

Duodenum perforasyonlarında basit kapama ve omentoplasti, basit kapama ve fibrin yapıştırıcıyla onarım yöntemlerinin karşılaştırılması: Deneysel çalışma

Comparison of repair techniques in rat duodenal perforations: simple closure, simple closure and omentoplasty, and fibrin tissue adhesive

Dr. Cemal KAYA, Dr. Uygur DEMİR, Dr. Halil COŞKUN, Dr. Ali KALYONCU, Dr. Burhan GÜNDÜZ, Dr. Tülay EROĞLU, Dr. Birol AĞCA, Dr. Mehmet MİHMANLI

AMAÇ

Sıçanlarda, deneysel olarak duodenumun postpilorik bölgesinde oluşturulan perforasyonların tedavisinde basit kapama ve omentoplasti, basit kapama ve fibrin yapıştırıcıyla onarım yöntemleri karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Sprague-Dawley cinsi, ağırlıkları 210-240 gr arasında değişen 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Tüm deneklerde standart olarak, ketamin ve eter anestezisi altında duodenumun postpilorik alanında 2 mm çapında perforasyon oluşturuldu. Perforasyonlar, her biri 10 sıçandan oluşan üç grupta sırasıyla basit kapama ve omentoplasti, basit kapama ve fibrin yapıştırıcı ile onarıldı. Ameliyattan dört gün sonra sıçanların yaşamları derin eter anestezisiyle sonlandırıldı. Yara iyileşmesini değerlendirmek için patlama basınç ölçümleri yapıldı; yara bölgesindeki hidroksiprolin içeriği 560 nm'de absorbans spektrofotometri ile ölçüldü.

BULGULAR

Basit kapama ve omentoplasti grubunda patlama basınçları, basit kapama ($p<0.05$) ve fibrin yapıştırıcı ($p<0.001$) gruplarından anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu açıdan, fibrin yapıştırıcı grubu ile basit kapama grubu arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Basit kapama ve omentoplasti grubu ($p<0.05$) ile basit kapama grubunda ($p<0.001$) saptanan hidroksiprolin değerleri, fibrin yapıştırıcı grubundan anlamlı derecede düşük bulundu.

SONUÇ

Duodenal ülser perforasyonlarının tedavisinde, uygun olgularda kullanılacak olan fibrin yapıştırıcıları, laparoskopik ve açık cerrahi tedavi seçenekleri arasında yer alabilir.

Anahtar Sözcükler: Duodenal ülser; fibrin doku yapıştırıcı; hidroksiprolin; omentum; peptik ülser perforasyonu; sıçan.

BACKGROUND

We compared three repair techniques, namely, simple closure and omentoplasty, simple closure alone, and fibrin tissue adhesive, in the treatment of rat duodenal perforations induced in the postpyloric region.

METHODS

Thirty male Sprague-Dawley rats (210-240 g) were included. Under ketamine and ether anesthesia, duodenal perforations of 2 mm were induced in all rats in the postpyloric region. The rats were assigned to three groups equal in number, which underwent repair with the use of simple closure and omentoplasty, simple closure alone, and fibrin glue, respectively. All the animals were sacrificed under deep ether anesthesia on the fourth postoperative day. To assess wound strength, bursting pressure measurements were performed. In addition, hydroxyproline content of the wound site was measured by absorbance spectrophotometry at 560 nm.

RESULTS

The mean bursting pressure in the simple closure and omentoplasty group was significantly higher than those of the simple closure ($p<0.05$) and fibrin glue ($p<0.001$) groups. No significant difference existed between the simple closure and fibrin glue groups in this respect ($p>0.05$). Hydroxyproline values of the simple closure and omentoplasty ($p<0.05$) and simple closure ($p<0.001$) groups were significantly lower than that of the fibrin glue group.

CONCLUSION

Fibrin tissue adhesives may have an application in the treatment of duodenal ulcer perforations, as an adjunct to laparoscopic or open surgical methods.

Key Words: Duodenal ulcer; fibrin tissue adhesive; hydroxyproline; omentum; peptic ulcer perforation; rats.

Son 30 yılda peptik ülser tedavisindeki olağanüstü yenilikler elektif ülser cerrahi endikasyonunu büyük ölçüde azaltmıştır.^[1] Peptik ülser komplikasyonlarından biri olan perforasyon, ülser komplikasyonları içinde acil tedavi gerektirmekte, başarısız tedavi morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır.^[2,3] Perforasyonla başvuran hastalarda geçmiş yıllarda definitif ameliyatlara uygulanmışsa da, son yıllarda *Helicobacter pylori* eradikasyonunun eklenmesiyle primer onarım yapılması konusunda uzlaşma sağlanmıştır.^[4]

Primer onarım açık cerrahi veya laparoskopik yöntemle de yapılabilir. Perforasyon alanının kapatılmasında dikiş materyallerine ek olarak bazı çalışmalarda fibrin yapıştırıcılar ve bunlarla kombine edilebilen maddeler de tıkaç oluşturacak şekilde kullanılmaktadır.^[5,6]

Çalışmamızda, sıçanlarda duodenumun postpilorik bölgesinde deneysel olarak oluşturulan perforasyonların cerrahi tedavisinde üç ayrı yöntemi karşılaştırarak sonuçlarını araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Etik Kurul onayı alınarak başlatılan çalışmada, aynı laboratuvardan temin edilen Sprague-Dawley cinsi, ağırlıkları 210-240 gr arasında değişen 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Çalışmada, sıçanlar, her biri 10 sıçandan oluşan üç gruba ayrılarak incelendi. Birinci grupta basit kapama ve omentoplasti; ikinci grupta yalnızca basit kapama; üçüncü grupta fibrin yapıştırıcı ile onarım (Beriplast P, Aventis, ABD) uygulandı.

Yapılan çalışmalarda, mide asidi, peptik ülser oluşumunda rol oynamasına karşın, perforasyon geçiren hastaların bazal ve en yüksek asit sekresyon oranları, perforasyon geçirmeyen hastalarda bulunan oranlarından belirgin bir farklılık göstermemektedir.^[7-10] Uygulamış olduğumuz ameliyat tekniği, çalışma ekibinin ortaklaşa karar vererek uyguladığı özgün bir yöntem olarak belirlenmiştir.

Ameliyat tekniği

Sıçanlara kapalı eter kavanozunda hafif eter anestezisini takiben intramusküler 20 mg/kg dozunda verilen ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç San., Türkiye) ile anestezi sağlandı ve deneklerin idame anestezisi eter ile sürdürüldü. Karın cildine

3 cm boyunda yapılan median insizyondan sonra cilt, cilt altı ve fasya dokuları geçilerek batına ulaşıldı. Tüm deneklerde standart olarak, duodenumun postpilorik alanında 2 mm çapında ve tüm duodenum katmanlarını içeren tam kat perforasyon oluşturularak gastrointestinal sistemin batın boşluğuna açılması sağlandı. Perforasyon alanının etrafındaki yabancı cisimler ve mide içeriği mekanik olarak temizlendi. Grup 1'de perforasyon alanı 4/0 ipek ile primer kapatıldı ve üzerine omentum getirilerek bağlandı, Grup 2'de sadece primer kapama uygulandı. Grup 3'te ise batın sadece fibrin yapıştırıcı ile kapatıldı (Şekil 1). Gruplar ayrı ayrı uygun boyutlardaki kafeslere yerleştirildikten sonra tüm gruplardaki deney hayvanlarına üç gün ağızdan su ve besin maddesi verilmedi; bunun yerine beslenme amacıyla 10 ml/gün olacak şekilde intraperitoneal %10 dekstroz verildi. Gruplar ameliyat sonrası dördüncü gün sonunda eter kavanozunda aşırı eter anestezisi ile öldürüldü. Tüm deneklerde aşağıdaki parametreler değerlendirildi.

1. Patlama basıncı ölçümü

İpek dikişlerle tanınan perforasyon bölgesindeki yapışıklıkların giderilmesi ve perforasyon alanına uygulanabilecek olan manüplasyonlardan sonra oluşacak çok küçük bir sızıntının bile ölçümleri farklı çıkarabileceğinden dolayı çevre yapışıklıklar korundu. Onarım yapılan alanın 2 cm distalinden (duodenum 3. kıta) bağlandı ve 4 cm proksimalden (kardiya bölgesi) mide kesildi. Daha önceden hazırlanan su dolu kap içerisine deney hayvanının tam olarak girmesi sağlanarak hazırlanan düzenek aracılığıyla 6 ml/dk'lık sabit hızla hava insüflasyonuna başlandı (Şekil 2). Bu sırada onarım bölgesi



Şekil 1. Fibrin yapıştırıcının özel enjektör ile perfore alana uygulanması.

gözlemlendi; kabarcıklar çıktığında sistemdeki basınç *in situ* olarak ölçüldü ve patlama basıncı (mmHg) olarak kaydedildi.

2. Hidroksiprolin ölçümü

Patlama basıncı ölçüldükten sonra, onarım bölgesi 1 cm'lik sağlam doku ile birlikte çepeçevre eksize edildi. Tüm deneklerden alınan parçalar 1 gram olacak şekilde tartılarak küçültüldükten sonra tetkik gününe kadar serum fizyolojik içinde -40 °C'de derin dondurucuda saklandı.

Oda ısısında bekletilerek erimesi sağlandıktan sonra, yaş ağırlıkları elektronik terazi ile ölçülen doku parçaları ultrasonik homojenizatör ile belli hacimde saf su eklenerek homojenize edildi. Hidroksiprolin değerlerinin ölçümünde Kivirikko ve ark.nın^[11] yöntemi kullanıldı.

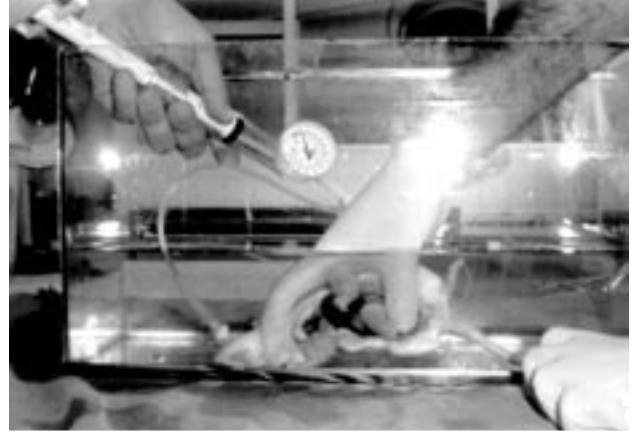
Homojenize edilen doku parçalarına eşit hacimde konsantre hidroklorik asit eklendi; 16-18 saat 100 °C'de hidrolize edilip soğutulduktan sonra fenolftalein (phenolphthalein) çözeltisi (indikatör) varlığında asit ortama potasyum hidroksit eklendi. Çözelti belli hacimdeki potasyum klorür ile satüre edilerek karıştırıldıktan sonra oksidasyon için alanın reaktifi ve potasyum borat tamponu eklendi. Oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra sırasıyla kloramin -T çözeltisi, tiyosülfat ve toluen eklendi. Örnekler kaynar bir Ben-Marry içinde 30 dakika bekletilerek çözünür forma dönüştürüldükten sonra tekrar toluen eklenerek hidroksiprolin organik faza alındı. Erlich reaktifi eklendikten sonra 30 dakika durulamaya bırakılarak toluene karşı absorbans spektrofotometrede 560 nm'de okundu (mg/100 mg).

Fibrin yapıştırıcı

Fibrin yapıştırıcı sisteminde etkili üç komponent bulunmaktadır: (i) Esas yapıştırıcı olan fibrinogen ve fibrin; (ii) kuvvetlendirici: Faktör XIIa (fibrin stabilize edici faktör); (iii) aktivatör sistem: Trombin (Faktör IIa) ve Ca⁺⁺ (Faktör IV).

Bunlara ek olarak, hızlı fibrinolize engel olmak için fibrinoliz inhibitörü olan aprotinin eklenmiştir.

Fibrin yapıştırıcı uygulanmış bölgede fibroblastların kolajen sentezi ile üçüncü günde bağ do-



Şekil 2. Patlama basıncı ölçümü.

kusu organizasyonu başlamakta; 3-18. günler arasında kullanılan fibrin ve aprotinin miktarına ve yara bölgesinin fibrinolitik aktivitesine bağlı olarak fibrin yapıştırıcı rezorbe olmakta ve yerini bağ dokusu karakterinde nedbe almaktadır (Tablo 1).

İstatistiksel çalışma

İstatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerin (ortalama, standart sapma) yanı sıra gruplararası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi, altgrup karşılaştırmalarında ise Dunn çoklu karşılaştırma testi kullanıldı; p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Patlama basınçları

Gruplardaki onarım alanlarında ölçülen patlama basınçları her denek için ayrı ayrı olmak üzere mmHg cinsinden ölçüldü (Tablo 2) ve gruplar kendi aralarında karşılaştırıldı.

Basit kapama ve omentoplasti grubunda patlama basınçları, basit kapama (p<0.05) ve fibrin yapıştırıcı (p<0.001) gruplarında bulunan değerlerden anlamlı derecede yüksek bulundu. Fibrin yapıştırıcı grubu ile basit kapama grubu arasında anlamlı fark bulunmadı (p>0.05).

Doku hidroksiprolin değerleri

Kivirikko ve ark.nın^[11] yöntemine göre, tüm gruplardan elde edilen onarım bölgesine ait dokuda-

Tablo 1. Fibrin yapıştırıcının uygulanması ile yara iyileşmesi arasındaki zamansal ilişki

Pıhtılaşma	Ağ oluşumu	Fibrinoliz	Kolajen sentezi	Bağ dokusu şeklinde nedbe
60 saniye	3 dakika -saat	3-18 gün	3. günden itibaren	Günler-haftalar

Tablo 2. Gruplardaki deneklerde ölçülen patlama basınçları (mmHg)

Denek no	Basit kapama ve omentoplasti	Basit kapama	Fibrin yapıştırıcı
1	130	110	90
2	135	103	85
3	125	115	95
4	125	120	92
5	130	75	75
6	140	90	80
7	142	100	90
8	138	112	75
9	125	120	105
10	127	125	75
Ort.±SD	131.7±6.56	107±15.41	86.2±10.05

ki hidroksiprolin değerleri (mg/100 mg) Tablo 3'te gösterildi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldı.

Basit kapama ve omentoplasti grubunda hidroksiprolin değerleri, fibrin yapıştırıcı grubu değerlerinden anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.05$). Basit kapama grubu değerleri de fibrin yapıştırıcı grubundan anlamlı derecede düşüktü ($p<0.001$). Gruplar kendi aralarında ve grup içerisinde patlama basıncı ve doku hidroksiprolin değerleri yönünden Dunn çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi (Tablo 4).

TARTIŞMA

Perfore duodenal ülserlerin mide ülserlerine oranı 15/1 olup, erkeklerde daha fazla görülmektedir.^[12] H₂ reseptör antagonistleri ve proton pompa inhibitörleri gibi ilaçların kullanımı ile ülser sıklığında düşüş görülmesine karşın, son yıllarda yapılan çalışmalar, ülser komplikasyonlarında belirgin bir azalmanın olmadığını göstermektedir.^[7-9]

Mide asidi, peptik ülser oluşumunda rol oynamasına rağmen perforasyon geçiren hastaların bazal ve en yüksek asit sekresyon oranları, perforasyon geçirmeyen hastaların oranlarından belirgin

Tablo 4. Dunn çoklu karşılaştırma testine göre sonuçlar

Dunn çoklu karşılaştırma testi	Hidroksiprolin	Patlama basıncı
Basit kapama+omentoplasti/basit kapama	$p>0.05$	$p<0.05$
Basit kapama+omentoplasti/fibrin yapıştırıcı	$p<0.05$	$p<0.001$
Basit kapama/fibrin yapıştırıcı	$p<0.001$	$p>0.05$

Tablo 3. Kivirikko yöntemiyle ölçülen doku hidroksiprolin değerleri (mg/100 mg)

Denek no	Basit kapama ve omentoplasti	Basit kapama	Fibrin yapıştırıcı
1	2.52	1.87	4.43
2	2.81	1.72	4.25
3	1.98	2.68	3.28
4	2.17	2.04	4.21
5	2.11	1.94	4.16
6	1.89	1.98	3.45
7	2.40	1.73	4.21
8	2.19	1.85	5.89
9	3.31	2.08	4.12
10	2.18	1.95	4.35
Ort.±SD	2.35±0.42	1.98±0.27	4.23±0.69

fark göstermemektedir. Bir ülserin basit kapamasından sonra bu hastalarda asit sekresyonu oranlarının, perfore olmamış duodenal ülserli kontrol grubundaki hastalara göre istatistiksel olarak farklı olmadığı, hatta perforasyonu basit dikiş ile kapatılan hastalarda nüks gösteren ve göstermeyenler arasında da bir fark olmadığı belirtilmiştir.^[10]

Duodenal ülser perforasyonlarının tedavisi halen büyük oranda cerrahidir.^[13] Bugün için en çok tercih edilen teknik, basit kapama ve omental tıkaç (Graham kapaması) yöntemidir. Son yıllarda, omental tıkaç ile tamir veya omental tıkaç ile fibrin sprey uygulama; ligamentum teres hepatis ile tıkaç veya jelatin sponç ve fibrin ile kapatma; endokaviter ve endoluminal endoskopinin kombinasyonu ile omental tıkaç ile tamir gibi birçok açık, laparoskopik, endoskopik teknik kullanılmıştır.^[5,6] Laparoskopik tedavinin hasta açısından avantajları iyi bilinmesine karşın, olguların %2-5'inde perforasyon alanından kaçak bildirilmiştir.^[14]

Fibrinin yara iyileşmesindeki yeri ve önemi 1909'da ortaya konmuştur; fibrin, lökositlerin bir derivativesi olarak görülmüş, koruyucu ve iyileştirici olduğu belirtilmiştir. Deneysel olarak oluşturulan yaralarda fibrin fonksiyonu incelenmiş ve doku yaralarının fibrin ile tamir edilebildiği gösterilmiştir.^[15,16]

Duodenal perforasyonlarda, fibrin yapıştırıcılar laparoskopik yöntemle tek başına veya endoskopi yardımıyla uygulanabilmektedir.^[6] Laparoskopik perforasyon onarımında, fibrinojen ve aktive edici solüsyonu verici-dağıtıcı sistemlerin yeterince gelişmemiş olması nedeniyle perfore alana uygun

miktarda fibrinojen ve trombin enjeksiyonunun yapıştırmayı etkili tıkaç oluşumunu engellemektedir. Çalışmamızda bu amaçla kullanılan fibrin yapıştırıcıların açık cerrahi yapılararak uygulanmış olması, bu teknik güçlüğün ortadan kalkmasını, dolayısıyla yeterli miktarda jelatinöz tıkaçın oluşumunu ve perforasyon alanında yeterli kapanmayı sağlamıştır. Fibrin yapıştırıcı uygulanan deneklerde ölüm görülmemiş olup, bu grupta perfore alanın iyileşme hızının diğer gruplardakinden anlamlı derecede daha iyi ve çabuk olduğu görülmüştür.

Lau ve ark.^[6] 100 duodenal ülser perforasyonu- na laparoskopik cerrahi yöntemle fibrin yapıştırıcı uygulamışlar; bu olguların, basit kapama ve omental yama uygulanan olgulara göre ameliyat sonrası görülebilen komplikasyonlar açısından farklı olmadığını göstermişlerdir.

Fibrin yıkım ürünleri lokal nötrofillerin kemotaksisine neden olduğundan, fibrin yara iyileşmesinin temel maddelerinden biridir.^[17] Fibrinle aktive olan trombositler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için bir mitojen (trombosit menşeli büyüme faktörü) salgırlar ve kolajen sentezini stimüle ederler. Biriken kolajenin miktarı, kolajen yapısında bulunan bir aminoasit olan hidroksiprolin miktarının ölçülmesi ile saptanır. Fibrin yapıştırıcı ile onarım uyguladığımız grupta hidroksiprolin değerleri diğer iki gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (grup 1/3: $p<0.05$; grup 2/3: $p<0.001$).

Fibrinin yara iyileşmesindeki önemi Branstedt ve Olson^[18] tarafından da gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, granülasyon dokusu oluşumunda defibrinojenasyonun etkisini incelemişler; bu koşullarda fibrin liflerinin düzensiz ve parçalanmış şekilde olduğunu ve fibroblast ile kolajen fibrillerinin azaldığını; bunun sonucu olarak da granülasyon dokusunda kolajen birikiminin azaldığını ortaya koymuşlar ve fibrinin granülasyon dokusu oluşumu ile normal yara iyileşmesi için gerekli olduğunu belirtmişlerdir. Hedelin ve ark.^[19] lokal fibrin uygulamasıyla kolajen konsantrasyonunun arttığını hidroksiprolin değerlerini ölçerek göstermişlerdir. Ayrıca, fizyolojik yara iyileşmesinde otolog fibrinin rezorbe edildiği gibi, dışarıdan uygulanan heterolog fibrinin de rezorbe edildiği gösterilmiştir.^[15]

Çalışmamızda, basit kapama ile fibrin yapıştırıcı grup arasında patlama basınçlarında anlamlı fark görülmemiş ($p>0.05$); bununla birlikte fibrin

yapıştırıcı grupta, yara iyileşmesinde önemli bir yeri olan doku hidroksiprolin değeri diğer iki gruptan yüksek bulunmuştur. Öte yandan, basit kapama ve omentoplasti grubunda ölçülen patlama basınçları, basit kapama ve fibrin yapıştırıcı gruplarından anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$ ve $p<0.001$). Patlama basıncının daha yüksek olması, erken dönemde doku gerginliğinin daha fazla olmasıyla ilişkili olabilir. Ancak bu değerlerin yüksekliği yara iyileşmesinin daha hızlı olduğunun göstergesi değildir; bunun en önemli kanıtı bu gruptaki doku hidroksiprolin değerinin düşük bulunmasıdır. Kanımızca, süre uzadıkça diğer iki grupta da patlama basınçları yükselecektir. Ayrıca, fibrin yapıştırıcı ile yapılan onarım tıkaç oluşturma şeklinde bir tamir yöntemi olduğundan, maturasyon evresinden önce yapılan ölçümde patlama basıncının daha düşük çıkması normal olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak fibrin yapıştırıcıların, perfore olmuş duodenal ülser tedavisinde laparoskopik ve açık cerrahi tedavi seçenekleri arasında yer alabileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Sonnenberg A. Temporal trends and geographical variations of peptic ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 Suppl 2:3-12.
2. Turner WW Jr, Thompson WM Jr, Thal ER. Perforated gastric ulcers. A plea for management by simple closures. *Arch Surg* 1988;123:960-4.
3. Graham DY, Tabibian N, Schwartz JT, Smith JL. Evaluation of the effectiveness of through-the-scope balloons as dilators of benign and malignant gastrointestinal strictures. *Gastrointest Endosc* 1987;33:432-5.
4. Mihmanli M, Isgor A, Kabukcuoglu F, Turkay B, Cıkla B, Baykan A. The effect of *H. pylori* in perforation of duodenal ulcer. *Hepatogastroenterology* 1998;45:1610-2.
5. Büyükuncu Y. Peptik ülser komplikasyonları ve cerrahi tedavileri. In: Gökşen Y, editör. *Selim özofagus, mide, duodenum ve ince barsak hastalıkları*. 4. Uzmanlık Sonrası Eğitim Kursu. Eresin, İstanbul: 1999. s. 69-87.
6. Lau WY, Leung KL, Zhu XL, Lam YH, Chung SC, Li AK. Laparoscopic repair of perforated peptic ulcer. *Br J Surg* 1995;82:814-6.
7. Gustavsson S, Kelly KA, Melton LJ 3rd, Zinsmeister AR. Trends in peptic ulcer surgery. A population-based study in Rochester, Minnesota, 1956-1985. *Gastroenterology* 1988; 94:688-94.
8. McConnell DB, Baba GC, Deveney CW. Changes in surgical treatment of peptic ulcer disease within a veterans hospital in the 1970s and the 1980s. *Arch Surg* 1989;124: 1164-7.

9. Makela JT, Kiviniemi H, Ohtonen P, Laitinen SO. Factors that predict morbidity and mortality in patients with perforated peptic ulcers. *Eur J Surg* 2002;168:446-51.
10. George RL, Smith IF. Long-term results after omental patch repair in patients with perforated duodenal ulcers: a 5- to 10-year follow-up study. *Can J Surg* 1991;34:447-9.
11. Kivirikko KI, Laitinen O, Prockop DJ. Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine. *Anal Biochem* 1967;19:249-55.
12. Feldman M, Richardson CT. Total 24-hour gastric acid secretion in patients with duodenal ulcer. Comparison with normal subjects and effects of cimetidine and parietal cell vagotomy. *Gastroenterology* 1986;90:540-4.
13. Nogueira C, Silva AS, Santos JN, Silva AG, Ferreira J, Matos E, et al. Perforated peptic ulcer: main factors of morbidity and mortality. *World J Surg* 2003;27:782-7.
14. Pescatore P, Halkic N, Calmes JM, Blum A, Gillet M. Combined laparoscopic-endoscopic method using an omental plug for therapy of gastroduodenal ulcer perforation. *Gastrointest Endosc* 1998;48:411-4.
15. Stemberger A, Blümel G. Teheoretische aspecte der fibrinklebung. In: Scheele J, editor. *Fibrinklebung*. Berlin: Springer-Verlag; 1984. p. 41-5.
16. Feld RS, Sullivan E, Morrison P. Thrombin injection for failed stent graft repair of perforated atherosclerotic aortic ulcer. *J Vasc Surg* 2003;37:194-7.
17. McKenzie R, Pepper DS, Kay AB. The generation of chemotactic activity for human leukocytes by the action of plasmin on human fibrinogen. *Thromb Res* 1975;6:1-8.
18. Brandstedt S, Olson PS. Lack of influence on collagen accumulation in granulation tissue with 'delayed' defibrinogenation. A study in the rabbit. *Acta Chir Scand* 1981; 147:89-91.
19. Hedelin H, Johansson S, Peterson HI, Teger-Nilsson AC, Pettersson S. Influence of fibrin clots on development of granulation tissue in preformed cavities. *Surg Gynecol Obstet* 1982 Apr;154:521-5.