolisin hidroalkolik solüsyonunun topikal, enjeksiyon ve oral yoldan uygulanmasından sonra anti-inflamatuar etkiye sahip olduğunu göstermiştir (70). İnflamasyon patojenler tarafından hücre hasarı gibi vasküler dokuların zararlı uyarılara kompleks biyolojik yanıtıdır. Bu organizma tarafından verilen zararlı uyarıları kaldırmak ve iyileşme sürecini başlatmak için koruma amaçlı bir girişimdir.

Propoliste bulunan bazı anti-inflamatuar maddeler izole edilmiştir. Bu maddeler kafeik asit, quercetin, naringenin, kafeik asit fenil ester (CAPE)'dir. Bu bileşikler makrofajlar tarafından prostoglandin ve lökotrienlerin sentezinin supresyonuna katkıda bulunurlar ve miyeloperoksidaz aktivitesi, NADPH-oksidaz, ornitin dekarboksilaz, tirozin-protein kinaz üzerinde inhibitör etki ederler (81). Propolise atfedilen anti-inflamatuar aktivitenin diğer bileşenleri salisilik asit, apigenin, ferulik asit ve galangin'dir. Bilindiği gibi, makrofajlar vücut fizyolojisi ile ilgili fagositoz, enzim salımı, serbest radikal üretimi ve inflamasyon gibi birçok sürece katılırlar (82). Yapılan çalışmalarda propolisin immüno-stimulan aktivitesi makrofaj aktivasyonu ve makrofaj fagositik kapasitesi

artırılması ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları makrofajların yüksek miktarda hidrojenperoksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ürettiği gösterilen başka bir çalışma ile doğrulanmıştır (83). Makrofajlar tarafından nitrik oksit (NO) üretiminin inhibisyonundan propolisin anti-inflamatuar etkisi sorumlu olabilir. Propolis organizmamızdan fazla miktarda serbest radikalleri temizleyebilen polifenol ve geniş bir aralıkta diğer bileşikler içerir (84).

Flavonoid gibi bileşik olan CAPE, bal arısı propolisinin ana aktif maddelerinden birisi olarak tanımlanmıştır ve anti-oksidan ve anti-inflamatuar özellikleri vardır (85). CAPE uygulaması serbest radikal üretimini indükleyen ve lipid peroksidasyonunun son evresinde artan MDA seviyesini azaltır (86). Yapılan çalışmalarda CAPE'nin ratların böbreklerinde anti-oksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'ı anlamlı şekilde arttırdığı görülmüştür (87). CAPE önemli şekilde siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu inhibe eder. Birçok çalışma göstermiştir ki CAPE nükleer faktör kB (NF-kB) aktivasyonunun güçlü ve özgül inhibitörüdür (87). Bu çalışmalarda, histopatolojik incelemeler CAPE'nin inflamasyonu önemli ölçüde baskıladığını göstermiştir.

Yapılan çalışmaların hepsinin verileri birçok propolis ürününün veya izole bileşiklerinin farklı mekanizmalarla inflamasyonu inhibe ettiğini göstermektedir. Bununla beraber propolisin anti-inflamatuar etkileri temel olarak uygulama şekli ve dozajına bağlıdır (88). Propolis dermatolojide yara iyileşmesinde, yanıkta ve eksternal ülser tedavisinde, iyileşme süresinin kısalmasında, yara kontraksiyonunda artışta, doku onarımının hızlanmasında önemli derecede kullanılır. Yara iyileşmesi sırasında hasarlı doku onarımında mükemmel bir senkronize hücrel ve moleküler etkileşim meydana gelir (89).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırma tipi

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda deneysel olarak yürütülmüştür. Deneysel kullanılan ratlar Başkent Üniversitesi Araştırma Merkezi'ne bağlı Deneysel Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilmiştir. Bu çalışma öncesinde DA 13/58 proje numaralı ve 30.12.2013 tarihli etik kurul onayı alınmıştır.

#### 3.2. Deneysel hayvanlarının özellikleri ve deneysel ortamı

Bu çalışmada deneysel hayvanı olarak ağırlıkları 284-405 gr (ortalama 342 gr) arasında değişen 30 adet 6-9 ay yaş aralığında genç erkek Sprague-Dawley ırkı ratlar kullanıldı. Ratlar deneysel süresince 21-23 derecede oda ısısında tutularak standart yem ve su ile beslendiler ve 21 gün süre ile izlendiler. Cerrahi işlemden önce hayvanlarda stres faktörü oluşturmaması için açlık uygulanmadı. Tüm cerrahi prosedürler temiz ortamda gerçekleştirildi.

#### 3.3. Anestezi

Tüm hayvanların anestezi ve analjezisi 7 mg/kg intraperitoneal (IP) Xylazine ve 50 mg/kg IP ketamine uygulanarak sağlandı. Tüm ratların sakrifikasyonu yine anestezi altında intrakardiyak enjektörle girilip yaklaşık olarak 10 ml kan çekilerek gerçekleştirildi. İntraperitoneal anestezi ve analjezi uygulama şekli 3.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.1.** İntraperitoneal anestezi uygulaması

### 3.4. Deney modeli

Anestezi sonrası karın derisi traş edildi ve %10 povidon-iyot solüsyonu ile saha temizliği yapıldı (Şekil 3.2). Steril örtü ile ratlar örtüldükten sonra 3 cm'lik orta hat insizyon yapıldı. Çekal abrazyon modeli (90) modifiye edilerek çekum duvarında 1cm<sup>2</sup> 'lik alanda spanaç ile 60 kez sürtmeyle abrazyon oluşturuldu (Şekil 3.3). Ardından çekum komşuluğundaki parietal peritonda 1cm<sup>2</sup> 'lik alan eksize edildi (Şekil 3.4). İşlem sırasında pudrasız eldiven kullanıldı. Perforasyon ve aşırı kanama olmamasına aşırı özen gösterildi.



Şekil 3.2. Povidon-iyot uygulaması



Şekil 3.3. Çekal abrazyon



Şekil 3.4. Peritonda 1 cm<sup>2</sup>'lik eksizyon

Barsaklar karın içerisine tekrar yerleştirildikten sonra orta hat 5/0 monokril ile devamlı dikişlerle kapatıldı.



### 3.5. Araştırma grupları

Yapılan istatistiksel ön çalışma ile istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunabilmesi için gereken minimum rat sayısının 10 olduğu tespit edildi. Her deney grubu 10 adet rattan oluşturuldu. Çalışma için seçilen toplam 30 rat 3 gruba ayrıldı.

1. Grup: Sham grubu (n=10)
2. Grup: Etanol (%96'lık) (n=10)
3. Grup: Propolis (900 mg/kg) +Etanol(%96'lık) (n=10)

Gruplara sırası ile şu işlemler yapıldı:

Grup 1'e çekumda 1 cm<sup>2</sup>'lik alanda spanç ile abrazyon ve komşu peritoneal dokuda 1 cm<sup>2</sup>'lik alanda eksizyon yapıldıktan sonra hiçbir solüsyon verilmeden karın kapatıldı ve Sham grubu olarak belirlendi.

Grup 2'ye çekumda 1 cm<sup>2</sup>'lik alanda spanç ile abrazyon ve komşu peritoneal dokuda 1 cm<sup>2</sup>'lik alanda eksizyon yapıldıktan sonra 0,4 ml %96'lık etanol solüsyonu karın içine uygulanıp karın kapatıldı.

Grup 3'e çekumda 1 cm<sup>2</sup>'lik alanda spanç ile abrazyon ve komşu peritoneal dokuda 1 cm<sup>2</sup>'lik alanda eksizyon yapıldıktan sonra 0,4 ml (900 mg/kg propolis ve %96'lık etanol) solüsyon karışımı karın içine uygulanıp karın kapatıldı.

İşlem sonrası 21. günde ratlarda öncelikle toraks açılıp intrakardiyak olarak girilip yaklaşık olarak 10 ml arasında kan alınarak ratlar sakrifiye edildi.

### 3.6. Makroskopik değerlendirme

Abdomen ters U insizyon ile açılarak karın içi yapışıklıklar makroskopik olarak Nair adezyon skor skalası (91) kullanılarak derecelendirildi (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Nair adezyon skor skalası

0	Adezyon yok
1	Karın içi organlar arasında ya da organlar ile karın duvarı arasında tek bir bant varlığı
2	Karın içi organlar arasında ya da organlar ile karın duvarı arasında iki bant varlığı
3	İkiden fazla bant varlığı (karın içi organlar arasında veya karın içi organlar ile karın duvarı arasında) veya karın duvarına adezyon olmadan tüm barsakların tek bir kitle halinde olması (çok sayıda intestinal adezyonlar)
4	Karın içi organların bantların sayı ve büyüklüğüne bakmadan karın duvarına direkt olarak yapışması

Makroskopik Nair adezyon skor skalasına göre tek bir bant varlığı (Şekil 3.5), iki bant varlığı (Şekil 3.6), ikiden fazla bant varlığı (Şekil 3.7), karın duvarına organların direkt yapışması (Şekil 3.8)'de gösterilmiştir.



**Şekil 3. 5.** Tek bant varlığı



**Şekil 3.6.** İki bant varlığı



**Şekil 3.7.** İkiden fazla bant varlığı



**Şekil 3.8.** Karın duvarına direkt yapışma

### 3.7. Histopatolojik değerlendirme

Histopatolojik inceleme Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilimdalı'nda yapıldı. Alınan bantlar ve bantların yapışık olduğu dokular %10'luk formaldehit solüsyonu ile fikse edilip parafin bloklara gömüldü. Daha sonra alınan kesitler hematoksilin-eozin (H&E) ve trikrom ile boyandı. Zühlke mikroskopik adezyon skalası kullanılarak sınıflama yapıldı (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2.** Zühlke mikroskopik adezyon skalası

1	Zayıf konnektif doku, zengin hücre, eski ve yeni fibrin, ince retikülin fibrinleri
2	Hücreler ve kapiller damarların olduğu konnektif doku, nadir kollejen lifleri
3	Daha kalın konnektif doku, nadir hücreler, daha fazla damarlar, nadir elastik ve düz kas lifleri
4	Eski kalın granülasyon dokusu, hücreden fakir, serozal tabakaların zor ayrılması

Zühlke sınıflaması haricinde tüm ratlar mikroskopik olarak vasküler proliferasyon (hafif, orta, şiddetli), inflamasyon (hafif, orta), fibrozis (hafif, orta, şiddetli) ve yabancı cisim reaksiyonu (var, yok) yönünden incelendi (Tablo 3.3).

**Tablo 3.3.** Mikroskopik değerlendirme

Vasküler proliferasyon	İnflamasyon	Fibrozis	Yabancı cisim
Hafif (1)	Hafif (1)	Hafif(1)	Yok (0)
Orta (2)	Orta (2)	Orta (2)	Var(1)
Şiddetli (3)		Şiddetli (3)	

### 3.8. Biyokimyasal parametre

Toraks açılıp intrakardiyak yaklaşık 10 ml kan alındıktan sonra kanlardan 2 ml'lik kısmı sitratlı tüplere alınarak TPA ve PAI-1 çalışılması için ayrıldı. Kanlardan 2 ml'lik kısmı EDTA ve indometazin'li (1 ml'ye 36µl indometazin) tüplere konularak PGE2 çalışılması için ayrıldı. Kalan yaklaşık 5-6 ml'lik kısım LB4, α2-makroglobulin, α1-antitripsin çalışılması için EDTA'lı tüplere konuldu. Kan örnekleri alındıktan sonra 30 dk içinde plazma ayrılması için 2-8 °C 'de 1000 devir/dk da 15 dk santrifüj edildi. Ardından eppendorf tüplere konularak -80 °C'de saklandı.

### 3.8.1. Doku malondialdehit ve glutasyon derişiminin saptanması

Dokular 0,15 M potasyum klorür içinde cam-cam homojenizatör kullanılarak (1/10; w/v) homojenize edilmiştir.

Doku örneklerinde MDA derişimi Buege ve Aust'un yöntemi kullanılarak saptanmıştır (92) . Yöntem MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile yaptığı kompleksin kolorimetrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır. Homojenat örnekleri 0,13 mM TBA ve %7,5 (v/v) trikloroasetik asit (TCA) içeren ayıraç ile kaynar su banyosunda 15 dk. inkübe edilmiştir. Tepkime sonrası elde edilen örnekler soğutulduktan sonra, 1500xg'de santrifüj sonrası elde edilen süpernatantların absorbansı 535 nm'de örnek körüne karşı ölçülmüştür. MDA derişimleri molar ekstinksiyon katsayısı ( $1,56 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplanmış ve nmol/g doku olarak ifade edilmiştir.

Doku GSH derişimleri Ellman'ın doku sülfidril grup analizi yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (93). Homojenat örneklerinin % 1.67 metafosforik asit (w/v) çözeltisi ile deproteinizasyonu sonrası  $4^{\circ}\text{C}$ 'de, 1500xg'de 10 dk. santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen süpernatantın Ellman belirteci ile oluşturduğu renkli kompleksin absorbansları 412 nm'de köre karşı saptanmıştır. Glutasyon derişimleri standart eğri kullanılarak hesaplanmış ve  $\mu\text{mol/g}$  doku olarak ifade edilmiştir.

### 3.8.2. Serum parametrelerinin analizi

Serum TPA, PAI-1,  $\alpha$ 1-antitripsin ve  $\alpha$ 2-makroglobulin derişimleri USCNK ( Wuhan, Çin Halk Cumhuriyeti) marka ticari kitler (Katalog no: SEA525Ra, SEA532Ra, SEB697Ra CEB017Ra sırasıyla); LB4 derişimleri CUSABIO (Wuhan, Çin Halk Cumhuriyeti, Katalog No: CSB-E08035r), PGE2 derişimleri ise CAYMAN (Michigan, ABD, Katalog No: 500141) ticari kitleri kullanılarak ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

Alfa2-makroglobulin kiti yarışmalı inhibisyon enzim "immünoassay" prensibine göre çalışmaktadır. Kuyucuklara uygun hacimde örnek/standart/kontrol eklenmesi sonrası parametreye spesifik antikör kaplanmış olan kuyucuklarda, yine parametreye spesifik olarak işaretlenmiş ve işaretlenmemiş olan "Horseradish Peroksidaz (HRP)" enzimleri arasında yarışmalı bir tepkime gerçekleşmektedir. İnkübasyon sonrası bağlanmamış konjugat uzaklaştırılmaktadır. Bağlanmış olan HRP konjugat derişimi örnekteki  $\alpha$ -makroglobulin derişimi ile ters orantılı olup substrat eklenmesi sonrası oluşan renk şiddeti

ise örnekteki  $\alpha 2$ -makroglobulin erişimi ile ters orantılıdır. Tepkimenin durdurulması sonucu oluşan mavi rengin absorbanısı ELISA okuyucusunda (ELx800 Universal Microplate Reader; Bio-Tek Instruments, Inc ) 450 nm’de ölçülmüş ve standart eğri kullanılarak örnek derişimleri hesaplanmıştır. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edilmiştir. Yöntemin hassasiyeti 2.49 ng/ml’dir.

Serum TPA, PAI-1 ve  $\alpha 1$ -antitripsin ve LB4 kitleri “sandwich ELISA” yöntemi prensibine dayanmaktadır. Parametreye spesifik antikor kaplı kuyucuklara belirtilen hacimlerde örnek/standart/kontrol eklenerek 37°C’de inkübe edilmiştir. İki saat bekletilen kuyucuklar ticari kitle belirtilen yıkama prosedürü uygulanarak bağlanmayan kısımların uzaklaştırılması sağlanmış ve tüm kuyucuklara kitle belirtilen uygun ikincil antikor eklenerek yeniden 37°C’de 1 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda kit prosedürüne uygun olarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve her bir kuyucuğa HRP-avidin çalışma çözeltisi eklenerek yeniden inkübe edilmiştir ve inkübasyon sonrası yıkama işlemi tekrar edilmiştir.

Kuyucuklara substrat eklenerek 30 dk inkübasyon sonrası tepkime durdurulmuş, oluşan mavi rengin absorbanısı ELISA okuyucusunda 450 nm’de ölçülmüş ve standart eğri kullanılarak örnek derişimleri hesaplanmıştır. Sonuçlar sırasıyla ng/ml, pg/ml, mg/ml ve ng/ml olarak ifade edilmiştir. Yöntemlerin hassasiyeti parametreler için sırasıyla 0.119 ng/ml, 0.128 ng/ml, 3.5 ng/ml ve 3.9 pg/ml ‘dir.

PGE2 kiti yarışmalı inhibisyon enzim “immünoassay” prensibine göre çalışmaktadır. Kuyucuklara uygun hacimde örnek/standart/kontrol eklenmesi sonrası parametreye spesifik monoklonal antikor kaplanmış olan kuyucuklarda, PGE2 spesifik olarak işaretlenmiş ve işaretlenmemiş olan “Asetilkolinesteraz (ACE)” enzimleri arasında yarışmalı bir tepkime gerçekleşmektedir. İnkübasyon sonrası bağlanmamış konjugat ticari kitle belirtilen yıkama çözeltisi ile kit prosedürüne uygun olarak yıkanarak uzaklaştırılmaktadır. Bağlanmış konjugat derişimi örnekteki PGE2 derişimi ile ters orantılı olup, Ellman reaktifi ile renklenen kuyucuklardaki renk şiddeti de PGE2 derişimi ile ters orantılıdır. Oluşan sarı rengin absorbanısı 412 nm’de ELISA okuyucusunda ölçülmüş ve standart eğri kullanılarak örnek derişimleri belirlenmiştir. Sonuçlar ng/ml olarak ifade edilmiştir. Yöntemin hassasiyeti 36 pg/ml’dir.

### 3.9. İstatistiksel yöntem

Çalışmamızın verileri Başkent Üniversitesi İstatistik Bölümü'nde değerlendirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen gruplarda üç veya daha fazla sayıda grubun ortalamaları arasındaki farklılığın anlamlılığını test amacıyla analizde Kruskal Wallis testi ve farklılığı oluşturan grubun belirlenmesinde ise grupların ortalama sıralama puanları arasındaki farkları birbirleri ile karşılaştıran Bonferroni-Dunn testi kullanılmıştır. Nitel kategorik değişkenlerin gruplar arası farklılığında ki kare testi kullanılmıştır.

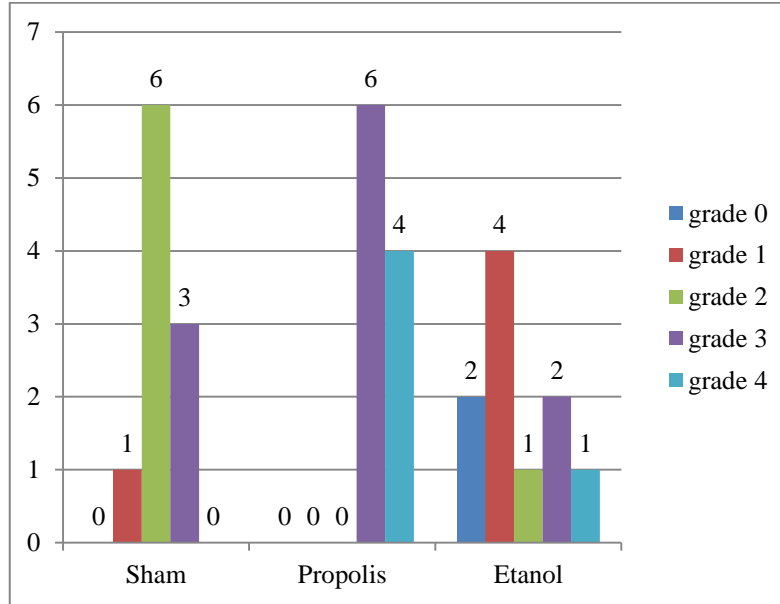
İddia hipotezim en az iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu yönündedir. p değeri 0.05 ile karşılaştırılır.  $p < \alpha$  farklılığın anlamlı,  $p > \alpha$  farklılığın anlamlı olmadığı yönünde bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

Araştırma bulguları makroskopik, mikroskopik ve biyokimyasal parametreler olarak 3 bölümde değerlendirilmiştir.

### 4.1. Makroskopik değerlendirme

Makroskopik Nair adezyon skor skalasına göre gruplar grade ve sayısal olarak değerlendirildi (Şekil 4.1).

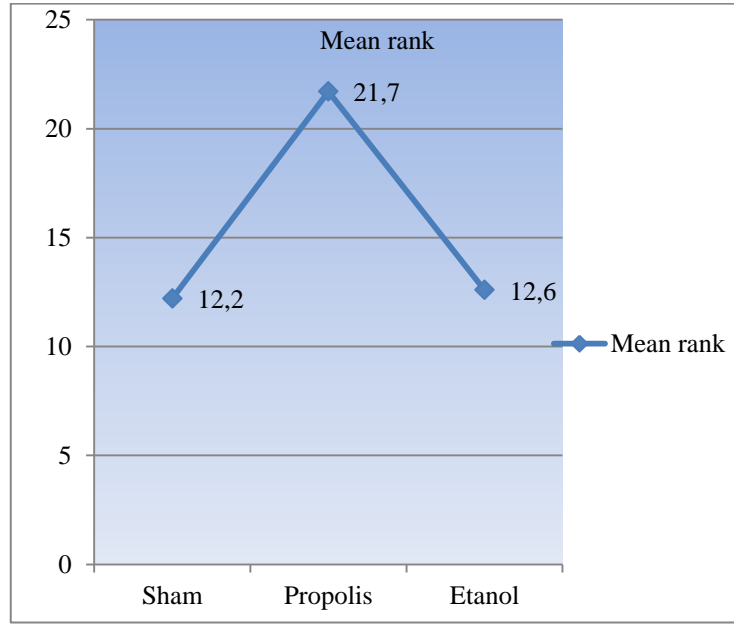


Şekil 4.1. Makroskopik olarak grupların grade ve sayısal karşılaştırılması

Makroskopik olarak sham grubunda bir ratta grade 1 yapışıklık, altı ratta grade 2 yapışıklık, üç ratta grade 3 yapışıklık, propolis grubunda altı ratta grade 3 yapışıklık, dört ratta grade 4 yapışıklık, etanol grubunda iki ratta grade 0, dört ratta grade 1, bir ratta grade 2, iki ratta grade 3, bir ratta grade 4 yapışıklık görülürken, sham grubunda grade 0 ve grade 4 yapışıklık, propolis grubunda grade 0, 1, 2 yapışıklık, etanol grubunda yapışıklık görülmedi.

Normal dağılım göstermeyen üç bağımsız denek grubun, makroskopik olarak yapışıklık farklılığının önemliliği Kruskal Wallis testine göre değerlendirildi. Test

sonucuna göre ranks tablosundaki sıra ortalama (mean rank) değerleri Şekil 4.2’de verilmiştir.



**Şekil 4.2.** Makroskopik yapışıklık sıra ortalama değerleri

Verilere göre makroskopik yapışıklığın gruplara göre sıra ortalamaları dikkate alındığında; propolis grubunda yapışıklığın daha fazla olduğu, etanol grubunda ise en az olduğu görülmektedir (Şekil 4.2).

Kruskal Wallis testine göre normal dağılım göstermeyen üç bağımsız denek grubunun, propolis grubunda makroskopik olarak yapışıklık istatistiksel anlamlıydı (  $p=0,002<0,05$ ).

Makroskopik değerlendirme de denek gruplar arasında anlamlı fark saptanırken, farklılığı hangi grubun ortaya çıkardığını belirlemek amacıyla geliŐtirilmiŐ birçok yöntemden biri olan Bonferroni yöntemine göre ikili değerlendirme sonuçları tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Nair adezyon skor skalası ikili karşılaştırma

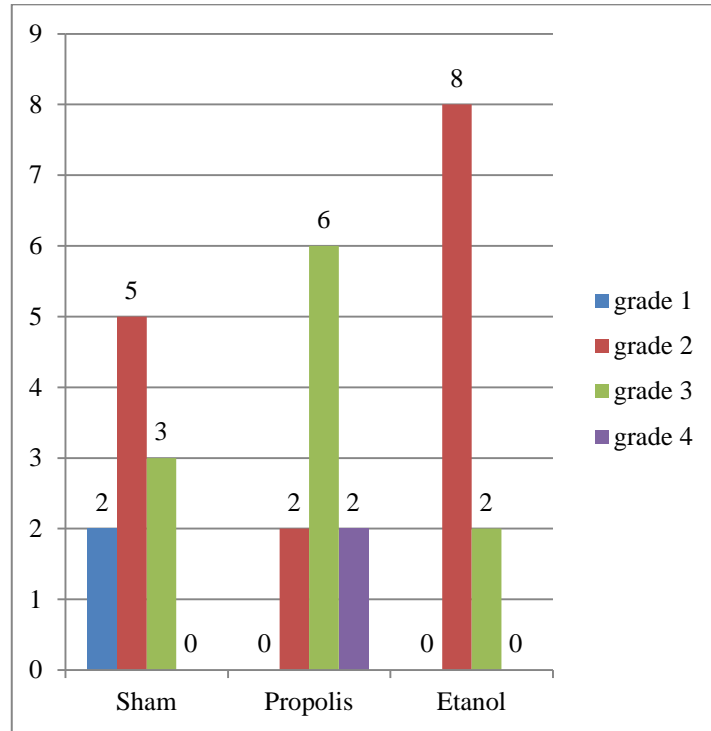
Grup	Skor	P değeri
Etanol-Sham	(12,6- 12,2)	1,000 <sup>x</sup>
Etanol-Propolis	(12,6- 21,7)	0,002 <sup>y</sup>
Sham-Propolis	(12,2- 21,7)	0,023 <sup>z</sup>



Nair adezyon skor skalası ikili karşılaştırmasında; Etanol ile Propolis (y grubu) ( $p=0,002<0,05$ ) ve Sham grup ile Propolis (z grubu) ( $p=0,023<0,05$ ) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (tablo 4.1).

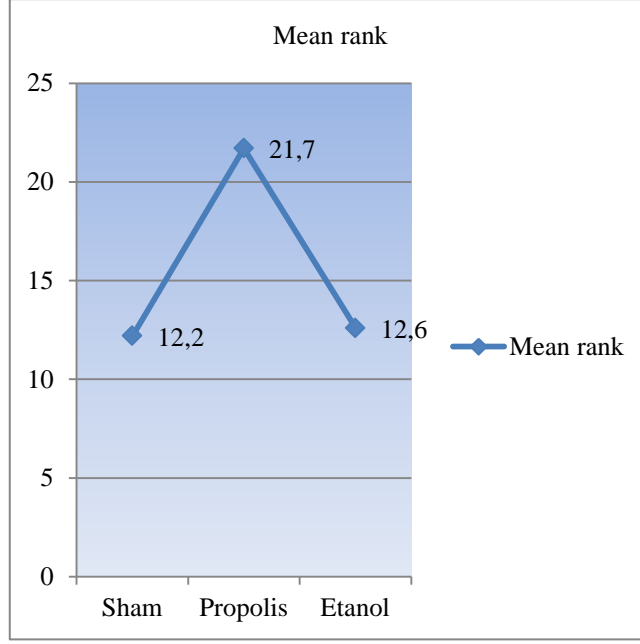
## 4.2. Mikroskopik değerlendirme

Mikroskopik Zühlke adezyon skalasına göre gruplar grade ve sayısal olarak değerlendirildi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Mikroskopik olarak grupların grade ve sayısal karşılaştırılması

Mikroskopik olarak sham grubunda iki ratta grade 1, beş ratta grade 2, üç ratta grade 3, propolis grubunda iki ratta grade 2, altı ratta grade 3, iki ratta grade 4 yapışıklık, etanol grubunda ise sekiz ratta grade 2, iki ratta grade 3 yapışıklık görülürken; sham grubunda grade 4 yapışıklık, propolis grubunda grade 1 yapışıklık, etanol grubunda ise grade 1 ve 4 yapışıklık görülmedi.



**Şekil 4.4.** Mikroskopik yapışıklık sıra ortalama değerleri

Örneklem verilerine göre rank tablosu sıra ortalama değerlerine göre; propolis grubunda yapışıklığın daha fazla olduğu, sham grubunda ise en az olduğu görülmektedir (Şekil 4.4).

Denek grupları mikroskopik değerlendirme değişkeni açısından Kruskal Wallis açısından anlamlı farklılık gösterdi ( $p=0,011$ ) ( $0,011 < 0,05$ ).

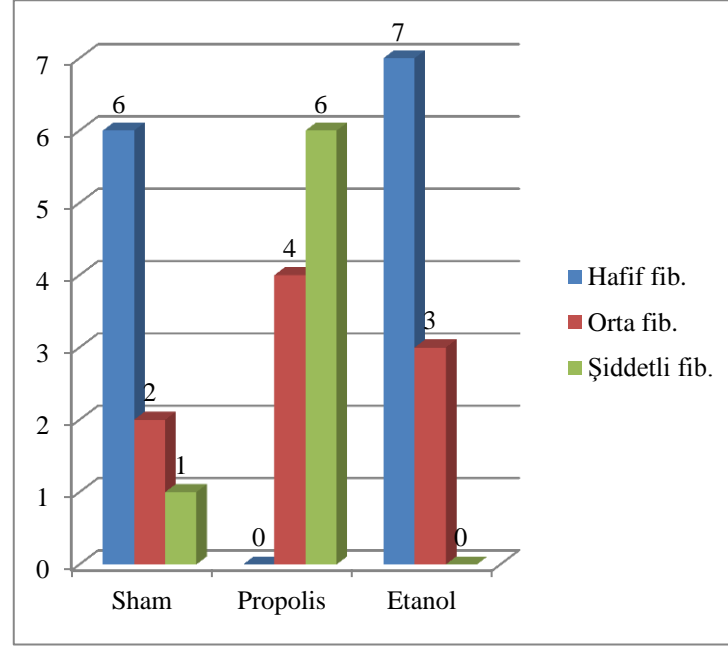
Mikroskopik değerlendirme de denek gruplar arasında saptanan anlamlı farkın, hangi grubun kaynaklı olduğunu belirlemek amacıyla uygulanan Bonferroni yöntemine göre ikili değerlendirme sonuçları tablo 4.2’de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Zühlke mikroskopik adezyon skalası ikili karşılaştırma

Grup	Skor	P değeri
Etanol-Sham	(12,6- 12,2)	1,000 <sup>x</sup>
Etanol-Propolis	(12,6- 21,7)	0,033 <sup>y</sup>
Sham-Propolis	(12,2- 21,7)	0,024 <sup>z</sup>

Zühlke mikroskopik adezyon skalası ikili grup karşılaştırmasında; Etanol ile Propolis (y grubu) ( $p= 0,033 < 0,05$ ) ve sham grubu ile propolis (z grubu) ( $p=0,024 < 0,05$ ) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır (tablo 4.2).

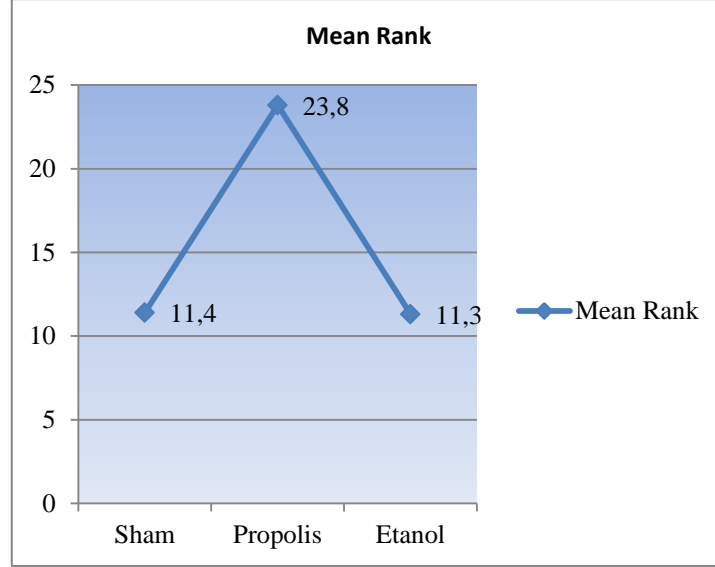
Denek grupları mikroskopik Zühlke adezyon skalası haricinde vasküler proliferasyon derecesi, inflamasyon derecesi, fibrozis derecesi ve yabancı cisim reaksiyonu yönünden ayrı ayrı mikroskopik olarak değerlendirildi. Bu değerlendirmenin gruplar arasındaki fibrozis derecelendirilmesi şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5. Fibrozis derecelendirilmesi

Mikroskopik olarak fibrozis derecelendirilmesinde sham grubunda altı ratta hafif fibrozis, iki ratta orta fibrozis, bir ratta şiddetli fibrozis görülürken, propolis grubunda dört ratta orta fibrozis, altı ratta şiddetli fibrozis, etanol grubunda yedi ratta hafif fibrozis, üç ratta orta fibrozis görülürken; sham grubunda bir ratta fibrozis, propolis grubunda hafif fibrozis, etanol grubunda ise şiddetli fibrozis görülmedi.

Denek grupları arasında mikroskopik değerlendirme Fibrozisin değişkeni açısından Kruskal Wallis testi ranks tablosuna göre sıra ortalaması değerleri şekil 4.6’da verilmiştir.

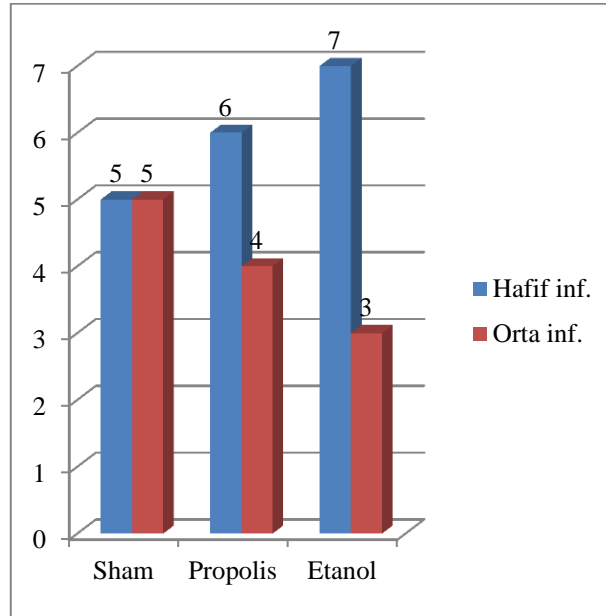


**Şekil 4.6.** Fibrozis sıra ortalama değerleri

Örneklem verilere göre propolis grubunda Fibrozis derecesinin daha şiddetli olduğu sham ve etanol grubunda benzer oranlarda olduğu görülmektedir (Şekil 4.6).

Denek gruplarının mikroskopik fibrozis değerlendirme değişkeni açısından Kruskal Wallis'e göre anlamlı farklılık göstermiştir. ( $p=0,001$ ) ( $0,001 < 0,05$ ).

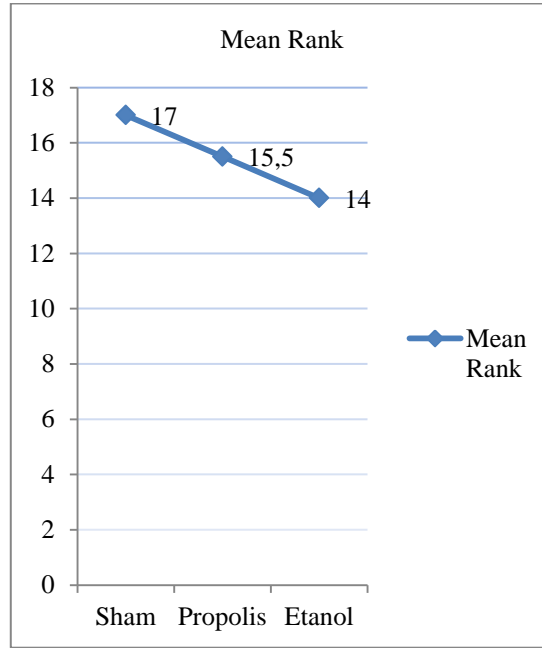
Denek grupları arasındaki İnflamasyon derecelendirilmesi şekil 4.7'de verilmiştir.



**Şekil 4.7.** İnflamasyon derecelendirilmesi

Mikroskopik olarak inflamasyon derecelendirilmesinde; sham grubunda beş ratta hafif inflamasyon, beş ratta orta inflamasyon, propolis grubunda altı ratta hafif inflamasyon, dört ratta orta inflamasyon, etanol grubunda yedi hafif inflamasyon, üç orta inflamasyon görüldü.

Mikroskopik olarak inflamasyonun Kruskal Wallis testine göre sıra ortalama değerleri şekil 4.8’da verilmiştir.

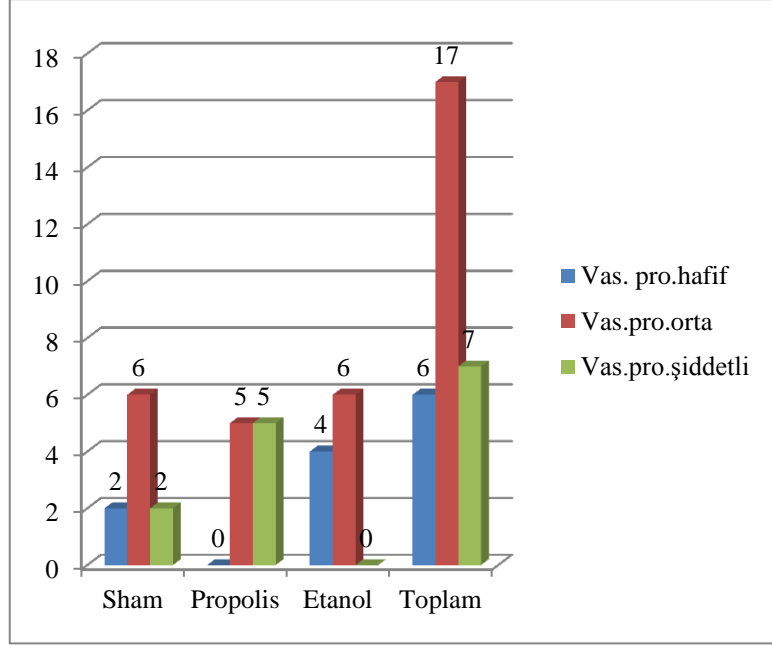


**Şekil 4.8.** İnflamasyon sıra ortalama değerleri

Yukarıdaki inflamasyon mean rank değerlerine göre sham grubunda inflamasyonun daha belirgin olduğu gözlenmektedir (Şekil 4.8).

Denek grupları arasında mikroskopik inflamasyon değerlendirme değişkeni açısından Kruskal Wallis’e göre anlamlı fark görülmemiştir. ( $p=0,668$ ) ( $0,668 > 0,05$ ).

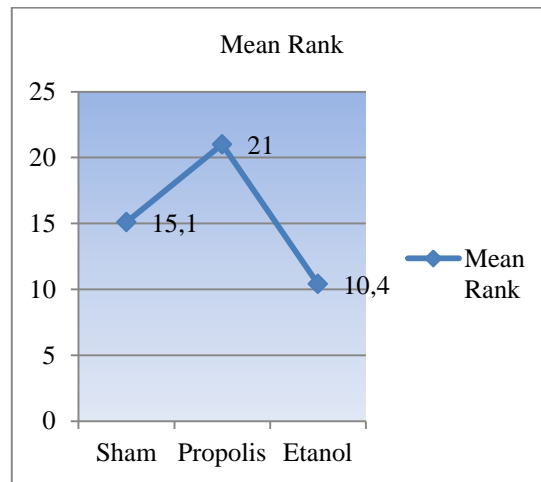
Denek grupları arasındaki vasküler proliferasyon derecelendirilmesi şekil 4.9’da verilmiştir.



**Şekil 4.9.** Vasküler proliferasyon derecelendirilmesi

Mikroskopik olarak vasküler proliferasyon derecelendirilmesinde sham grubunda iki ratta hafif, altı ratta orta ve iki ratta şiddetli vasküler proliferasyon, propolis grubunda beş ratta orta, beş ratta şiddetli vasküler proliferasyon, etanol grubunda dört ratta hafif, altı ratta orta vasküler proliferasyon hafif vasküler proliferasyon görülürken, propolis ve etanol grubunda şiddetli vasküler proliferasyon görülmedi.

Mikroskopik olarak vasküler proliferasyonun Kruskal Wallis testi Ranks tablosuna göre sıra ortalama değerleri şekil 4.10’da verilmiştir.

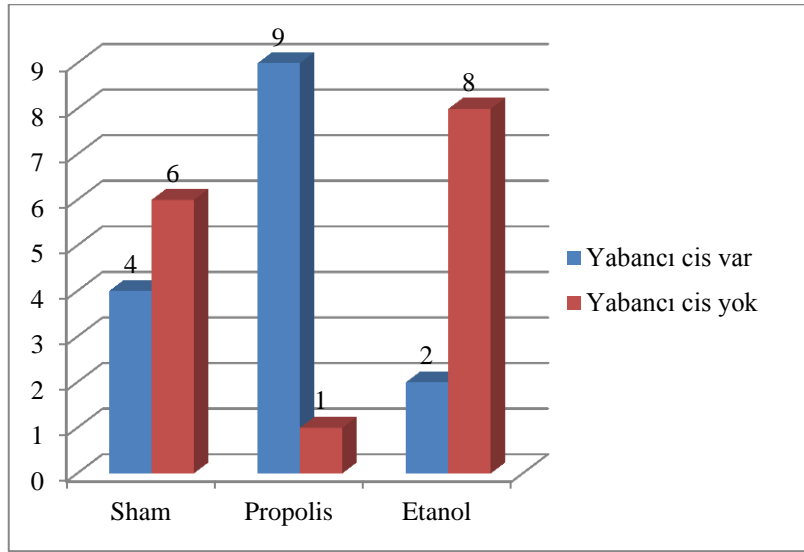


**Şekil 4.10.** Vasküler proliferasyon sıra ortalama değerleri

Vasküler proliferasyonun propolis grubunda daha belirgin, etanol grubunda düşük düzeyde olduğu görülmektedir (Şekil 4.10).

Denek grupları mikroskopik vasküler proliferasyon değerlendirme değişkeni açısından Kruskal Wallis'e göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstererek önemli bulunmuştur (  $p=0,010$ ) ( $0,010 < 0,05$ ).

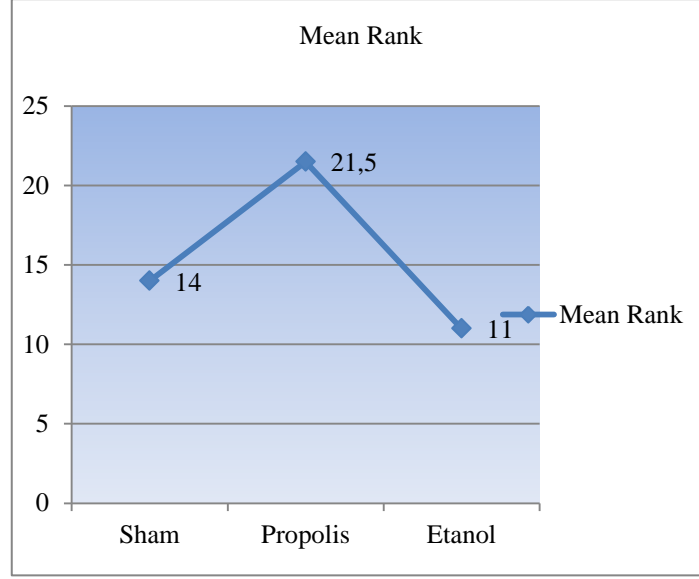
Gruplar arasındaki yabancı cisim reaksiyonu değerlendirilmesi şekil 4.11'de verilmiştir.



**Şekil 4.11.** Yabancı cisim reaksiyonu değerlendirmesi

Mikroskopik olarak yabancı cisim reaksiyonu değerlendirilmesinde; sham grubunda dört ratta yabancı cisim reaksiyonu, propolis grubunda dokuz ratta yabancı cisim reaksiyonu, Etanol grubunda iki ratta yabancı cisim reaksiyonu görülürken, sham grubunda altı ratta yabancı cisim reaksiyonu, propolis grubunda bir ratta yabancı cisim reaksiyonu, etanol grubunda, sekiz ratta yabancı cisim reaksiyonu görülmedi.

Mikroskopik olarak yabancı cisim reaksiyonunun Kruskal Wallis testine göre sıra ortalaması\_mean rank değerleri şekil 4.12'de verilmiştir.



**Şekil 4.12.** Yabancı cisim reaksiyonu sıra ortalama değerleri

Verilere göre yabancı cisim reaksiyonunun propolis grubunda daha fazla olduğu etanol grubunda daha az olduğu görülmektedir (Şekil 4.12).

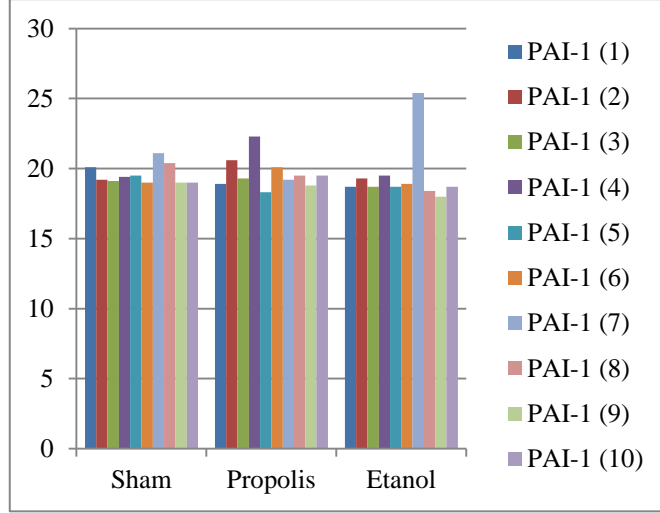
Gruplar arasında mikroskopik yabancı cisim reaksiyonu Kruskal Wallis'e göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi ( $p=0,007$ )( $0,007 < 0,05$ ).

### 4.3. Biyokimyasal değerlendirme

Biyokimyasal değerlendirme yapılırken fibrinolitik sistem ve oksidatif sistem parametreleri değerlendirildi.

Fibrinolitik sistem parametrelerinden PAI-1 değerleri üç grup içinde karşılaştırmalı olarak şekil 4.13'te verilmiştir.

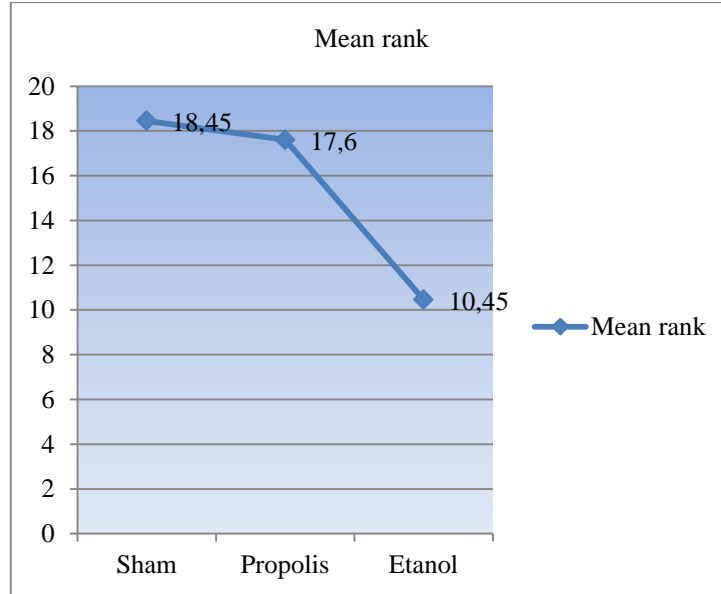




**Şekil 4.13.** PAI-1 sonuçları

Verilere göre sham grubunda PAI-1 değerleri 19,0 pg/ml ile 21,1 pg/ml, propolis grubunda PAI-1 değerleri 18,3pg/ml ile 22,3 pg/ml, etanol grubunda PAI-1 değerleri 18,0 pg/ml ile 25,4 pg/ml aralığında görüldü.

PAI-1 parametresinin Kruskal Wallis testi ranks tablosu sıra ortalama değerleri şekil 4.14'te verilmiştir.

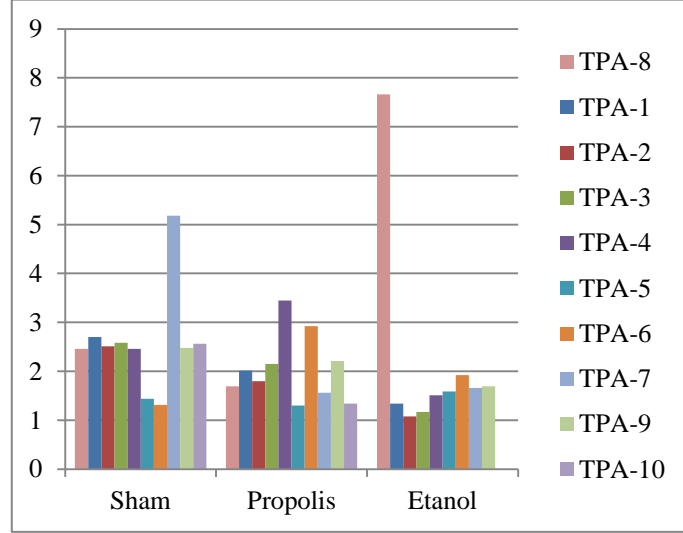


**Şekil 4.14.** PAI-1 sıra ortalama değerleri

PAI-1 sıra ortalama değerleri sham grubunda daha yüksek, etanol grubunda en az görüldü (Şekil 4.14).

PAI-1 değişkeni Kruskal Wallis'e göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi ( $p=0,082$ )( $0,082>0,05$ ).

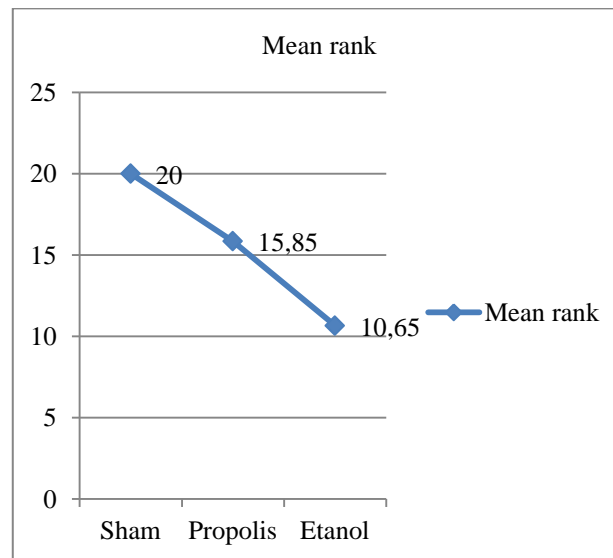
Fibrinolitik sistem parametrelerinden TPA değerleri denek grupları için karşılaştırılmal olarak Şekil 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.15. TPA sonuçları

TPA değerleri sham grubunda 1,31ng/ml ile 5,18 ng/ml, propolis grubunda 1,30 ng/ml ile 3,45 ng/ml, etanol grubunda 1,08 ng/ml ile 7,66 ng/ml aralığında görüldü.

TPA parametresinin Kruskal Wallis testi Rank tablosuna göre sıra ortalama değerleri Şekil 4.16'da verilmiştir.

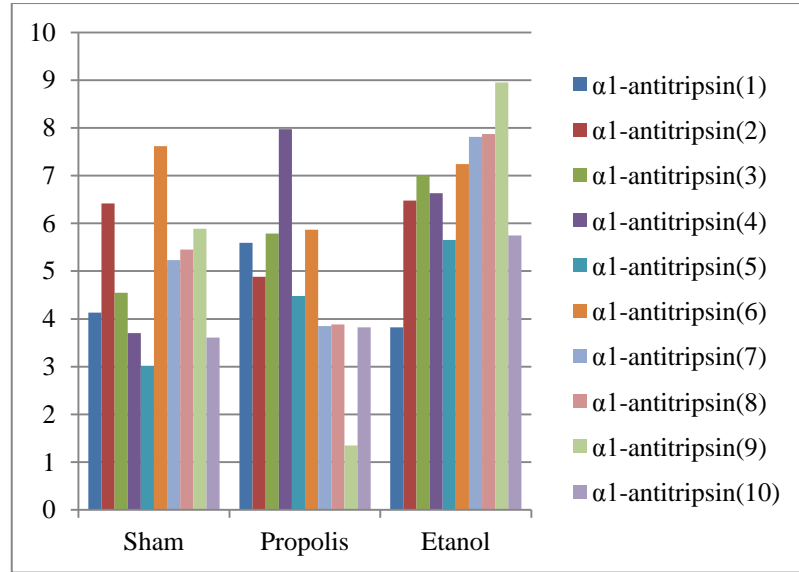


Şekil 4.16. TPA sıra ortalama değerleri

Rank tablosu değerlerine göre TPA değerleri sham grubunda daha yüksek bulunurken, etanol grunda en düşük bulundu (Şekil 4.16).

TPA değişkeni Kruskal Wallis'e göre değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ve önemli bulundu ( $p=0,029$ )( $0,029 < 0,05$ ).

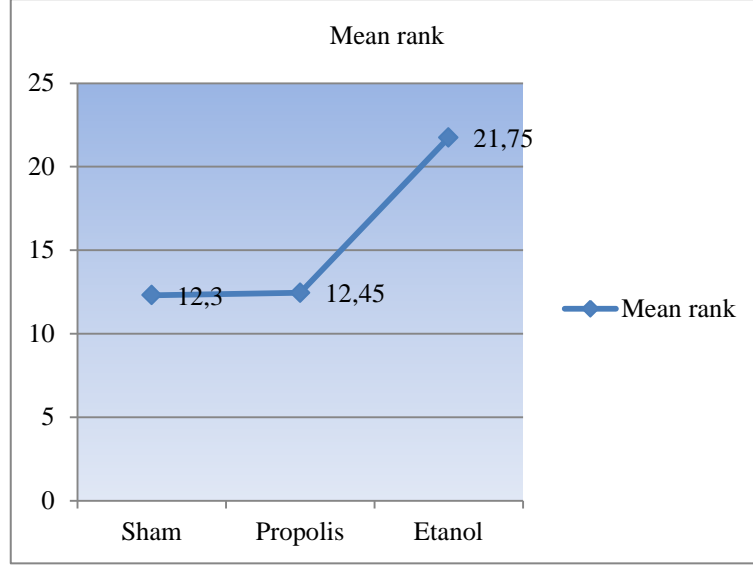
Fibrinolitik sistem parametrelerinden alfa1-antitripsin değerleri denek gruplarına göre karşılaştırmalı olarak şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Alfa1-antitripsin sonuçları

Alfa1-antitripsin değerleri; sham grubunda 3,01mg/ml ile 7,62 mg/ml, propolis grubunda 1,35 mg/ml ile 7,97 mg/ml, etanol grubunda 3,82 mg/ml ile 8,95 mg/ml değerleri arasında görüldü.

Alfa1-Antitripsin parametresinin Kruskal Wallis Testi ranks tablosuna göre sıra ortalama değerleri şekil 4.18'da verilmiştir.

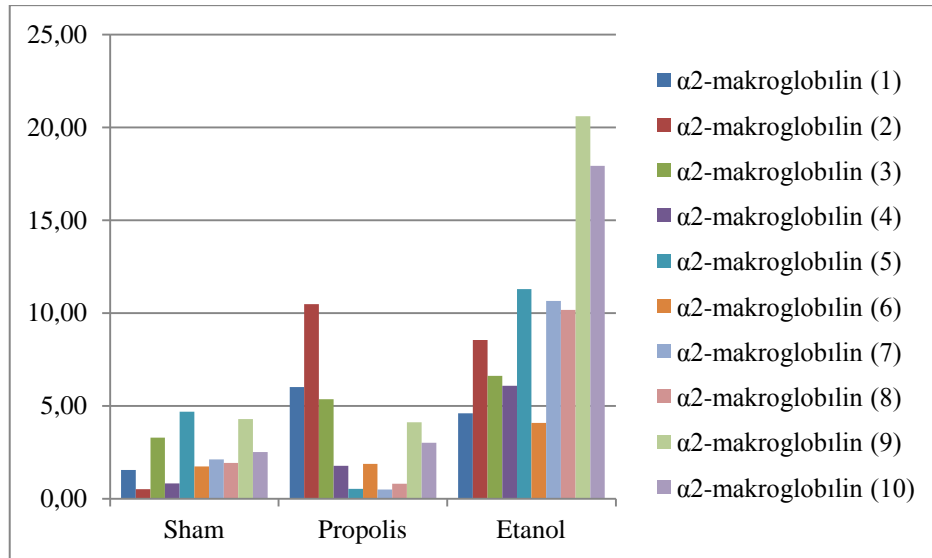


**Şekil 4.18** Alfa1-antitripsin sıra ortalama değerleri

Alfa1-Antitripsin değerleri; etanol grubunda daha yüksek bulunurken sham grubunda en düşük bulundu (Şekil 4.18).

Kruskal Wallis'e göre; Alfa1-Antitripsin değişkeni gruplar arasında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ve önemli bulundu( $p=0,023$ )( $0,023 < 0,05$ ).

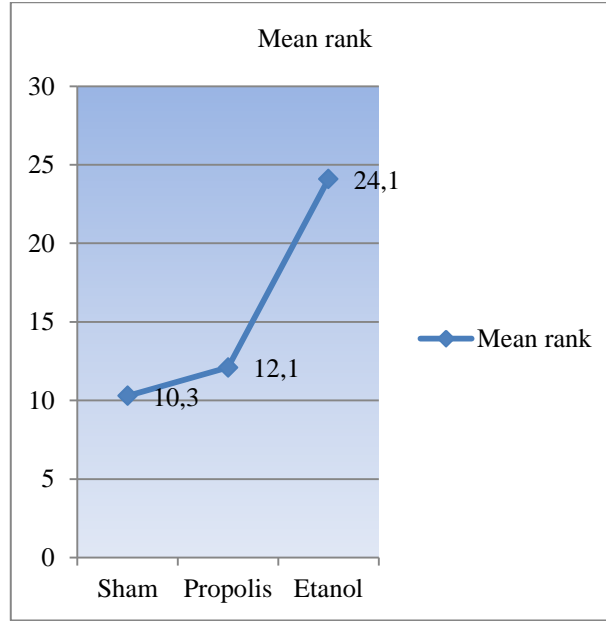
Fibrinolitik sistem parametrelerinden; Alfa2-makroglobulin değerlerini denek gruplarına göre karşılaştırmalı olarak şekil 4.19'de verilmiştir.



**Şekil 4.19.** Alfa2-makroglobulin sonuçları

Alfa2-makroglobulin değerleri sham grubunda 0,51µg/ml ile 4,68 µg/ml değerleri, propolis grubunda 0,49 µg/ml ile 10,47µg/ml, etanol grubunda 4,08 µg/ml ile 20,60 µg/ml değerleri arasında görüldü.

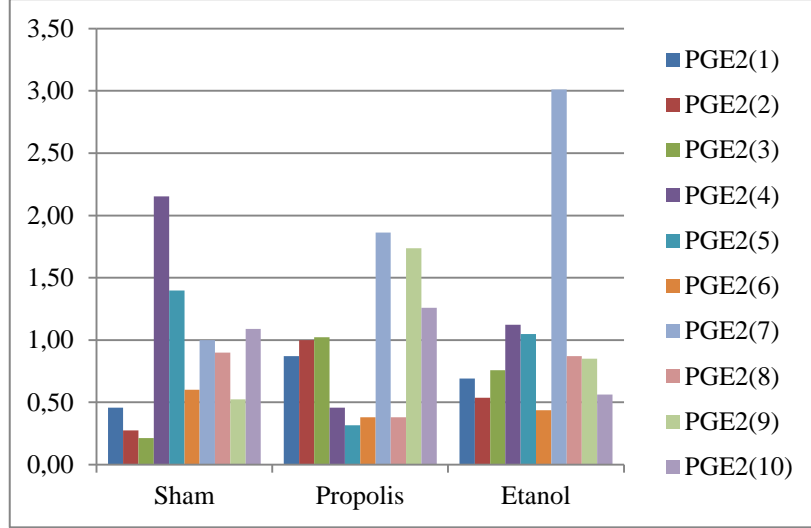
Alfa2-makroglobulin parametresinin Kruskal Wallis testi Ranks tablosuna göre sıra ortalama değerleri Şekil 4.20’de verilmiştir.



**Şekil 4.20.** Alfa2-makroglobulin sıra ortalama değerleri

Alfa2-Makroglobulin değeri etanol grubunda daha yüksek bulunurken, sham grubunda en düşük bulundu (Şekil 4.20). Kruskal Wallis’e göre; denek gruplarının Alfa2-makroglobulin deęiŐkenine göre farklılığı değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ve önemli bulundu ( $p=0,001$ )( $0,001<0,05$ ).

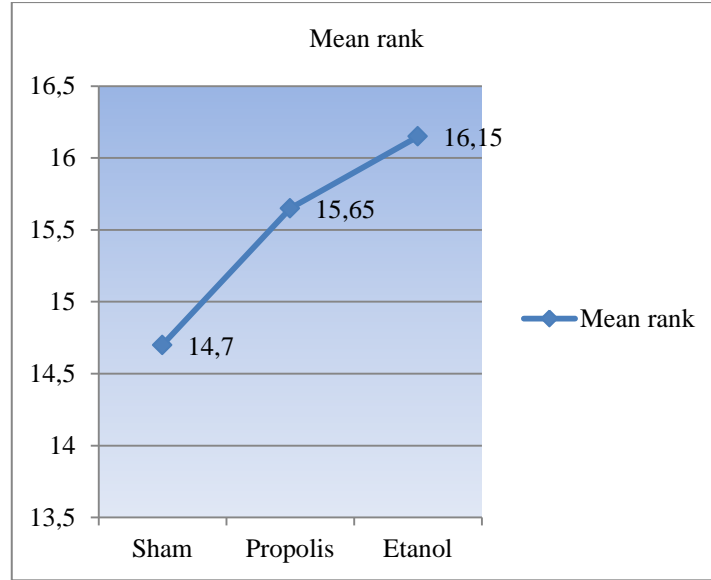
Adezyogenezis parametrelerinden PGE2 parametresinin denek grupları karşılaştırmalı değerleri Şekil 4.21’de verilmiştir.



**Şekil 4.21.** PGE2 Sonuçları

PGE2 değerleri sham grubunda 0,21 ng/ml ile 2,15 ng/ml, propolis grubunda 0,32 ng/ml ile 1,86 ng/ml değerleri, etanol grubunda 0,44 ng/ml ile 3,01 ng/ml değerleri arasında görüldü.

PGE2 parametresinin Kruskal Wallis Testi Ranks tablosuna göre sıra ortalama değerleri şekil 4.22’te verilmiştir.

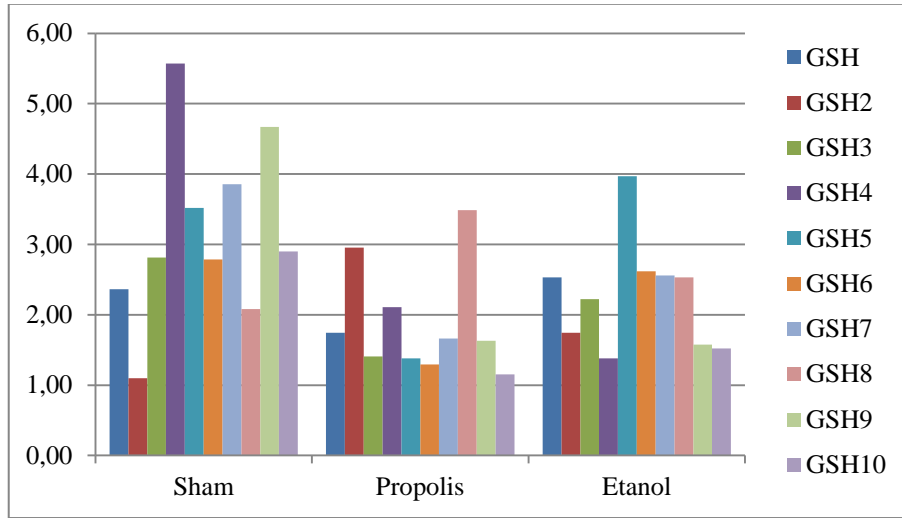


**Şekil 4.22.** PGE2 sonuçları sıra ortalama değerleri

PGE2 değeri etanol grubunda daha yüksek bulunurken sham grubunda en düşük bulundu (Şekil 4.22).

KruskalWallis'e göre; PGE2 parametresinin denek gruplarının farklılığı değerlendirildiğin de, istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. Farklılık önemli bulunmadı ( $p=0,932$ )( $0,932>0,05$ ).

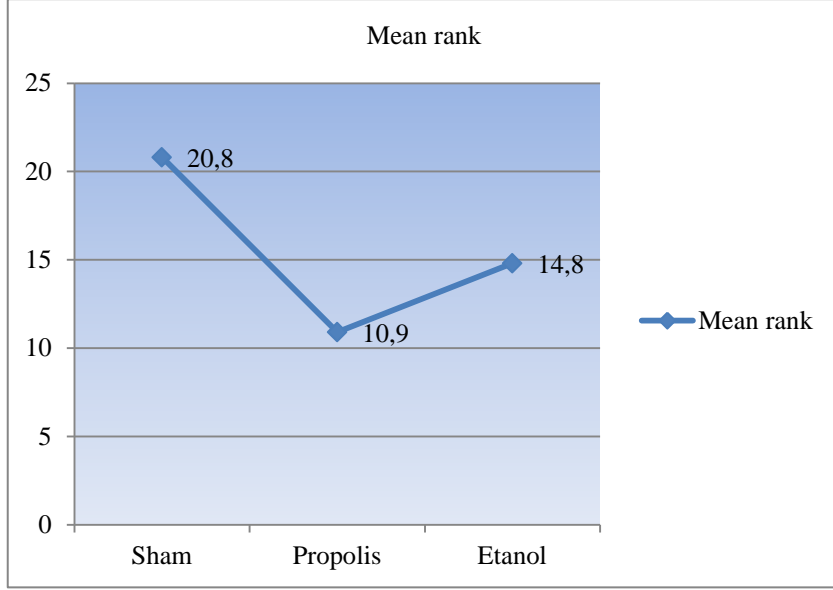
Oksidatif stres parametrelerinden GSH değerleri denek grupları karşılaştırmalı verileri şekil 4.23'te verilmiştir.



Şekil 4.23. GSH sonuçları

Oksidatif stres parametrelerinden GSH değerleri sham grubunda 1,10  $\mu\text{mol/g}$  ile 5,57  $\mu\text{mol/g}$ , propolis grubunda GSH değerleri 1,15  $\mu\text{mol/g}$  ile 3,49  $\mu\text{mol/g}$ , etanol grubunda GSH değerleri 1,38  $\mu\text{mol/g}$  ile 3,97  $\mu\text{mol/g}$  değerleri arasında görüldü.

GSH parametresinin Kruskal Wallis testi Mean Rank sıra ortalama değerleri şekil 4.24'te verilmiştir.

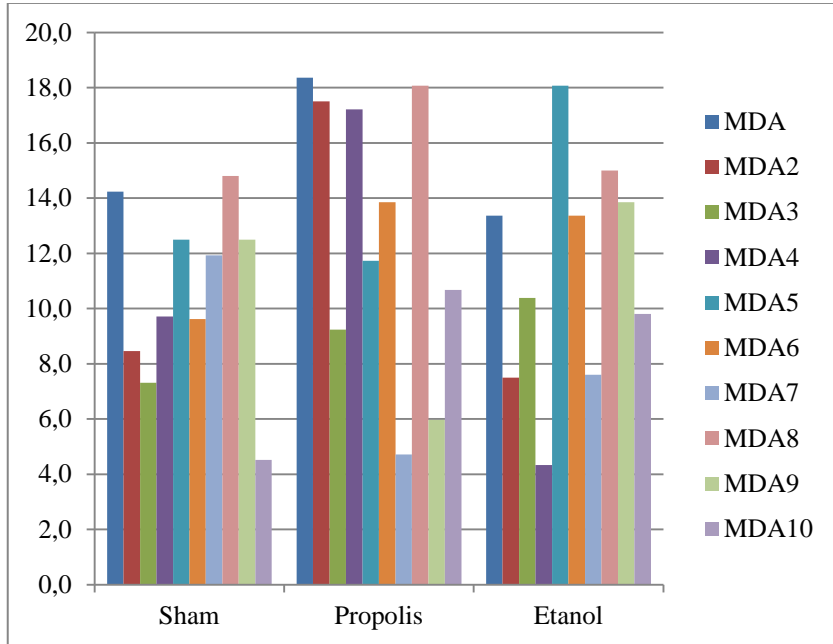


**Şekil 4.24.** GSH sıra ortalama değerleri

GSH değeri sham grubunda en yüksek bulunurken propolis grubunda en düşük düzeyde görüldü (Şekil 4.24).

KruskalWallis'e göre; GSH değişkeni denek grupları farklılığı değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ( $p=0,040$ )( $0,040 < 0,05$ ).

Oksidatif stres parametrelerinden MDA değerleri denek grupları karşılaştırmalı verileri şekil 4.25'de verilmiştir.

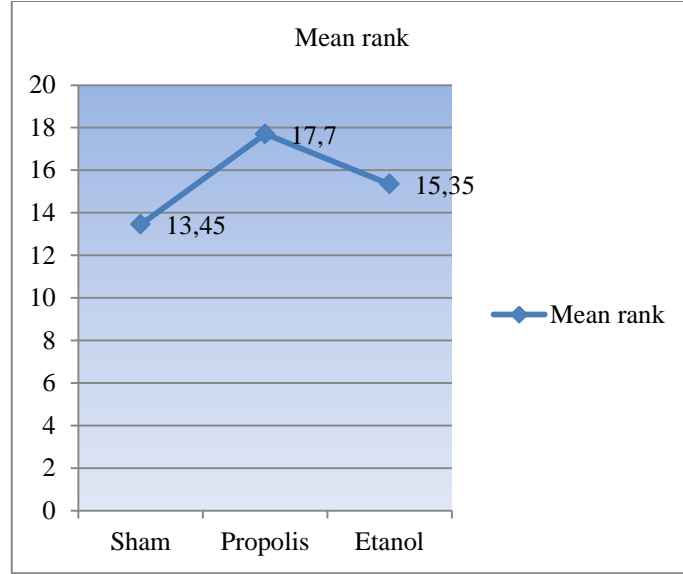


**Şekil 4.25.** MDA Sonuçları



MDA değerleri sham grubunda 4,5 nmol/gr ile 14,8 nmol/gr, propolis grubunda 4,7 nmol/gr ile 18,4 nmol/gr, etanol grubunda 4,3 nmol/gr ile 18,1 nmol/gr arasında görüldü.

MDA parametresinin Kruskal Wallis testi Ranks tablosu sıra ortalama değerleri Şekil 4.26'de verilmiştir.



Şekil 4.26. MDA sonuÇları sıra ortalama değerleri

Ranks tablosunda MDA değer, propolis grubunda en yüksek bulunurken, sham grubunda en az bulundu (Şekil 4.26).

Kruskal Wallis'e göre; Oksidatif stres parametrelerinden MDA deęiŐken değerlerinin denek grupları farklılığı değerlendirildiğin de, istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ( $p=0,554$ )( $0,554 >0,05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Karın içi yapışıklık hasta, cerrah ve toplum için önemli bir sorun kaynağıdır. Cerrahinin ilk uygulandığı günlerden beri, bütün cerrahlar en mükemmel ve kusursuz ameliyat yöntemi arayışındadırlar. Fakat cerrahi tekniklerdeki ilerlemelere rağmen yapışıklık oluşumu, cerrahinin önemli sorunlarından biri olmaya devam etmektedir. Genel cerrahi ameliyatları sonrası %67–93 arasında karın içi yapışıklık sıklığı görülürken, jinekolojik ameliyatlardan sonra %97'lere varan oranlarda yapışıklık sıklığı görülebilir. Hastanın ameliyat sayısı arttıkça bu oran da artmaktadır. Batın cerrahisinde yapılan ameliyatların %3'ü yapışıklık oluşumu nedeniyledir (13).

Mekanik travma, iskemi ve enfeksiyon; peritoneal plazminojen aktivatörlerini inhibe eder. Salınan mediyatörlerin etkisiyle damar geçirgenliği artar, inflamatuvar hücreler hasar bölgesine göç eder. Nötrofil ve makrofajların hasar bölgesine göçünü takiben, fibroblastlar ve mezenkimal hücreler, yara bölgesine gelirler. Hasar, mezenkimal hücre proliferasyonu ile epitelizasyon veya granülasyon yoluyla onarılır. Böylece aşırı fibrin birikimi sonucunda, yapışıklık oluşumu meydana gelir (97).

Yapışıklıkların gelişimi, ameliyat sırasında mümkün olduğunca dokunun korunarak, organ hasarları en az düzeyde tutularak, ortamda bulunan yabancı cisimlerin peritonla teması azaltılarak, titiz ve dikkatli bir hemostaz sağlayarak, eldiven ve dikiş malzemesi seçimine dikkat edilerek en aza indirilebilir. Ancak, tüm temel cerrahi kuralların tam uygulanması yine de bu sorunu ortadan kaldıramamıştır (94). Yapışıklık oluşumu sonrası birçok komplikasyonlar görülebilir. Yapışıklık nedeniyle ikinci ameliyat süresi uzar. İstenmeyen organ yaralanmaları meydana gelebilir (95).

Bu konuyu araştırmayı tercih etmemizin nedeni; literatürde karın içi yapışıklık oluşumunu önlemek amacıyla yapılan birçok deneysel çalışmada kesin bir çözümün elde edilememiş olmasıdır.

Bu çalışmada tek bir cerrah tarafından oluşturulan karın içi yapışıklıklar farklı üç yapışıklık skorlama sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ratlarda çalışmayı tercih etmemizin nedeni rat modellerinin yaygın olması, bu modellerde tecrübenin yaygın olması ve deneylerin tekrarlanabilir olmasıdır. Şu an yapışıklık oluşumunu klinik olarak %100

etkin şekilde önlediği gösterilen farmakolojik bir ajan yoktur (98). Mithat G. ve ark. (99) yaptığı çalışmada polietilenoksid, sodyum-karboksümetilselluloz, hyaluronan, oktenidin dihidroklorid, fenoksietanol ve surfaktan yapışıklığı önlemek için kullanıldı. Hepsinin bir dereceye kadar yapışıklığı önlediği ama hiçbirinin tam kesin çözüm olmadığı görüldü. Yapışıklık nedeni ile oluşabilecek komplikasyonlar sosyal ve ekonomik yük düşünüldüğünde tüm ameliyatlardan sonra uygulanabilecek etkin ve ekonomik olarak uygun bir ajanın veya çeşitli ihtiyaçlara uygun olabilecek ajanların geliştirilmesi gereklidir. Uzun yaşam beklentisi olan, ameliyat geçiren çocuk ve gençlerin yapışıklık oluşumu için artmış risk grubunda olduğu kabul edilebilir. Yapışıklıkların hasta, toplum ve sosyal güvenlik sistemlerine getirdiği yük, göz önüne alındığında profilaksi için öncelikli olarak bu gruba giren hastaların ve relaparotomi planlanan hastaların aday olduğu belirtilebilir.

Makroskopik Nair adezyon skalası ve mikroskopik Zühlke adezyon skalasına göre propolis grubunda diğer gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak daha fazla yapışıklık görülürken, etanol ile sham grubu arasında istatistiksel farklılık görülmedi. Mirzoeva ve ark. (88) inflamasyonun medikal i.p. indükleme yolu ile yapıldığı ve indüksiyondan 10 dk önce %10'luk etanol çözeltisinde hazırlanmış 80 mg/kg propolis 1 ml solüsyon (indüksiyon çözücüsü) içerisinde ve kontrol grubunda ise 1 ml aynı solüsyon içerisinde aynı miktar etanol %1'den fazla olmayacak şekilde uygulanmış ve bunlar indüklenme yapılmayan grup ile karşılaştırılmış; indüksiyon yapıp propolis verilen grupta sadece indüksiyon yapılan kontrol gruba göre inflamatuvar biyokimyasal parametrelerin azaldığı görülmüş. Yine Mirzoeva ve ark. (88) üç hafta boyunca propolisten zenginleştirilmiş diyet (%0,2/kg propolis etanol ekstrad) uygulanan deneklerin propolis uygulanmayan grup ile karşılaştırıldığı çalışmada propolis grubunda inflamatuvar biyokimyasal değerlerin yüksek olduğu görülmüş ve bu paradoksun uzun süreli anti-inflamatuvar yanıtta makrofajların adapte olduğu ve bunlara karşı inflamatuvar süreci tetiklediği öne sürülmüştür. Bu çalışmada propolisin üç hafta karın içinde kalmış olması, propolisin ve çözücüsünün dozunun yüksek olması yapışıklığı arttıran faktörler olarak yorumlandı.

Propolis grubunda sakrifikasyon işlemi sırasında makroskopik (resim:8) olarak karın içinde organlar üzerinde sarımsı renkte partiküllerin olduğu ve bu alanlarda yapışıklığın daha fazla olduğu görüldü. Yapışıklıklar, mikroskopik olarak fibrozis, inflamasyon, vasküler poliferasyon ve yabancı cisim reaksiyonu derecelendirilerek değerlendirildi.

Mirzoeva ve ark. (88) yapmış olduğu çalışmada propolis bileşenlerinin inflamasyonu azaltıcı etkisinin doz bağımlı olduğu gösterilmiştir. LTB4 ve LTC4 inhibisyonu için IC50= 0,5µM civarındır. PGE2 düzeyi CAPE dozu arttıkça plato çizerek azalır. Quercetin'in lipooksijenaz inhibitör özelliği sadece 2,5µM üzerinde olduğunda etkindir. Bu dozlarda inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada uygulanan propolisin yüksek verilmesine rağmen gruplar arasında histopatolojik inflamasyon değerlendirilmesinde anlamlı fark yoktu. Üç hafta boyunca inhibitörün intraperitoneal alanda kalması, inflamatuvar sistem tarafından adaptasyona uğraması ve bu inhibitör anti-inflamatuvarlara karşı immun sistemin farklı yollardan inflamatuvar sistemi uyarması nedeniyle tüm gruplarda benzer oranlarda inflamasyonun görüldüğü yönünde yorumlandı.

Vasküler proliferasyon, fibrozis ve yabancı cisim reaksiyonu açısından propolis grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yapışıklık görüldü. Erhan A. ve ark. (100) 40 rat üzerinde yaptıkları çalışmada abrazyon alanına bal uyguladıktan sonra 5 ml balı karın içinde bırakmışlar ve kontrol grubuna abrazyon sonrası karın içi SF ile yıkama yapıldıktan sonra 5 ml SF'i karın içinde bırakmışlar ve 10. gün sakrifiye etmişler. Bal grubunda yapışıklığın daha az olduğu makroskopik olarak görülmüş ve istatistiksel olarak yapışıklığın azlığı anlamlı bulunmuştur. Bu yapışıklığı azaltmadaki etkisi balın yara iyileşmesini hızlandırmasına ve yoğun dansitede olması nedeniyle peritondan yavaş emilip bariyer etkisi yaparak yapışıklığı azaltmış olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmamızda beklediğimiz etki propolisin bal gibi hem mekanik bariyer görevi yaparak hemde anti-inflamatuvar mekanizmayla yapışıklığı azaltarak etki etmesiydi ancak yapışıklığın daha fazla artmış olduğu görüldü.

Propolisin uzun süreli intraperitoneal mesafede bırakılması ve uygulanan miktarın ve çözücüsünün konsantrasyonunun yüksek olması, propolisin inhibitör etkisinin adaptasyonu sonucu propolise karşı inflamatuvar sürecin başlamasına ve yabancı cisim reaksiyonuna neden olduğu ve böylelikle vasküler değişikliklerin ve fibrozisin daha fazla olduğu yorumu yapılabilir. Sforcin JM tarafından yazılan derlemede (101) propolisi kısa süreli uygulamanın immun sistem üzerinde daha iyi sonuçlar verdiği ifade edilmiştir. Khayyal ve ark. (102) propolisin %13'lük sulu ekstradının hafif-orta derece astım hastalarına 2 ay boyunca hergün adjuvan ajan olarak uygulanmasının etkilerini araştırmıştır. Çalışmaların sonunda propolis alan hastalar prostaglandinlerin, lokötrienlerin proinflamatuvar sitokinlerin (TNF-α, IL-6, IL-8) azalması ve IL-10'un artışı ile

ilişkilendirilen noktural atakların sayısında ve şiddetinde azalma ve solunum fonksiyonlarında iyileşme göstermiştir. Ratlara 14 gün boyunca 200 mg/kg propolis uygulaması, IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-2 ve IL-10'un dalak hücreleri tarafından üretilmesini inhibe etmesi propolisin anti-inflamatuar aktivitesini açıklar (101).

Gruplar biyokimyasal parametrelere göre değerlendirilirken yapışıklık üzerine etki eden inhibitör ve aktivatör faktörler değerlendirilmiş ve inflamasyon farklı yollar üzerinden tetkik edilmiştir.

İstatistiksel olarak gruplar arasında TPA açısından sham grubunda anlamlı yükseklik görülmekle birlikte PAI-1 düzeylerinde istatistiksel anlamlı fark görülmemiştir. Alfa-1 antitripsin ve alfa-2 makroglobulin düzeyleri açısından etanol grubunda istatistiksel anlamlı yükseklik gözlenmiştir. Cardenas JC ve ark. (103) yapmış olduğu çalışmada hiperfibrinolizin travma hastalarının %10'unda görüldüğü ve TPA düzeyinin artmasının PAI-1 düzeyinin azalması ile korele olduğu ifade edilmektedir. Çalışmamızda profibrinolitik ve antifibrinolitik sistem parametrelerinin makroskopi ve mikroskopi ile korele olmadığı görülmüştür. Propolis grubunda PAI-1 ve TPA düzeyi yüksekliklerinin beraber olması, fazla fibrin üretimi nedeniyle peritoneal plazminin fibrin yıkma kapasitesini aşmış olması şeklinde yorumlandı.

İstatistiksel olarak üç grup arasında PGE2 düzeyi yönünden anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir. O. K. Mirzoeva ve ark. (88) yapmış olduğu çalışmada i.p. propolis uygulamasının PGE2 düzeyini azalttığı, oral uygulanan grupta PGE2 düzeyini arttırdığı ve doz bağımlı olduğu gösterilmiştir. PGE2 düzeyinin normal olması propolis miktarı ve uygulama şekliyle etkilendiği yorumu yapıldı.

İstatistiksel olarak GSH düzeyleri gruplar arasında sham grubunda anlamlı yükseklik göstermekteyken MDA düzeyleri gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermemektedir. Salih C. Ve ark. (104) 40 rat üzerinde yaptıkları çalışmada oral yoldan uygulanan bal ve polenin MDA düzeylerini düşürdüğü, eş zamanlı GSH düzeylerini yükselttiği, fibrozis ve inflamasyonu azalttığı ve adezyonu azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda propolis grubunda GSH düzeyi en düşük ve MDA düzeyi en yüksek düzeydedir. Çalışmamız propolisin anti-oksidan etkisinin immun sistem tarafından baskılanarak inflamatuvar sürecin fibrozis ve adezyogenezisi arttırdığı şeklinde yorumlandı.

## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

İntraperitoneal propolis solüsyonunun uygulandığı ve ameliyat sonrası adezyonları önlemeyi amaçladığımız bu çalışmada elde edilen makroskopik, mikroskopik ve biyokimyasal parametreler ışığında şu sonuçlara ulaşıldı;

1)İntraperitoneal uygulanan 0,4ml 900 mg/kg propolis (%96'lık etanol içinde) istatistiksel olarak makroskopik anlamda yapışıklıkları artırmıştır.

2)Propolis istatistiksel olarak mikroskopik anlamda yapışıklıkları artırmıştır.

3)Propolis istatistiksel olarak fibrozis, vasküler proliferasyon ve yabancı cisim reaksiyonunu anlamlı şekilde artırmıştır.

4)Propolis istatistiksel olarak GSH düzeyini anlamlı şekilde düşürmüştür.

Bu sonuçlardan hareketle propolisin %96'lık çözeltide çözülmüş olması, i.p. uygulaması nedeniyle yapışıklıkları arttırması, oksidatif stresi arttırması propolisin bu doz ve çözelti konsantrasyonunda kullanılmaması gerektiğini düşündürmektedir.

Propolisin peritoneal lavaj şeklinde uygulanıp daha kısa süreli temasın sağlanması, çözücüsünün konsantrasyonunun düşürülmesi veya çeşidinin değiştirilmesi, propolis doz ayarlamasının daha düşük olarak tekrar gözden geçirilmesi başkaca çalışmalarda propolisin intraperitoneal adezyonlar üzerine etkinliğini değerlendirmede uygulanabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Alataş E, Kafkaslı A. Adezyonların oluşumunun önlenmesinde intraperitoneal flavanoid (Daflon 500 mg) tedavisinin rolü. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, bölüm. 6, sayfa 1-5, 1999.
2. Günay C, Sağlıyan A, Yaman İ. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan intraabdominal adezyonların önlenmesinde aprotinin ile metilen mavisinin etkinliğinin karşılaştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, bölüm. 19, sayfa 51-55, 2005.
3. Attard JA, MacLean AR. Adhesive small bowel obstruction: epidemiology, biology and prevention. *Can J Surg*; 50, 291-300, 2007.
4. Dinsmore RC, Calton WC, Harvey SB, Blaney MW. Prevention of adhesions to polypropylene mesh in a traumatized bowel model. *J Am Coll Surg*; 191, 131-136, 2000.
5. Johns DA, Ferland R, Dunn R. Initial feasibility study of a sprayable hydrogel adhesion barrier system in patients undergoing laparoscopic ovarian surgery. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*; 10, 334-338, 2003.
6. Oncel M, Remzi FH, Senagore AJ, Connor JT, Fazio VW. Application of Adcon-P or Seprafilm in consecutive laparotomies using a murine model. *Am J Surg*; 187, 304-308, 2004.
7. Risberg B. Adhesions Preventive strategies. *Eur J Surg*; 577, 32-39, 1997
8. Zorluoğlu A, Yılmazlar T, Koru N, Kaya E, Şavkın B, Kızıl A. Adheziv incebarsak tıkanıklığı. *Kolon ve Rektum Hastalıkları Dergisi*. bölüm. 1, sayfa 1-5, 1991.
9. Millar AJW. Abdominal shake for early postoperative adhesive obstruction. *Journal of Pediatric Surgery*; 41, 2098– 2100, 2006.
10. Ellis H, Moran BJ, Thomson JN, Parker MC, Wilson MS, Manziés D, Guire AM, Lower AM, Harthorn RJS, Brien F Butchan S, Crowe AM. 35 Adhesion-related hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study; 353, 1476-1480, 1999.
11. Ellis H. The clinical significance of adhesions: focus on intestinal obstruction. *Eur J Surg*; 577, 5-9, 1997.

12. Menzies D, Parker M, Hoare R, Knight A. Small bowel obstruction due to postoperative adhesions: treatment patterns and associated costs in 110 hospital admissions. *Ann R Coll Surg Engl*; 83, 6-40, 2001.
13. Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruction forms adhesions-how big is the problem? *Ann R Coll Surg Engl*; 72, 3-60, 1990.
14. Ellis H, Moran BJ, Thomson JN, Parker MC, Wilson MS, Manzies D, Guire AM, Lower AM, Harthorn RJS, Brien F Butchan S, Crowe AM. Adhesion-related hospital readmissions after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. *Lancet*. 353, 1470-1480, 1999.
15. Marks G, Mohiudden M. The surgical management of the radiation-injured intestine. *Surg Clin North Am*; 63, 81-96, 1983.
16. Manesh AK, Ardakani JV, Behjati HR, Nylund GN, Delbro D. The Effect of Opioids on the Development of Postoperative Intra-Abdominal Adhesions. *Digestive Diseases and Sciences*; 51, 560–566, 2006.
17. Lower AM, Hawathorn RJS, Clark D, Boyd JH, Finlayson AR, Knight AD, Crowe AM. Adhesion-related readmissions following gynaecological laparoscopy or laparotomy in Scotland: an epidemiological study of 24046 patients. *Human Reproduction*; 19, 1877–1885, 2004.
18. Fukasawa M, Yanagihara DL, Rodgers KE, diZerega GS. The mitogenic activity of peritoneal tissue repair cells: control by growth factors. *J Surg Res*; 47, 45-51, 1989.
19. Kovacs EJ. Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunol Today*; 12, 17-23, 1991.
20. Rodgers KE, diZerega GS. Function of peritoneal exudate cells after abdominal surgery. *J Invest Surg*; 6, 9-23, 1993.
21. Kaidi AA, Gurchumelidze T, Nazzal M, Figert P, Vanterpool C, Silva Y. Tumor necrosis factor-alpha: a marker for peritoneal adhesion formation. *J Surg*; 58, 516-518, 1995.
22. Hershlag A, Otterness IG, Bliven ML, Diamond MP, Polan ML. The effect of interleukin-1 on adhesion formation in the rat. *AM J Obstet Gynecol*; 165, 771-774, 1991.
23. Kaidi AA, Nazzal M, Gurchumelidze T, Ali MA, Dawe EJ, Silva YJ. Preoperative administration of antibodies against tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and interleukin-1 (IL-1) and their impact on peritoneal adhesion formation. *Am Surg*; 61, 569-572, 1995.



24. Saba AA, Godziachvili V, Mavani AK, Silva YJ. Serum levels of Interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha correlate with peritoneal adhesion grades in humans after major abdominal surgery. *Am Surg*; 64, 734-737, 1998.
25. Gemici K, Çifter Ç. Mide visseral periton hasarı üzerine bioresorbabl HA membran uygulamasının postoperatif adezyon oluşumuna etkisi. Uzmanlık tezi, Ankara, 2001.
26. İto T, Yeo Y, Highley GB, Bellas E, Benitez A, Kohane D. The prevention of peritoneal adhesions by in situ cross-linking hydrogels of hyaluronik acid and cellulose derivatives. *Biomaterials*; 28, 975-983, 2007.
27. Gomel V, Urman B, Gurgan T. Pathophysiology of adhesion formation and strategies for prevention. *J Reprod Med*; 41, 35-41, 1996.
28. Zhou J, Elson C, Lee TD. Reduction in postoperative adhesion formation and re-formation after an abdominal operation with the use of N, O -carboxymethyl chitosan. *Surgery*; 135, 307-312, 2004.
29. Hooker GD, Taylor BM, Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in the rat model of ventral hernia repair with polypropylen mesh; 125, 211-216, . 1999.
30. Rodgers K, Cohn D, Hotovely A, Pines E, Diamond MP, diZerega G. Evaluation of polyethylene glycol/polylactic acid films in the prevention of adhesions in the rabbit adhesion formation and reformation sidewall models. *Fertil Steril*; 69, 403-408, 1998.
31. Wittman DH, Walker AP, Condon RE. Peritonitis and intraabdominal infection: Principles of Surgery, Schwartz S, Shires G, Spencer F (eds) McGraw-Hill, New York. Vol.6, 1449-1483, 1991.
32. Chiang SC, Cheng CH, Moulton KS, Kasznica JM, Moulton SL. TNP-470 Inhibits Intraabdominal Adhesion Formation. *J Pediatr Surg*; 35, 189-196, 2000.
33. Günerhan Y, Köksal N, Gündüz Ç, Peker Ö. Barsak seroza yaralanmalarında dikiş ve fibrin glue uygulanmasının inflamasyon ve yapışıklık üzerine etkisi. *Klinik ve Deneysel Cerrahi*; 2, 97-101, 2000.
34. Carter D, True L, Otis CN. Serous membranes: Hystology for pathologists. Sternberg SS (Ed) Springer, New York, p. 499-514, 1992.
35. Odar. *Anatomi Ders Kitabı (Güneş Kitabevi Ankara)*, sayfa 25-26, 1997.
36. Hiyama DT, Bennion RS. Peritonitis and intraperitoneal abscess: Maingot's Abdominal Operations. Zinner MJ, Schwartz SI, Ellis H (eds) Appleton&Lange, Stanford. Vol.2, 633-654, 1997.

37. Solomkin SJ, Wittman W, West MA, Barie PS. Intraabdominal infections: Principles of Surgery. Schwartz S.I (ed) McGraw-Hill Companies, New York. Vol.7, 1515-1550, 1999.
38. Autio V. The spread of intraperitoneal infection . Acta Chir Scand. Suppl. 321, 1-31, 1964.
39. Aysan E, Ayar E, Aren A, Cifter C. The role of intra-peritoneal honey administration in preventing post-operative peritoneal adhesions. Eur J Obstet Gynecol and Reprod Biol; 104, 152-155, 2002.
40. Boys F, Lehman EP. Heparin in the prevention of peritoneal adhesions: report of progres. Ann Surgery; 112, 969-974, 1942.
41. Wallwiener D, Meyer A, Bastert G. Adhesion formation of the parietal and visceral peritoneum: an explanation for the controversy on the use of autologous and alloplastic barriers? Fertility and sterility®; 68, 132-137, 1998.
42. Tingstedt B, Isaksson K, Andersson A, Andersson R. Prevention of Abdominal Adhesions –Present State and What’s beyond the Horizon? Eur Surg Res; 39, 259–268, 2007.
43. Chen Y, Hills B.A. Surgical Adhesions: Evidence for Adsorption of Surfactant to Peritoneal Mesothelium. Aust. N.Z. J. Surg; 70, 443–447, 2000.
44. Lee JH, Go AK, Oh SH, Lee KE, Yuk SH. Tissue anti-adhesion potential of ibuprofen-loaded PLLA–PEG diblock copolymer films. Biomaterials; 26, 671–678, 2005.
45. Oncel M, Kurt N, Remzi FH, Senu SS, Vural S, Gezen CF, Cincin TG, Olcay E. The effectiveness of systemic antibiotics in preventing postoperative, intraabdominal adhesions in an animal model. J Surg Res; 101, 52-55, 2001.
46. Skinner KC, Colt MJ, Caever RC, Bur JW. The evaluations of HAL-F biresorbable membrane for prevention of post surgical adhesion formation in two animal models. Proceedings of the 2nd International Symposium on Post Surgical Adhesions and Gynecologic Surgery. Palm Beach, Florida. p. 52, 1992.
47. diZerega GS. Contemporary adhesion prevention. Fertil Steril; 61, 219-235, 1994.
48. Risberg B. Adhesion preventive strategies. Eur J surg; 577, 32-39, 1997.
49. Yoldemir T, Sagol S, Adakan S, Oztekin K, Ozsender S, Karadadas N. Comparison of the reduction of postoperative adhesions by two barriers, one solution, and two pharmacologic agents in the rat uterine model. Fertility and sterility; 78, 335-339, 2002.

50. Altuntas YE, Kement M, Oncel M, Sahip Y, Kaptanoglu L. The effectiveness of hyaluronan carboxymethylcellulose membrane in different severity of adhesions observed at the time of relaparotomies: an experimental study on mice. *Disease colon & rectum* . Vol. 51, 1562-1565, 2008.
51. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Dervenis C, Young RL. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. *Recent advances in prevention and management. Dig Surg*;18: 260-273, . 2001.
52. 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.* 77: 671-688, 1997.
53. Fayez JA, Mutie G, Schneider PJ. Prevention of pelvic adhesion formation by different modalities of treatment. *Am J Obstet Gynecol.* 157: 1184-1188, 1987.
54. Sahakian V, Rogers RG, Halme J, Hulka J. Effects of carbon dioxidesaturated normal saline and Ringer's lactate on postsurgical adhesion formation in the rabbit. *Obstet Gynecol.* 82: 851-853, 1993.
55. Pagidas K, Tulandi T. Effects of Ringer's lactate, Interceed(TC7) and Gore-Tex Surgical Membrane on postsurgical adhesion formation. *Fertil Steril.* 57: 199-201, 1992.
56. Tulandi T. Adhesion prevention in laparoscopic surgery. *Int J Fertil Menopausal Stud.* 41: 452-457, 1996.
57. G.S. diZerega, S.J.S. Verco, P.Young, M.Kettel, W.Kobak, D.Martin, J.Sanfilippo, E.M.Peers, A.Scrimgeour and C.B.Brown. A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4%icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery. *Human reproduction* Vol.17, no:4 pp. 1031-1038, 2002.
58. Lundorff P, van Geldorp H, Tronstad SE, Lalos O, Larsson B, Johns DB, diZerega GS. Reduction of post-surgical adhesions with ferric hyaluronate gel: a European study. *Hum Reprod.* 16: 1982-1988, 2001.
59. Urman B, Gomel V. Effect of hyaluronic acid on postoperative intraperitoneal adhesion formation and reformation in the rat model. *Fertil Steril.* 56: 568-570, 1991.
60. Burns JW, Skinner K, Colt J, Sheidlin A, Bronson R, Yaacobi Y, Goldberg EP. Prevention of tissue injury and postsurgical adhesions by precoating tissues with hyaluronic acid solutions. *J Surg Res.* 59: 644-652, 1995.

61. Diamond MP. Reduction of de novo postsurgical adhesions by intraoperative precoating with Sepracoat (HAL-C) solution: a prospective, randomized, blinded, placebo-controlled multicenter study. The Sepracoat Adhesion Study Group. *Fertil Steril.* 69: 1067-1074, 1998.
62. Drollette CM, Badawy SZ. Pathophysiology of pelvic adhesions. Modern trends in preventing infertility. *J Reprod Med.* 37: 107-121, 1992.
63. Haney AF, Doty E. Murine peritoneal injury and de novo adhesion formation caused by oxidized-regenerated cellulose (Interceed [TC7]) but not expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex Surgical Membrane). *Fertil Steril.* 57:202-208, 1992.
64. The Surgical Membrane Study Group. Prophylaxis of pelvic sidewall adhesions with Gore-Tex surgical membrane: a multicenter clinical investigation. *Fertil Steril.* 57(4): 921-3, 1992.
65. Diamond MP., Linsky CB, Cunningham T, Constantine B, diZerega GS, DeCherney AH. A model for sidewall adhesions in the rabbit: reduction by an absorbable barrier. *Microsurgery.* 8: 197-200, 1987.
66. 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.* 66: 904-910, 1996.
67. Becker JM, Dayton MT, Fazio VW, Beck DE, Stryker SJ, Wexner SD, Wolff BG, Roberts PL, Smith LE, Sweeney SA, Moore M. Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *J Am Coll Surg.* 183: 406-407, 1996.
68. Beck DE. The role of Seprafilm bioresorbable membrane in adhesion prevention. *Eur J Surg Suppl.* 577: 49-55, 1997.
69. Almeida ec. Menezes H. Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. *J. Venom. Anim. Toxins.* 8, 191-212, 2002.
70. Marcucci MC. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* 26, 83-99, 1995.
71. Park YK, Ikegaki M, Abreu JA, Alcıcı NM. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ci. Tecnol. Aliment.* 18, 313-8, 1998.
72. Bankova VS, Popov SS, Marekov NL. Isopentenyl cinnamates from poplar buds and propolis. *Phytochemistry* 28, 871-3, 1989.

73. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. 73, 1-6, 2002.
74. Ackermann T. Fast chromatography study of propolis crudes. *Food Chemistry*. 42, 135-8, 1991.
75. Marcucci MC. Rodriguez J. Ferrerez F. Bankova V. Grotor, Popov S. Chemical composition of Brazilian propolis from São Paulo State. *Z. Naturforsch. Sect. C. Biosc.* 53, 117-9, 1998.
76. Montı M, Bertie E, Carminatı G, Cusını M. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis*. 9, 163, 1983.
77. Bankova V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J. Ethnopharmacol.* 100, 114-7, 2005.
78. Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeutics*. 96, 67-202, 2002.
79. Ghisalbertı EL. Propolis: a review. *Bee World*. 60, 59-84, 1979.
80. Diaz NJ. Quevedo AO. Luna SB. Determination of Fe, Mn, Zn, and Cu in an ethanolic extract of Cuban propolis. *Rev. CENIC. Ciências Químicas*. 28, 93-5, 1997.
81. Miyataka H. Nishiki M. Matsumoto H. Fijimoto T. Matsuka M. Satoh T. Evaluation of propolis. I. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biol. Pharm. Bull.* 20, 496-501, 1997.
82. Scheller S. Gadza G. Krol W. Czuba Z. Zajusz A. Gabrys J. Shanı J. The ability of ethanolic extract of propolis (EEP) to protect mice against gamma irradiation. *Z. Naturforsch. Sect. C. Biosc.* 44, 1040-52, 1989.
83. Orsı RO. Funarı RSC. Soares AMVC. Calvı AS. Oliveira SL. Sforcin JM. Bankova V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *J. Venom. Anim. Toxins*. 6, 205-19, 2000.
84. Marquele FD. DI mambro VM. Georgettı SR. Casagrande R. Valım YM. Fonseca MJ. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 39, 455-62, 2005.
85. Celık S. Gorur S. Aslantas O. Erdogan S. Ocak S. Hakverdı S. Caffeic acid phenethyl ester suppresses oxidative stress in *Escherichia coli*-induced pyelonephritis in rats. *Mol. Cell. Biochem.* 297, 131-8, 2007.

86. Gupta R. verma I. sharma S. Ganguly NK. Prevention of tissue injury in an ascending mouse model of chronic pyelonephritis–role of free radical scavengers. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 225-34, 2004.
87. Song YS. Park EH. Hur GM. Ryu YS. Lee YS. Lee JY. Kim YM. Jin C. Caffeic acid phenethyl ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Cancer Lett.* 175, 53-61, 2002.
88. Mirzoeva OK. Calder PC. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 55, 441-9, 1996.
89. Mamdelbaum SH. Santis EP. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An. Bras. Dermatol.* 78, 393-410, 2003.
90. Elkins TE, Bury RJ, Ritter JI. Adhesion prevention by solutions of sodium carboxymethylcellulose in rat. *Fertil Steril.* 41: 926-8, 1984.
91. Nair SK, Bhat KI, Aurora LA. Role of proteolytic enzyme in the prevention of postoperative adhesions. *Arch Surg.* Vol. 108, 849-853, 1974.
92. Buege, J.A. ve Aust, A.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology,* 302-310, 1978.
93. Ellmann, G.L. Tissue sulphhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics,* 82, 70-77, 1959.
94. Müller SA, Treutner KH, Jörn H, Anurov M, Oettinger AP, Schumpelick V. Adhesion prevention comparing liquid and solid barriers in the rabbit uterine horn model. *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive Biology;* 120, 222-226, 2005.
95. Luijendijk RW, de Lange DC, Wauters CC, Hop WC, Duron JJ, Paillet JL. Foreign material in postoperative adhesions. *Ann Surg;* 223, 242-248, 1996.
96. Menzies D. Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice. *Ann R Coll Surg Engl;* 75, 147-153, 1993.
97. Monk BJ, Berman ML, Montz FJ. Adhesions after extensive gynecologic surgery: clinical significance, etiology, and prevention. *Am J Obstet Gynecol.* Vol.170, 1396-1403, 1994.
98. Erensoy E, Ozturk V, Yazgan A, Ozdogan M. Effect of polylactic acid film barrier on intra-abdominal adhesion formation. *Journal of surgical research;* 147, 148-152, 2008.
99. Mithat G, Dilek G, Levent Y, Abdurrahman A, Burak T, Ünal B, H. Suat A, A.Tevfik S, Ender A, Rıza R, Ferit B. Comparison of Substances Used for Prevention of Intra-

- Abdominal Adhesions: An Experimental Study in Rats. Çocuk Cerrahisi AD, Patoloji AD, Halk Sağlığı AD, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji AD, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Samsun Türkiye Klinikleri J Med Sci 32(2):337-45, 2012.
100. Aysan E, Ayar E, Aren A, Cifter C. The role of intra-peritoneal honey administration in preventing post-operative peritoneal adhesions. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. Sep.10;104(2):152-5,2002.
  101. Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. J Ethnopharmacol. Aug 15;113(1):1-14,2007.
  102. Khayyal M.T, El-Ghazaly, M.A, El-Khatib, A.S, Hatem, A.M, De Vries, P.J.F, El-Shafei, S, Khattab, M.M. A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. Fundamental & Clinical Pharmacology 17, 93–102, 2003.
  103. Cardenas JC, Matijevic N, Baer LA, Holcomb JB, Cotton BA, Wade CE. Elevated tissue plasminogen activator and reduced plasminogen activator inhibitor promote hyperfibrinolysis in trauma patients. Shock. Jun;41(6):514-21, 2014.
  104. Celepli S, Kismet K, Kaptanoğlu B, Erel S, Ozer S, Celepli P, Kaygusuz G, Devrim E, Gencay O, Sorkun K, Durak I, Akkuş MA. The effect of oral honey and pollen on postoperative intraabdominal adhesions. Turk J Gastroenterol. Feb;22(1):65-72, 2011.