

بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی اثر نرمال سالین بر میزان چسبندگی پس از اعمال جراحی شکمی در نمونه موش صحرایی

دکتر فرزاد پناهی*، مهندس الیاس شهرام**، دکتر هادی خوش محبت***، دکتر غلامرضا کاکا****

دکتر سید همایون صدرايي****، دکتر محمد حسینعلی پور*****

چکیده:

زمینه و هدف: چسبندگی یکی از مشکلات شایع پس از اعمال جراحی شکمی و عامل درصد بالایی از بیماری‌هایی مانند: انسداد روده کوچک، نازایی و درد مزمن ناحیه شکمی است. هدف از این مطالعه بررسی اثر محلول نرمال سالین در جلوگیری از ایجاد چسبندگی پس از اعمال جراحی شکمی در نمونه موش‌های صحرایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق از تعداد ۳۰ سرموش صحرایی ماده بالغ نژاد Albino Wistar به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها به صورت تصادفی به ۳ گروه ۱۰ تایی شامل: گروه نرمال سالین (NS)، گروه شاهد و گروه بدون مداخله (تنها جهت مقایسه تغییرات وزنی)، تقسیم شدند. جهت انجام مطالعه پس از بیهوشی عمومی حیوان، برشی به طول ۳ سانتیمتر روی خط میانی شکم داده شد. سکوم و سطح قدامی غشای سروزی آن با استفاده از گاز استریل اندکی خراش داده شد. در گروه شاهد سکوم (پس از ایجاد خراش) به مدت ۱ دقیقه در هوای آزاد قرار گرفت و در گروه NS میزان ۱ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین داخل حفره پریتون ریخته شد و شکم بسته شد. سپس تمام حیوانات در شرایط کاملاً یکسان از لحاظ خوراک، دما و رطوبت نگهداری و پس از ۲ هفته معدوم شدند. میزان چسبندگی در ناحیه شکمی این حیوانات از دو طریق مشاهده ماکروسکوپی و بررسی پاتولوژیک بوسیله رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اتوزین ارزیابی شد. در تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون غیر پارامتریک Kruskal-Wallis همراه با آنالیز آماری Mann-Whitney U و از نرم افزار SPSS 13.5 استفاده گردید و اختلاف معناداری در این مطالعه $P\text{-value} \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: مشاهدات ماکروسکوپی در قالب دو شیوه ارزیابی شدت چسبندگی و درصد چسبندگی ارائه گردید و نشان از کاهش معنادار ($P < 0.05$) چسبندگی در گروه نرمال سالین داشت. همچنین بررسی‌های پاتولوژیک کاهش معنادار ($P < 0.05$) شاخص‌های پاتولوژیک چسبندگی در گروه نرمال سالین را مشخص کرد.

نتیجه‌گیری: استفاده از نرمال سالین پس از اعمال جراحی شکمی، در جلوگیری از ایجاد چسبندگی در ناحیه شکمی مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: چسبندگی، نرمال سالین، موش صحرایی

نویسنده پاسخگو: دکتر هادی خوش محبت

تلفن: ۸۰۵۳۷۶۶

E-mail: khoshmohabat@yahoo.com

* دانشیار گروه جراحی عمومی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات تروما

** کارشناس ارشد بیومواد، دانشگاه علم و صنعت ایران، گروه مهندسی بیومواد

*** استادیار گروه جراحی عمومی و تروما، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات تروما

**** دانشیار گروه بافت‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)، مرکز تحقیقات علوم اعصاب

***** استادیار گروه پاتولوژی، دانشگاه علم و صنعت ایران، گروه مهندسی بیومواد

تاریخ وصول: ۱۳۹۱/۱۱/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۰۱

زمینه و هدف

چسبندگی شایعترین عارضه پس از جراحی‌های شکمی - لگنی و عامل درصد بالایی از بیماری‌هایی مانند انسداد روده کوچک، ناباروری و درد مزمن لگنی است. تحقیقات نشان می‌دهد حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد زنانی که جراحی‌های زنانه پیچیده و تا ۹۳ درصد بیمارانی که جراحی شکمی داشته‌اند دچار چسبندگی می‌شوند. علیرغم پیشرفت‌های اخیر در تکنیک‌های جراحی، عواقب ناشی از چسبندگی کاهش چشم‌گیری نیافته‌اند.^۱

گسترش چسبندگی یک پدیده عمومی در پاسخ به ایجاد تروما، در صفاق است. تروما ممکن است منشاء التهابی داشته باشد یا در اثر جراحی و به علت عفونت، کم خونی، تحریک جسم خارجی (الکتروکوتر، بخیه، ذرات گاز پانسمان)، خشک شدن بافت، حرارت یا نور زیاد لامپ‌ها حین جراحی به وجود آید.^۲ هرچند که چسبندگی در اغلب بیماران (۸۵ درصد) صرف نظر از شیوه درمانی یا نوع چسبندگی، خود به خود برطرف می‌شوند، اما بیمارانی که چسبندگی در بدن آنها باقی می‌ماند عواقب دردناکی را تجربه می‌کنند.

از لحاظ بافت‌شناسی، فیبرین پس از خونریزی و التهاب جراحی، روی محل جراحت ته نشین می‌شود و در حین بهبود جراحی، فیبرین ته نشین شده گسترش می‌یابد و مانند پلی بین دو سطح بافت مجاور عمل می‌کند. فاکتورهای محلی تجزیه فیبرین (Fibrinolysis) آزاد می‌شوند که این پل فیبرینی را برطرف می‌کنند. گرچه جراحی، عفونت و هیپوکسی، این فعالیت را کم می‌کند. در این چرخه، فیبروبلاست‌ها و سایر سلول‌ها ممکن است به سمت پل مهاجرت نمایند و آن را تبدیل به چسبندگی نمایند.

به طور کلی، دو روش اصلی کاهش چسبندگی، استفاده از داروها و ممانعت‌کننده‌های فیزیکی است.

تعداد قابل توجهی از داروهای استروئیدی و غیراستروئیدی تاکنون به منظور خفیف کردن اثرات التهاب در حین پروسه تشکیل چسبندگی آزمایش شده‌اند، مانند عواملی که مانع سیتوکین‌های التهابی یا نفوذپذیری رگی می‌شوند. هرچند تعداد قابل توجهی از محققان موفقیت در استفاده این داروها در جلوگیری از چسبندگی در نمونه‌های حیوانی را گزارش نموده‌اند، با اینحال تاکنون هیچ کدام از داروها تأثیرات رضایت‌بخشی در آزمون‌های کلینیکی نداشته‌اند.^۳

از سوی دیگر، ممانعت‌کننده‌های فیزیکی به حالات مختلفی مانند: پلیمرهای محلول، غشاهای جامد، هیدروژل‌های

پیش ساخته یا قابل پیوند عرضی در محل، تاکنون ارزیابی شده‌اند.^۴ نحوه عملکرد این ممانعت‌کننده‌ها، جدا نگه داشتن فیزیکی دو پاره از بدن در فاصله ۳ تا ۵ روز بعد از جراحی است.

در مورد استفاده از نرمال سالین جهت کاهش ایجاد چسبندگی گزارش‌های متنوع و گاه متناقضی تاکنون ارائه شده است. هرچند مطالعات متعددی نشان از عدم تأثیر نرمال سالین در ایجاد چسبندگی صفاقی داشته‌اند^{۵-۸} و در بسیاری از تحقیقات نرمال سالین به عنوان شاهد در ارزیابی عملکرد سایر مواد در جلوگیری از ایجاد چسبندگی مورد استفاده بوده است. اما تحقیقات دیگری اثر مناسب آن را در جلوگیری از ایجاد چسبندگی گزارش کرده‌اند.^{۹-۱۳} از سوی دیگر وسترن و همکارانش تأثیر منفی نرمال سالین در تحریک چسبندگی شکمی را مطرح کرده‌اند.^{۱۴} با توجه به گزارش‌های متناقض در مورد نرمال سالین، مطالعه پیش روی، به عنوان بخشی از تحقیقات گروه در بررسی تأثیر انواع ممانعت‌کننده‌های فیزیکی و داروها در جلوگیری از ایجاد چسبندگی شکمی در نمونه موش‌های صحرایی و به منظور بررسی تأثیر نرمال سالین در اینگونه چسبندگی‌ها پیاده‌سازی شده است.

مواد و روش‌ها

انتخاب حیوان

پس از کسب مجوز اخلاق پزشکی تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده نژاد «Albino-wistar» با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه بقیه ا... تهیه شد. حیوانات تحت شرایط یکسان از نظر غذا، نور، آب و حرارت نگهداری شدند و سپس به صورت تصادفی در سه گروه مساوی ۱۰ تایی به ترتیب زیر تقسیم‌بندی شدند:

گروه یک، شاهد: در موش‌های صحرایی این گروه بعد از ایجاد خراش، سکوم به مدت ۱ دقیقه در هوای باز مانده و سپس به داخل حفره شکمی برگردانده شد.

گروه دو، نرمال سالین [Normal Saline (NS)]: در این گروه پس از ایجاد خراش، سکوم به ناحیه شکمی برگردانده و روی ناحیه، میزان ۱ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین ریخته شد.

گروه سه، بدون مداخله: موش‌های این گروه هیچ گونه جراحی نداشته و جهت مقایسه مشاهدات بالینی و تغییرات وزنی دو گروه درمان استفاده شدند.

شیوه جراح بدون اطلاع از نحوه گروه‌بندی حیوانات، شدت چسبندگی در هر حیوان را بر مبنای تعریف زیر تعیین می‌کند: شدت صفر (بدون چسبندگی)، شدت ۱ (نسبت مساحت قسمت دارای چسبندگی به کل قسمت خراش داده شده سکوم کوچکتر ۵۰٪ و چسبندگی به راحتی جدا می‌شود)، شدت ۲ (نسبت مساحت قسمت دارای چسبندگی به کل قسمت خراش داده شده سکوم بزرگتر ۵۰٪ و چسبندگی به راحتی جدا می‌شود)، شدت ۳ (ناحیه چسبندگی بزرگتر از ناحیه خراش داده شده سکوم است و جدا کردن چسبندگی مشکل و احتمال آسیب به دیواره روده وجود دارد)، شدت ۴ (ناحیه چسبندگی بزرگتر از ناحیه خراش داده شده سکوم و بسیار سفت است و امکان جدا کردن جز با ایجاد پارگی وجود ندارد).

در شیوه دوم با توجه به روش پیشنهادی تولاندی و همکارانش،^{۱۶} ناحیه شکمی حیوان مطابق تصویر ۱ از بالا تا پایین توسط یک خط طولی و ۳ خط عرضی به ۸ قسمت فرضی تقسیم و وجود چسبندگی در این نواحی گزارش و درصد چسبندگی با توجه به درصد اشغال این مناطق سنجیده شد. نحوه محاسبه به این ترتیب است که هر کدام از بلوک‌های هشت‌گانه ۱۲/۵٪ در نظر گرفته شده بدین ترتیب نمونه‌ای که تمام حفره شکمی در آن چسبندگی داشته باشد ۱۰۰٪ است و نمونه‌ای که ۲/۸ خانه از ۸ خانه چسبندگی برای آن ثبت شده باشد ۲۵٪ ثبت می‌گردد.

نحوه بررسی‌های پاتولوژی

در این بررسی از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین استفاده شد. پس از رنگ‌آمیزی نمونه‌ها، تمامی اسلایدها از لحاظ دو ویژگی فیروز و التهاب توسط متخصص پاتولوژیست که در مورد نحوه کدگذاری و گروه‌بندی نمونه‌ها کاملاً بی‌اطلاع بود، مورد بررسی قرار گرفت و درجه‌بندی بر اساس دو ویژگی با توجه به روال زیر توسط پاتولوژیست تعیین و ارزیابی شد:

شماره ۰- نرمال و شماره ۱ - دارای نشانه‌های فیروز یا التهاب (تصویر ۳).

سپس اعداد مربوطه در جداول نرم افزار SPSS وارد شده و آنالیز آماری روی این اطلاعات صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

در تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون غیر پارامتریک Kruskal-Wallis همراه با آنالیز آماری Mann-Whitney U و

بیپوش نمودن حیوانات

با تزریق درون صفاقی کتامین حیوانی ۱۰٪ (90mg/kg) (حدود ۰/۲ سی‌سی) و زایلازین ۲٪ (8 mg/kg) (حدود ۰/۱ سی‌سی) حیوانات پس از ۵ دقیقه به بیپوشی عمومی برده شدند.

ایجاد خراش در ناحیه سکوم

جهت ایجاد خراش، ابتدا حیوان در موقعیت Dorsal ثابت شده و شکم آن روی خط میانی به میزان ۳ سانتیمتر برش داده شد، سپس سکوم حدود ۳ سانتیمتر از شکاف جراحی خارج و سطح قدامی غشای سروزی با کمک گاز استریل خراش داده شد، جهت یکسان بودن میزان خراش، تمام جراحی‌ها توسط یک نفر انجام و گاز استریل در تمام نمونه‌ها ۳ مرتبه با فشار ثابت روی سکوم کشیده شد تا اندکی هایپرمی دیده شود. پس از انجام اقدام لازم در گروه‌های شاهد و نرمال سالین، سکوم به داخل حفره پریتونن بازگردانده شد. فاشیا و پوست با نخ نایلون ۳/۰ بسته شد. سپس تمام حیوانات در شرایط کاملاً یکسان از لحاظ خوراک، دما و رطوبت نگهداری و ۲ هفته پس از جراحی اولیه، زخم مجدداً باز شد و میزان چسبندگی شکمی بررسی گردید.

مشاهده ظاهری و نمونه‌برداری بافتی

۲ هفته بعد از مداخله، هر حیوان بعد از وزن‌کشی، به داخل ظرف شیشه‌ای دهان گشاد درپوشداری که محتوی مقداری پنبه آغشته به کلروفرم بود، منتقل شد و بعد از کشته شدن، حیوان بلافاصله به میز تشریح منتقل می‌شد. برش طولی خط وسط باز می‌شد و سپس از منطقه سکوم در تمامی حیوانات عکس‌برداری و پس از مشخص شدن شدت و درصد چسبندگی توسط یک جراح (مشاهدات ماکروسکوپی)، منطقه چسبندگی به همراه سکوم جدا شده و پس از شست و شو در محلول PBS داخل مایع تثبیت کننده فرمالدئید ۱۰٪ قرار گرفت و پس از انجام پردازش بافتی، مقاطع ۵ میکرونی از نمونه‌ها تهیه و ارزیابی‌های پاتولوژیک با استفاده از میکروسکوپ انجام شد.

نحوه ارزیابی مشاهدات ماکروسکوپی (چشمی)

در پژوهش حاضر مشاهدات ماکروسکوپی به دو شیوه گزارش شد. در شیوه اول از روش Bhatia با اندکی تغییر برای بررسی شدت چسبندگی استفاده شد^{۱۵} (تصویر ۲). در این

حیوانات طبق شیوه Bhatia آمده است. در هیچ کدام از دو گروه شدت چسبندگی بیشتر از ۲ مشاهده نشد.

نتایج حاصل از بررسی ماکروسکوپی نمونه‌ها بر طبق شیوه دوم (دسته بندی ۸ گانه) نشان از وجود بیشترین چسبندگی در قسمت پایین و سمت راست دید جراح (سمت چپ بدن حیوان) دارد. در این شیوه همچنین تعداد چسبندگی‌های موجود در هر کدام از ۸ خانه با توجه به دید جراح، شمارش شده و درصدبندی شده است. نتایج آنالیز آماری بررسی‌های ماکروسکوپی چسبندگی در جدول ۲ و نمودار ۲، آمده است.

همانطور که در نمودار ۲ مشخص است، دو شاخص ماکروسکوپی چسبندگی در گروه نرمال سالیین پایین‌تر از گروه شاهد است و بررسی‌های آنالیز آماری نشان می‌دهد که اختلاف معناداری بین دو گروه هم از لحاظ شدت چسبندگی ($P\text{-value} = 0.002$) و هم از لحاظ درصد چسبندگی ($P\text{-value} = 0.004$) وجود دارد.

نتایج بررسی‌های پاتولوژیک

نتایج حاصل از بررسی‌های پاتولوژیک فیبروز و التهاب در جدول ۳ آمده است. در گروه شاهد از ۸ حیوان آزمایش شده، ۴ حیوان نشانه‌های فیبروز و ۳ حیوان نشانه‌های التهاب داشته‌اند، درحالی‌که تمام نمونه‌های نرمال سالیین، از لحاظ دو ویژگی فیبروز و التهاب، نرمال ارزیابی شده‌اند. بدین ترتیب از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری هم از لحاظ التهاب ($P\text{-value} = 0.03$) و هم از لحاظ فیبروز ($P\text{-value} = 0.009$) بین دو گروه وجود دارد. در تصویر ۳ نمای میکروسکوپی دیواره سکوم در دو نمونه آمده است. در تصویر الف، دیواره سکوم نرمال و بخش‌های مختلف آن کاملاً قابل شناسایی است و در تصویر ب، باندهای چسبندگی اطراف غشای سرروزی را گرفته است.

از نرم افزار SPSS 13.5 استفاده گردید. مقادیر ارائه شده در نمودارها و جداول بر حسب $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ می‌باشد. اختلاف معناداری در این مطالعه $P\text{-value} \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی تغییرات وزن بدن

میانگین تغییرات وزن بدن موش‌ها بر حسب گرم در سه گروه شاهد، نرمال سالیین و گروه موش‌های بدون مداخله، در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود تفاوت معناداری بین تغییرات وزنی حیوانات در دو گروه شاهد و نرمال سالیین که جراحی داشته‌اند، در مقایسه با گروه موش‌های صحرایی بدون جراحی، وجود ندارد. بنابراین عمل جراحی تأثیری بر تغییرات وزن حیوانات پس از ۱۴ روز نداشته است.

مشاهدات بالینی

رفتار موش‌های صحرایی در دوره ۱۴ روزه پس از عمل جراحی، مورد بررسی قرار گرفت که به جز مرگ دو حیوان از گروه شاهد در روزهای اول و ششم پس از عمل جراحی، تغییر قابل ملاحظه‌ای در مقایسه رفتاری دو گروه، مشاهده نگردید.

نتایج بررسی‌های ماکروسکوپی (چشمی)

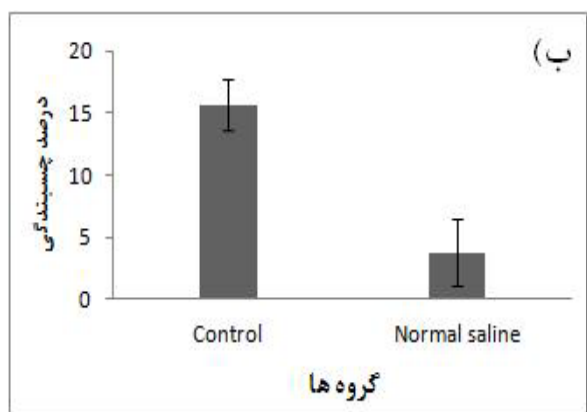
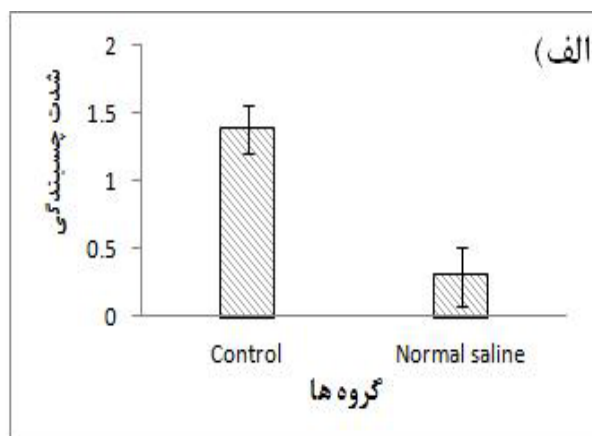
نتایج حاصل از بررسی‌های ماکروسکوپی طبق روش Bhatia در جدول ۱ نشان داده شده است.

همانطور که در جدول مشخص است، در گروه شاهد، پنج حیوان شدت چسبندگی ۱، سه حیوان شدت چسبندگی ۲ و دو حیوان هم خارج شده، گزارش شد که میانگین شدت چسبندگی این گروه ۱/۳۸ و در گروه نرمال سالیین، ۸ حیوان بدون چسبندگی، یک حیوان شدت چسبندگی ۱ و یک حیوان هم شدت چسبندگی ۲ داشته است که میانگین شدت چسبندگی این گروه ۰/۳ است. در تصویر ۲، نحوه درجه‌بندی

جدول ۱- نتایج بررسی ماکروسکوپی طبق شیوه Bhatia

| تعداد حیوان خارج شده | شماره گذاری طبق آزمون Bhatia | | | | | تعداد حیوان | گروه‌ها |
|----------------------|------------------------------|--------|--------|--------|--------|-------------|--------------|
| | دسته ۴ | دسته ۳ | دسته ۲ | دسته ۱ | دسته ۰ | | |
| ۲ | ۰ | ۰ | ۳ | ۵ | ۰ | ۱۰ | شاهد |
| ۰ | ۰ | ۰ | ۱ | ۱ | ۸ | ۱۰ | نرمال سالیین |

تغییر محسوسی بر وزن حیوانات در دو گروه شاهد و نرمال سالین نداشته است.



نمودار ۲ الف و ب - نتایج بررسی‌های ماکروسکوپی چسبندگی دو گروه (Mean ± SEM). الف) در این نمودار شدت چسبندگی در دو گروه طبق الگوی Bhatia مورد بررسی قرار گرفته است. همانطور که مشاهده می‌شود شدت چسبندگی در گروه نرمال سالین پایین‌تر از گروه شاهد بوده و تفاوت معناداری بین دو گروه وجود دارد (P-value = 0.002). ب) در این نمودار درصد چسبندگی طبق تقسیم‌بندی ۸ تایی شکمی آمده است که در این مورد هم درصد چسبندگی در گروه نرمال سالین پایین‌تر از گروه شاهد است (P-value = 0.004).

جدول ۲- نتایج آنالیزی آماری اطلاعات چسبندگی ماکروسکوپی

| گروه‌ها | تعداد نمونه (N) | شدت چسبندگی* | درصد چسبندگی* |
|-------------|-----------------|--------------|---------------|
| شاهد | ۸ | 1/38 ± 0/18 | 15/63 ± 2/04 |
| نرمال سالین | ۱۰ | 0/3 ± 0/21 | 3/75 ± 2/67 |

* SEM ± میانگین

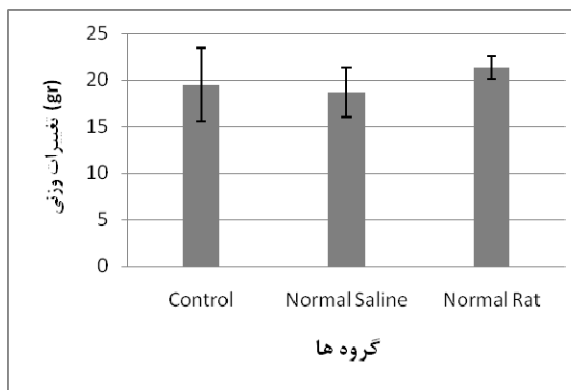
- دو گروه شاهد و نرمال سالین هم از لحاظ شدت چسبندگی (P=0.002) و هم از لحاظ درصد چسبندگی (P= 0.004) اختلاف معناداری دارند

جدول ۳- نتایج بررسی‌های هیستوپاتولوژیک

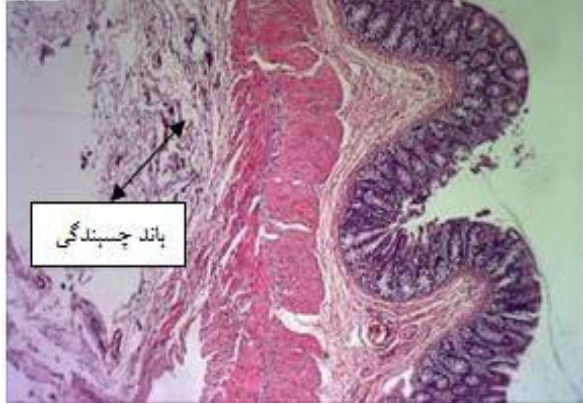
| گروه‌ها | تعداد نمونه (N) | فیبروز* | التهاب* |
|-------------|-----------------|------------|-------------|
| شاهد | ۸ | 0/5 ± 0/19 | 0/38 ± 0/18 |
| نرمال سالین | ۱۰ | . | . |

* SEM ± میانگین

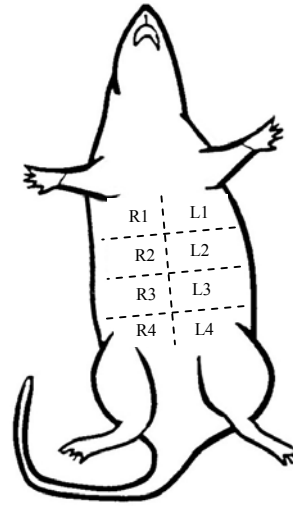
- دو گروه شاهد و نرمال سالین هم از لحاظ التهاب (P-value= 0.03) و هم از لحاظ فیبروزیس (P-value=0.009) اختلاف معنی‌داری دارند.



نمودار ۱- مقایسه تغییرات وزنی گروه‌های شاهد و نرمال سالین با گروه موش هاس صحرایی نرمال (بدون مداخله) در بازه زمانی ۱۴ روزه پس از جراحی اولیه. همانطور که در نمودار مشخص است تمامی حیوانات در گروه‌های مختلف افزایش وزن داشته‌اند و عمل جراحی پس از ۱۴ روز،



تصویر ۳- نمای میکروسکوپی یک دیواره سکوم دارای چسبندگی که باندهای فیروز و چسبندگی در مجاورت غشای سروزی کاملاً قابل مشاهده است (با بزرگنمایی ۴۰ برابر)



تصویر ۱- تقسیم بندی فرضی شکم حیوان جهت گزارش ماکروسکوپی درصد چسبندگی

بحث

استفاده از دارو و یا ممانعت کننده های فیزیکی سال هاست که جهت جلوگیری از ایجاد چسبندگی شکمی توصیه می شود و نمونه های زیادی تاکنون در مدل های حیوانی آزموده شده اند. در این مطالعه، اثر نرمال سالین بر کاهش چسبندگی شکمی در موش های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. در حال حاضر یکی از شیوه های کاهش چسبندگی شکمی، ریزش تدریجی ۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی لیتر محلول کریستالوئید در حفره صفاقی در انتهای جراحی جهت ایجاد حالت غوطه وری در شکم و ارگان های لگنی است.^{۱۷} این در حالی است که محققان، با اشاره به سرعت جذب بالای آب و محلول های الکترولیت از حفره شکمی که جذب حدود ۵۰۰ میلی لیتر سدیم کلراید در کمتر از ۲۴ ساعت را موجب می شود^{۱۸} و با توجه به اینکه بین ۵ تا ۸ روز طول می کشد تا سطح صفاقی مزوتلیوم سالم تولید کند، نتیجه گرفته اند که یک محلول کریستالوئیدی پیش از اینکه پروسه نشست فیبرینی و تشکیل چسبندگی کامل شود، جذب شده است.^{۱۹}



تصویر ۲- نمونه شدت ۱ در درجه بندی حیوانات در شیوه ماکروسکوپی و با استفاده از الگوی Bhatia^{۱۵} (نسبت مساحت قسمت دارای چسبندگی به کل قسمت خراش داده شده سکوم کوچکتر از ۵۰٪ و چسبندگی به راحتی جدا می شود).

ماکروفاژهای فعال مشتق شده و در توقف فعالیت ایمنی بدن بعد از تروما نقش دارند.^{۲۸} بر پایه این یافته‌ها، اخیراً فانگ و همکارانش اثر مثبت تزریق نرمال سالین سرد (۴ درجه سانتی‌گراد) را در کاهش چسبندگی شکمی در موش‌های کوچک (۳۰-۲۵ گرم) گزارش کرده‌اند.^{۲۹} آنها کاهش سیتوکین التهابی IL-6 و افزایش سیتوکین ضد التهابی IL-10 را پس از استفاده از نرمال سالین نشان داده‌اند. بنابراین علت عدم مشاهده التهاب در نمونه‌های نرمال سالین در پژوهش حاضر نیز کاهش سیتوکین التهابی IL-6 است.

بدین ترتیب نتایج پژوهش حاضر در مورد نرمال سالین را بدین ترتیب توضیح می‌دهیم که به کارگیری نرمال سالین در حفره شکمی ممکن است با تغییر در فعال‌سازی پروسه تجزیه فیبرینی از تشکیل چسبندگی‌های فیبرینی جلوگیری و یا با کاهش شدت التهاب و یا پاک کردن مواد مترشحه فیبرینی موجب کاهش میزان تشکیل چسبندگی شده و بدین ترتیب ارزیابی‌های ماکروسکوپی و پاتولوژی تفاوت معناداری را با گروه شاهد نشان می‌دهند. همچنین طبق پژوهش حاضر بیشترین میزان چسبندگی در ناحیه پایین سمت چپ بدن حیوان ایجاد شده که با توجه به آناتومی قرارگیری سکوم، نشان دهنده ایجاد بیشترین چسبندگی در ناحیه خراش است.

استفاده از نرمال سالین در مقایسه با سایر ممانعت‌کننده‌های چسبندگی شکمی، ساده، در دسترس و مقرون به صرفه‌تر است. هر چند در پژوهش‌های آتی در مورد کاربرد نرمال سالین باید موارد دیگری از جمله، بررسی میزان هیدروکسی پرولین در نمونه‌های بافتی، بررسی روش‌های دیگر ایجاد و درجه‌بندی چسبندگی و بررسی‌های مورفومتریک مورد توجه قرار گیرند.

نتیجه‌گیری

استفاده از نرمال سالین پس از اعمال جراحی شکمی، در ممانعت از ایجاد چسبندگی در ناحیه شکمی مؤثر است. این اثر نه به خاطر ایجاد ممانعت فیزیکی بلکه به جهت کاهش عوامل التهابی و تغییر در پروسه تجزیه فیبرینی به وجود می‌آید.

در پژوهش حاضر نیز با توجه به اندک بودن میزان نرمال سالین استفاده شده (۱ میلی‌لیتر) انتظار نمی‌رود ریزش درون صفاقی محلول‌های کریستالوئیدی به خاطر خاصیت غوطه‌وری، از ایجاد چسبندگی ممانعت نماید.

آنچنان که می‌دانیم، در بهبودی طبیعی چسبندگی شکمی، بین فعالیت تشکیل فیبرین و تجزیه فیبرین تعادل وجود دارد و اگر بر اثر عوامل درونی یا بیرونی این تعادل به سمت تشکیل بیشتر فیبرین بهم خورد، چسبندگی به وجود می‌آید.^{۲۰} آنزیم کلیدی در تجزیه فیبرین، پلاسمین است که از پلاسمینوژن بدست می‌آید. فعال‌کننده اصلی پلاسمین و در نتیجه شروع کننده چرخه تجزیه فیبرینی، فعال‌کننده پلاسمینوژن (tPA) و ممانعت‌کننده اصلی آن، ممانعت‌کننده فعالیت پلاسمینوژن نوع ۱ (PAI-1) است.^{۲۱، ۲۲} PAI-1 با تشکیل ترکیب‌های غیرفعال tPA/PAI-1 و فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن، از تجزیه فیبرین ممانعت می‌کند. همچنین کاهش فعالیت فعال‌کننده پلاسمینوژن در محل ترومای جراحی از تشکیل فیبرین ممانعت می‌کند.^{۲۳}

بنابراین اختلاف معنادار دو گروه از لحاظ فیبروزیس را بدین ترتیب می‌توان توضیح داد که تزریق نرمال سالین، موجب تغییر در فعال‌سازی پروسه تجزیه فیبرینی شده و با رقیق‌سازی PAI-1 در مایع صفاقی (مکانی که پروسه تجزیه فیبرینی اتفاق می‌افتد)، فعالیت tPA افزایش می‌یابد. بنابراین، گرچه جذب نرمال سالین در حفره شکمی سریع است، اما زمان کافی برای رقیق‌سازی PAI-1 دارد. تارها و گروهش نیز فعالیت بیشتر tPA را بعد از ریزش تدریجی نرمال سالین در حفره شکمی موش‌های صحرائی، بعد از ۱۰ روز گزارش کرده‌اند.^{۱۷}

مکانیزم ترمیم صفاقی، پروسه پیچیده‌ای است که سلول‌ها و مولکول‌های واسطه در آن دخالت دارند. از لحاظ پاتوفیزیولوژی، پروسه تشکیل چسبندگی به چهار مرحله مجزا تقسیم می‌شود. (۱) فاز التهابی بعد از جراحی (۲) فاز تحلیل فیبرین (۳) فاز فیبروزیس و (۴) فاز ترمیم و فاگوسیتوز.^{۲۴} در فاز اولیه التهابی، لوکوسیت‌ها وارد عمل شده و فیبرین شکل می‌گیرد. مطالعات مختلفی افزایش میزان IL-6 و TNF-a را در مایع درون صفاقی پس از عمل جراحی گزارش کرده‌اند.^{۲۵-۲۷} IL-6 و TNF-a سیتوکین‌های ایجاد التهاب هستند که از

Abstract:

Macroscopic and Microscopic Assessment of Normal Saline on Postoperative Adhesion Formation in a Rat Model

Panahi F. MD ^{*}, *Shahram E. MSc* ^{**}, *Khoshmohabat H. MD* ^{***}, *Kaka Gh. MD* ^{****}
Sadraee S. H. MD ^{****}, *Hossainalipour M. MD* ^{*****}

(Received: 20 Jan 2013 Accepted: 21 April 2013)

Introduction & Objective: Adhesion formation after abdominal surgery is a major cause of postoperative bowel obstruction, infertility, and chronic abdominal pain. In this study, we evaluated the effect of normal saline on postoperative adhesion formation in a rat model.

Materials & Methods: A total of 30 Wistar female rats were randomly divided in 3 groups involving Normal saline (NS) group, Control group and a group of normal animals (not include in our study). Under general anesthesia, and following a 3cm midline incision, the anterior surface of serous membrane in the rat was scraped slightly. One ml of Normal saline was administrated intraperitoneally in the NS group. The duration from opening to the beginning of the closure was 1 min. In the control group, no medication was administered, and only cecum was exposed to air for 1 min. Fourteen days after the surgery, a re-laparotomy was performed for macroscopic and pathological assessment and then all of them were destroyed. A comparison of the groups was carried out using the non-parametric Kruskal-Wallis test, followed by Mann-Whitney U statistics, to detect the statistically significant differences among the groups. Analysis was performed using SPSS 13. P -value ≤ 0.05 was considered significant.

Results: The adhesion grade and extent of the normal saline group was lower than those of control group in macroscopic assessment ($P < 0.05$). A comparison of the adhesion stages in pathological assessment showed a reduction in the abdominal adhesion by the usage of NS, and demonstrated a significant difference between Normal saline and control groups ($P < 0.05$).

Conclusions: Administrating normal saline has preventive effects on the postoperative abdominal adhesion.

Key Words: Adhesion, Normal Saline, Rat

* Associate Professor of General Surgery, Trauma Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

** Master of Science, Biomaterial Group, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

*** Assistant Professor of General and Trauma Surgery, Trauma Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**** Associate Professor of Histology, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***** Assistant Professor of Pathology, Biomaterial Group, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

References:

1. RL. DeWilde, G.Trew, on behalf of the Expert Adhesions Working Party of the European Society of Gynaecological Endoscopy (ESGE) .Postoperative abdominal adhesions and their prevention in gynaecological surgery. Expert consensus position. *Gynecol Surg*. 2007.
2. L. Holmdahl, B. Risberg, DE. Beck, JW. Burns, N.Chegini et al .Adhesions: pathogenesis and prevention - panel discussion and summary. *Eur J Surg* 1997; 163: 56-62.
3. Y. Yeo, D. S. Kohane. Polymers in the prevention of peritoneal adhesions. *European Journal of pharmaceuticals and Biopharmaceutics* 2008; 68: 57-66.
4. D. Wiseman.Polymers for the prevention of surgical adhesions. In: Domb AJ (ed) *Polymeric site-specific pHarmaotherapy*. Wiley, New York, 1994; 370-421.
5. Cetin M, Duran B, Demirkopulu N, et al. Effects of diazeniumdiolates (NONOates) and methylene blue on the reduction of postoperative adhesion in rats. *GynecolObstet Invest* 2004; 57: 86.
6. Duran B, Ak D, Cetin A, et al. Reduction of postoperative adhesions by N,O-carboxymethylchitosan and spermine NONOate in rats. *ExpAnim* 2003; 52: 267.
7. Cavallari N, Polistena A, Cavallaro A. Inability of University of Wisconsin solution to reduce postoperative peritoneal adhesions in rats. *Eur J Surg* 2000; 166: 650.
8. Treutner KH, Bertram P, Lerch MM, et al. Prevention of postoperative adhesions by single intraperitoneal medication. *J Surg Res* 1995; 59: 764.
9. Sortini D, Feo CV, Maravegias K, et al. Role of peritoneal lavage in adhesion formation and survival rate in rats: An experimental study. *J Invest Surg* 2006; 19: 291.
10. Kucukozkan T, Ersoy B, Uygur D, et al. Prevention of adhesions by sodium chromoglycate, dexamethasone, saline, and aprotinin after pelvic surgery. *ANZ J Surg* 2004; 74: 1111.
11. Bhatia DS, Allen JE. The prevention of experimentally induced postoperative adhesions. *Am Surg* 1997; 63: 775.
12. Elkelani OA, Molinas CR, Mynbaev O, et al. Prevention of adhesions with crystalloids during laparoscopic surgery in mice. *J Am AssocGynecolLaparosc* 2002; 9: 447.
13. Larsson B, Lalos O, Marsk L, et al. Effect of intraperitoneal instillation of 32% dextran 70 on postoperative adhesion formation after tubal surgery. *ActaObstetGynecolScand* 1985; 64: 437.
14. Van Westreenen M, van den Tol PM, Pronk A, et al. Perioperative lavage promotes intraperitoneal adhesion in the rat. *EurSurg Res* 1999; 31: 1961.
15. Bhatia DS, Allen JE. The prevention of experimentally induced postoperative adhesions. *Am Surg* 1997; 63: 775-777.
16. T. Tulandi, JA. Collins, E. Burrows, JF. Jarrell, RA. McInnes et al .Treatment-dependent and treatment-independent pregnancy among women with periadnexal adhesions. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 354-357.
17. O. R Tarhan, I. Barut, M. Sezik. An Evaluation of Normal Saline and Taurolidine on Intra-Abdominal Adhesion Formation and Peritoneal Fibrinolysis. *Journal of Surgical Research* 2008; 144: 151-157.
18. Shear L, Swartz C, Shinaberger J, et al. Kinetics of peritoneal fluid absorption in adult man. *N Engl J Med* 1965; 272: 123.
19. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, et al. Peritoneal adhesions: Etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dig Surg* 2001; 18: 260.
20. Scott-Coombes D, Whawell S, Vipond MN, et al. Human intraperitonealfibrinolytic response to elective surgery. *Br J Surg* 1995; 82: 414.
21. Holmdahl L, Eriksson E, al-Jabreen M, et al. Fibrinolysis in human peritoneum during operation. *Surgery* 1996; 119:701.
22. Vipond MN, Whawell SA, Thompson JN, et al. Peritoneal fibrinolytic activity and intra-abdominal adhesions. *Lancet* 1990; 335: 1120.
23. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, et al. Peritoneal adhesions: Etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dig Surg* 2001; 18: 260.
24. Holmdahl L, Kotseos K, Bergstrom M et al .Overproduction of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) is associated with adhesion formation and peritoneal fibrinolytic impairment. *Surgery* 2001; 129: 626-632.
25. Decker D, Tolba R, Springer W et al .Abdominal surgical interventions: local and systemic consequences for the immune system—a prospective study on elective gastrointestinal surgery. *J Surg Res* 2005; 126: 12-18.
26. Badia JM, Whawell SA, Scott-Coombes DM et al. Peritoneal and systemic cytokine response to laparotomy. *Br J Surg* 1996; 83: 347-348.
27. Van Berge Henegouwen MI, van der Poll T, Deventer SJH et al .Peritoneal cytokine release after elective gastrointestinal surgery and postoperative complications. *Am J Surg* 1998; 175: 311-316.
28. Biffl WL, Moorev EE, Moore FA et al Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation? *Ann Surg* 1996; 224: 647-664.
29. C.-C. Fang, T.-H. Chou, G.-S. Lin, Z.-S. Yen, C.-C. Lee, S.-C. Chen. Peritoneal Infusion with Cold Saline Decreased Postoperative Intra-Abdominal Adhesion Formation. *World J Surg* 2010; 34: 721-727.