

# Deneysel akut kolesistitte inflamasyon ve fibrozise seks hormonlarının etkisi

Ahmet TEKİN<sup>1</sup>, Adil KARTAL<sup>1</sup>, Celalettin VATANSEV<sup>1</sup>, Tevfik KÜÇÜKKARTALLAR<sup>1</sup>, Mustafa ŞAHİN<sup>1</sup>, Selçuk DUMAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı,

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KONYA

## ÖZET

**Amaç:** Deneysel akut kolesistitte safra kesesi çevresinde ve duvarında inflamasyon ve fibrozise seks hormonlarının etkisini araştırmak. **Gereç ve yöntem:** Çalışmada 48 tavşan (24 erkek ve 24 dişi) kullanıldı. Akut kolesistit kontrol grupları dışındaki gruplarda sistik kanal ligatürü (SKL) ile oluşturuldu. Dişi (DI, DII, DIII, DIV) ve erkek (EI, EII, EIII, EIV) denekler 6'şar denekten oluşan dörder alt grubu ayrıldı. Akut kolesistitin makroskopik bulguları değerlendirildi. Safra kesesi çevresindeki adeziv bandlar ve ardından çıkarılan safra kesesi duvarından alınan örnekler derin dondurucuda korundu. Fibrotik bandlar ve safra kesesi kollagen ve hidroksiprolin (HP) için değerlendirildi. **Bulgular:** Makroskopik olarak tüm deneklerde akut kolesistit gelişti. Erkeklerde safra kesesi çevresinde daha yoğun yapışıklık görüldü. Ovariectomili deneklerde erkeklere yakın derecede kastre erkeklerde ise dişilere benzer yapışıklık izlendi. Ovariectomili dişi deneklere dıştan östrodiol verildiğinde yapışıklıkların kontrol grubuna göre daha az olduğu saptandı. Yine kastre erkeklere dıştan testosteron verildiği zaman yapışıklıkların kontrol grubuna göre daha şiddetli olduğu görüldü. Bu bulgular HP'nin kantitatif değerleriyle de uyumluydu. Safra kesesi duvarında kollajen yoğunluğu erkek deneklerde dişilerden daha yüksek bulundu. **Sonuç:** Kastre erkek deneklerdeki akut kolesistit sonuçlarının dişilere benzer olması ve dıştan verilen testosteronla tekrar erkeklerdeki bulguların oluşması veya ovariectomili denek sonuçlarının erkeklere benzerliği ve dışarıdan verilen östrojen (östradiol) ile benzerliğin kaybolması akut kolesistitlerdeki inflamasyon ve fibrozisi artırıcı yönde erkek seks hormonlarının etkisini açıkça göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kolesistit, fibrozis, cinsiyet

Selçuk Tıp Derg 2006; 22: 29-34

## SUMMARY

### The effects of sex hormones on inflammation and fibrosis of experimental acut cholecystitis

**Aim:** To identify the effects of sex hormones on inflammation and fibrosis on and around gall bladder. **Material and method:** In this study 48 rabbit (24 male, 24 female) was used. Acute cholecystitis was achieved by cystic canal ligation (SCL) except control groups. Female (DI, DII, DIII, DIV) and male (EI, EII, EIII, EIV) groups had 4 subgroups, each consist of 6 members. Macroscopic findings of acute cholecystitis were evaluated. Adhesive bands around gall bladder and biopsies from gall bladder were protected in deep freezer. Fibrotic bands and gall bladder were analyzed for hidroxyprolin (HP) and collagen. **Results:** Acute cholecystitis was developed in all subjects macroscopically. On male subjects adhesions around gall bladder were seen more intensively. Result of subjects with ooferectomy were close to male subjects. On castrated male subjects adhesions were similar to female subjects. The adhesions were less at female subjects with ooferectomy with external estrogen use. The lesions were more at castrated male subjects with external testosteron use. These findings were relevant with quantitative values of HP. Collagen were found more in male subjects compored to female subjects. **Conclusion:** The results is castrated males were similar to those in females and with usage of external testosteron male type results were achieved. And the similarity of results in female subjects with ooferectomy to males achievement of female type results with usage of external estrogens clearly shows us inflammation and fibrosis increasing effect of male sex hormones in acute cholecystitis.

**Key words :** Cholecystitis, fibrosis, sex

Haberleşme Adresi: Dr. Ahmet TEKİN

S.Ü. Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, KONYA

e-posta: drtekina@hotmail.com

Geliş Tarihi : 26.12.2005

Yayına Kabul Tarihi : 30.01.2006

Semptomatik taşlı kolesistitlerde tercih tedavi şekli cerrahi, yani kolesistektomidir. Günümüzde safra kesesinin laparoskopik olarak çıkarılması en ideal yöntem olarak kabul görmüştür. Ancak her kolesistektomi, laparoskopik başlanıp laparoskopik olarak bitirilemez. Laparoskopik kolesistektomilerde %3-10 oranında açık tekniğe dönme gereksinimi bulunmaktadır. Akut kolesistitlerde bu oran daha da yüksek olarak bildirilmiştir. Açık cerrahiye dönülmesinin yoğun fibrozis, anatomik anomaliler, yaş, akut inflamasyon, teknik yetersizlik, cinsiyet faktörü (hastanın erkek olması), gibi belli başlı nedenleri bulunmaktadır (1-8). Bazı çalışmalarda seksin en önemli faktörlerden birisi olduğu iddia edilirken (9-11) bazı çalışmalarda buna karşı fikirler öne sürülmüştür (2-12-13).

Klinik tecrübelerimizde her cerrah bilirki erkeklerde laparoskopik kolesistektomi daha zordur ve safra kesesi etrafında çok kuvvetli fibrozis vardır. Bunun tam aksine bayanlarda özellikle doğurganlık çağında olanlarda disseksiyon çok kolay olmaktadır, çünkü safra kesesi etrafında kolayca ayrılabilen gevşek bir fibrozis vardır. Klinikte yapılması etik, hatta mümkün olmayan bir çalışma planlayarak bu fibrozisin gerçekten seks hormonları ile ilgisini araştırmak için deneysel platformda bu çalışmayı düzenledik.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma S.Ü. Meram Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ve Histoloji Anabilim Dallarının iş birliğiyle S.Ü. Meram Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi.

Çalışmada ağırlığı 2400-2500gr olan Yeni Zelanda tipi 24 erkek, 24 dişi toplam 48 tavşan kullanıldı (14). Özel kafeslerde barındırılan tavşanlar preoperatif ve postoperatif dönemde standart tavşan yemi ile beslendi.

## Operatif İşlem

Operasyondan önce özel kafeslerde barındırılan tavşanlara 80 mg / kg (i.M.) Ketamin hidroklorür (Ketalar) ve 10 mg/kg acepromazine (i.M.) kombinasyonu ile anestezi uygulandı. Denekler dişi (24) ve erkek (24) olarak iki ana gruba ayrıldı. Her ana gruptaki alt gruplar (6' şar deneklik) ve yapılan işlemler aşağıda gösterilmiştir.

## Dişi denekler grubu ( D )

I. grup: Kontrol (D I)

II. grup: Sistik kanal ligatürü (D II)

III. grup: Sistik kanal ligatürü + Ovariektomi (D III)

IV. grup: Sistik kanal ligatürü + Ovariektomi + Eksojen östradiol propionate (D IV)

## Erkek denekler grubu ( E )

I. grup: Kontrol (E I)

II. grup: Sistik kanal ligatürü (E II)

III. grup: Sistik kanal ligatürü + Orşiektomi (E III)

IV. grup: Sistik kanal ligatürü + Orşiektomi + eksojen testosteron (E IV)

Anestezi altındaki tavşanlarda gerekli hazırlıklardan sonra 3 cm'lik orta hat kesisi ile karın açıldı. Kontrol grubu dışındaki tüm tavşanların sistik kanalları disseke edilerek 4/0 prolenele bağlandı. Kontrol gruplarına sadece sistik kanal disseksiyonu yapıldı.

Dişi deneklerden D III ve D IV'te yapılanlara ek olarak iki taraflı ovariektomi, erkek deneklerden E III ve E IV'tekilere iki taraflı orşiektomi uygulandı. D IV'tekilere ayrıca yedi gün süre ile eksojen östradiol propionate 0.05mg/kg/gün i.M. (Tüfarma) (20), E IV. gruptakilere eksojen testosteron 1.0mg/kg/gün i.M. (Organon) verildi (16).

Postoperatif 7. günde deneklere relaparotomi yapıldı. Relaparatomide gruptaki makroskopik değerlendirmeler Granat skorlamasına göre yapıldı (15) (Tablo 1).

Tablo 1: Granat skorlama sistemi

Skor	Makroskopik görünüm
0	Yapışıklık yok
1	İnce filamentöz kolayca ayrılabilen yapışıklıklar mevcut
2	Sınırlı bir alanda ince yapışıklıklar mevcut
3	Geniş bir alanda ince yapışıklıklar mevcut
4	Geniş bir alanda ince yapışıklıklara ek olarak visseral organların karın duvarına ve enflame dokulara yapışması şeklinde görünüm mevcut

Hidroksiprolin (OH-P) tayini için periferik bandlardan örnek alındı ve (serum fizyolojik içinde) -60°C'de saklandı. Alınan materyalin yetersizliği göz önünde bulundurularak bu bandlar yalnız OH-P için değerlendirildi. Daha sonra kolesistektomi uygulandı. Safra kesesi açılarak içeriği boşaltıldı

ve yıkandı. -60°C'de derin dondurucuda serum fizyolojik içinde korundu. Safra kesesi kantitatif ve kalitatif kollajen için değerlendirildi. Kollajenin kalitatif tayini şöyle yapıldı: Dokular nötral formalinde tespiti yapıldıktan sonra parafin bloklara gömüldü ve 5'er mikronluk kesitler alındı. Van Giezon histokimyasal boyası uygulanan kesitler ışık mikroskopunda tunika mukoza altında kollajen birikimi gözlenerek değerlendirildi. HP analizi modifiye Woessner metodu kullanılarak µg / mg/ kuru doku olarak tayin edildi (18).

Çalışmada istatistiksel analizler nonparametrik varyans analizi olan Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı. Birbirinden bağımsız olarak gruplar arasındaki sonuçları analiz etmek için Bonferroni düzeltilmesi yapılmış nonparametrik Mann-Whitney testi uygulandı.  $p < 0.005$  anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Relaparatomide tüm deneklerde makroskopik olarak akut kolesistit halinin olduğu gözlemlendi. Safra kesesi çevresindeki yapışıklıklar makroskopilerine göre şöyle değerlendirildi.

D I grubunda safra kesesi çevresinde hiç yapışıklık yoktu.

D II grubunda safra kesesi çevresinde yapışıklıkların D I grubuna göre daha fazla olduğu ancak kolay ayrıldığı görüldü (grade 1).

D III grubunda safra kesesi çevresindeki yapışıklıkların D I grubuna göre daha fazla olduğu hatta çevre dokular tarafından safra kesesinin tamamen sarıldığı izlendi (grade 3).

D IV grubunda ise yapışıklıklar D I grubuna göre

biraz daha fazlaydı ve ayrılırken zorlanma olmadı (grade 1) (Şekil 1).

E I grubunda safra kesesi çevresinde minimal derecede yapışıklık olduğu ancak kolay ayrıldığı saptadık. E II grubunda safra kesesi çevresindeki yapışıklıkların daha çok olduğu hatta safra kesesinin çevre dokular tarafından tamamen çevrelendiği ve yapışıklıkların daha zor ayrıldığı, yapışıklıklar ayrıldıktan sonra safra kesesi duvarında nekroze alanların olduğu görüldü (grade 4).

E III grubunda safra kesesi çevresindeki yapışıklıkların E I'e göre biraz daha fazla olduğu, ancak kolay ayrıldığı izledik (grade 2).

E IV grubundaki yapışıklıkların ise E I grubuna göre ileri derecede fazla olduğu hatta yapışıklıklar biraz ayrıldıktan sonra safra kesesinin tamamen nekroze olduğu farkedildi (grade 4) (Şekil 2).



Şekil 2. Safra kesesi çevresindeki adezyonlar (E IV grubu)

Gruplar arasındaki makroskopik değerlendirme Granat skorkalama sistemi kullanılarak yapıldı (Tablo 2).

Tablo 2: Granat skorlama sistemine göre makroskopik değerlendirme

Gruplar	Grade 0	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV	n= 6
DI	5	1				6
DII		6				6
DIII			1	5		6
DIV		6				6
E I		6				6
EII					6	6
EIII	1	5			6	6
EIV					6	6



Şekil 1. Safra kesesi çevresindeki adezyonlar (D IV grubu)

**Tablo 3:** Safra kesesi çevresindeki adeziv bantlarda OH-P miktarı

Dişi	Hidroksiprolin ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )(ortalama $\pm$ SS)	Erkek	Hidroksiprolin ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )(ortalama $\pm$ SS)
I	8.02 $\pm$ 1.09	I	13.03 $\pm$ 0.68
II	14.27 $\pm$ 1.15	II	15.87 $\pm$ 1.15
III	16.83 $\pm$ 0.99	III	9.76 $\pm$ 2.5
IV	6.94 $\pm$ 0.88	IV	24.12 $\pm$ 1.96

**Tablo 4:** Safra kesesi duvarındaki OH-P miktarı

Dişi	Hidroksiprolin ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )(ortalama $\pm$ SS)	Erkek	Hidroksiprolin ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )(ortalama $\pm$ SS)
I	7.85 $\pm$ 0.94	I	12.66 $\pm$ 2.76
II	13.35 $\pm$ 0.68	II	11.14 $\pm$ 1.8
III	14.88 $\pm$ 1.14	III	10.55 $\pm$ 2.48
IV	7.64 $\pm$ 1.2	IV	20.10 $\pm$ 1.98

Safra kesesi duvarındaki ve çevresindeki adeziv bantlardan alınan örneklerdeki Hidroksi prolin değerleri (Tablo 3-4)'de verilmiştir.

Safra kesesi periferindeki adeziv bantlardaki hidroksiprolin değerlerinde dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı farklar vardı ( $p=0.0001$ ). D II, D III ve D IV grupları DI (kontrol) ile karşılaştırıldığında sadece D IV ve D I grupları arasında anlamlı fark vardı ( $p=0.027$ ). Aynı şekilde erkek denek grupları da karşılaştırıldığında D III grubunda anlamlı azalma, DIV grubunda ise anlamlı artma izlenmekte idi ( $p=0.012$  ve  $p=0.009$ ).

Safra kesesi duvarından alınan örneklerdeki değerlendirmelerde dişi gruplarında D III ve D I grupları arasında anlamlı fark tesbit edilirken ( $p=0.045$ ), erkek denekler arasında E III ve E IV grupları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında fark



**Şekil 3.** Submukozaal kollajen lifleri (safra kesesi) (D III Grubu)( V.G x 40)



**Şekil 4.** Submukozaal kollajen lifleri (safra kesesi) (D IV Grubu)( V.G x 10)



**Şekil 5.** Submukozaal kollajen lifleri (safra kesesi) (E III Grubu)( V.G x 10)



**Şekil 6.** Submukozaal kollajen lifleri (safra kesesi) (E IV Grubu)( V.G x 40)

anlamlı idi ( $p=0.018$  ve  $p=0.012$ ).

Kalitatif değerlendirme için safra kesesi duvarındaki kollajen miktarı değerlendirildi ve bulguların kantitatif değerlendirme ile uyum içinde olduğu tesbit edildi.

D III grubunda D I grubuna kıyasla daha fazla kollajen birikir iken (Şekil 3), D IV grubunda neredeyse hiç kollajen yoktu (Şekil 4), Erkek denek grubunda da E IV grubunda E II'ye kıyasla daha

çok kollajen bulunurken (Şekil 5), E III grubunda ise daha az kollajen tesbit edildi (Şekil 6).

## TARTIŞMA

Semptomatik kolelitiazisli hastaların tedavisinde laparoskopik kolesistektomi rutin olarak kullanılmaktadır. Ancak her hastada belli oranda açığa geçme ihtimali bulunmaktadır. Birçok çalışmada erkek cinsiyetinin açığa dönmede önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir (9-18). Literatürde erkeklerde açığa dönmenin daha yüksek olduğunu doğrulama amaçlı yapılmış çalışma tesbit edemedik. Zisman ve arkadaşları bir çalışmalarında erkeklerde hem açığa dönmenin daha çok olduğu hem de safra yolu anomalilerinin daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir (19). Diğer bir çalışmada erkeklerin kadınlar gibi sağlık problemlerini önemsemediği ve eskittiğini ileri sürmektedir. Ayrıca eğer bu problem safra taşı ise erkek hastalar kronik zeminde bir takım akut atakları geçirmiş olarak cerrahın karşısına çıkmakta bu da ameliyatı, özellikle laparoskopik kolesistektomiye güçleştirir denilmektedir (11). Açık tekniğe dönmenin en önemli nedeni disseksiyonu güçleştiren ve anatominin görünür olmasını önleyen yoğun fibrozis olduğu kanaatindeyiz. Fibrozisin erkeklerde daha abartılı olduğu inancından hareketle deneysel platformda yapmış olduğumuz bu çalışmada, makroskopik olarak kese çevresindeki yapışıklıklar, safra kesesi duvarındaki kollajen birikimi ve bunun biyokimyasal kanıtı olan OH-P miktarlarını ölçmeye çalıştık. Ayrıca klinikte denenmesi kabil olmayan kastrasyon uygulamaları ve eksojen seks hormonlarını vererek oluşturduğumuz gruplarda fibrozisin doğrudan seks hormonları ile ilişkisini ortaya koymaya çalıştık.

Bizim çalışmamızda erkek ve dişi gruplar arasında akut kolesistitin şiddeti ve periferik yapışıklık bakımından önemli farklar vardı. Erkek denek gruplarında ciddi akut kolesistit hali, safra kesesi çevresinde aşırı derecede enflamatuvar yapışıklık vardı (grade 3-4). Dişi denek gruplarında ise kolesistit daha ılımlı, yapışıklıklar daha kolay ayrılabilmekte ve çevre dokular tarafından daha az sarılmakta olduğunu tesbit ettik (grade 1-2). Kastre erkek deneklerde dişi deneklere benzer bulgular tesbit edildi. Bununla beraber eksojen olarak testosteron verilen grupta yapışıklık çok şiddetli idi. Öte yandan grade 3-4 olan ovariektomili gruba eksojen olarak östrojen verildiğinde grade 1-2'ye

gerilediği tesbit edildi. Hidroksiprolin değerlerinin makroskopik bulgularla paralellik gösterdiğini tesbit ettik.

Literatürde seks hormonlarının yara iyileşmesi ve iltihabi olaylar üzerindeki etkisini irdeleyen çok az yazı bulunmaktadır. Bu çalışmaların birinde östrojenin derideki yaralarda kollajen birikimini artırırken peritoneal inflamasyonda fibrosüpressif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (20). Kolesistitlerin erkeklerde daha yoğun, kadınlarda daha gevşek fibrozis oluşturduğu, daha önceki bir klinik çalışmamızda ortaya konmuştu (21). Shamberger ve ark. normal ve kastre edilmiş erkek ratların deri yaralarında testosteronun etkisini araştırdılar (22). Kastre edilmiş ratlarda 14. günde kopma direncinde %15 oranında bir azalma saptadılar. Ancak 21. günde sakrifiye edilen ratlarda kontrol ve kastrasyon grubunda bir fark izlenmedi. Aynı çalışmada eksojen verilen testosteronun normal ve kastre ratlarda yara iyileşmesinde olumlu veya olumsuz bir etkiye yol açmadığı yani kollajen birikimine bir etki yapmadığı ortaya kondu. Çalışmamızda ise eksojen hormon replasmanı yapılan gruplarda kontrol gruplarına yakın hatta bazı deneklerde kontrol grubundan daha iyi sonuçlar elde ettik (P= 0.012). Literatürde testosteronla yara ilişkisini inceleyen çok az sayıda çalışmaya karşılık, testosteron travma ilişkisini konu alan nispeten daha çok çalışma bulunmaktadır. Frazier ve ark. östrojenin peritoneal fibrozis üzerindeki etkisini araştırmak üzere ovariektomize ratlara düşük ve yüksek doz estradiol ve ardından periton içine talk solüsyonu ve serum fizyolojik verdiler. Sonuçları plasebo grubu ratlarla karşılaştırdılar. Çalışmada peritondaki konnektif doku sentezinde düşük doz estradiol ile %29, yüksek doz ile %65'lik bir azalma saptadılar (23-24). Buna göre yüksek doz estradiolün konnektif doku artışını engellediği görülmektedir. Çalışmamızda gerek D gerekse E gruplar içi fark gerekse D ve E grupları arasındaki fark esas alınarak yapılan değerlendirmede dişi tavşanların safra kesesi duvarında elde ettiğimiz daha az inflamasyon, daha seyrek kollajen ve düşük OH-P miktarı; sonuçta daha ılımlı ve yumuşak fibrozis, dişilerde meydana gelen bu değişikliklerin daha önceki yapılan çalışmalardan da esinlenerek östrojenin etkisiyle olduğunu gösterdi. Aynı şekilde erkek deneklerin kese duvarında daha fazla inflamasyon, daha yoğun kollajen ve yüksek OH-P miktarları;

sonuçta daha sert ve yoğun fibrozis bizi, bu etkilerin testosterona bağlı olduğunu açıklamaya sevk eder. Daha önceki yapılan klinik çalışmamızda erkeklerde submukozal düzeyde ve bandlarda histolojik olarak saptanan kollajenin kadınlara oranla çok daha yoğun olduğu gözlemlendi. Yine erkeklerin safra kesesi duvarında ve adeziv bandlarda OH-P değerlerinin daha yüksek ve aradaki farkın istatistiksel bakımdan anlamlı ( $p=0.015$ ) olduğu görüldü (25).

Sonuç olarak erkek tavşanların akut kolesistitlerinde safra kesesinin çevresinde daha masif adeziv bandlar oluşmaktadır. Safra kesesi duvarında daha yoğun inflamasyon ve hücre birikimi ile daha yoğun kollajen görülmektedir. Bunun

#### KAYNAKLAR

1. Capizzi FD, Fogli L, Brulatti M, Boschi S, Di Domenico M, Papa V, Patrizi P. Conversion rate in laparoscopic cholecystectomy: evolution from 1993 and current state. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2003; 13: 89-91.
2. Rosen M, Brody F, Ponsky J. Predictive factors for conversion of laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 2002; 184: 254-8.
3. Wiebke EA, Pruitt AL, Howard TJ, Jacobson LE, Broadie TA, Goulet RJ Jr, Canal DF. Conversion of laparoscopic to open cholecystectomy. An analysis of risk factors. *Surg Endosc* 1996; 10: 742-5.
4. Cox MR, Wilson TG, Luck AJ, Jeans PL, Padbury RT, Toouli J. Laparoscopic cholecystectomy for acute inflammation of the gallbladder. *Ann Surg* 1993; 218: 630-4.
5. Shea JA, Healey MJ, Berlin JA, Clarke JR, Malet PF, Staroscik RN, Schwartz JS, Williams SV. Mortality and complications associated with laparoscopic cholecystectomy. A meta-analysis. *Ann Surg* 1996; 224: 609-20.
6. Nair RG, Dunn DC, Fowler S, McCloy RF. Progress with cholecystectomy: improving results in England and Wales. *Br J Surg* 1997; 84: 1396-8.
7. Sanabria JR, Gallinger S, Croxford R, Strasberg SM. Risk factors in elective laparoscopic cholecystectomy for conversion to open cholecystectomy. *J Am Coll Surg* 1994; 179: 696-704.
8. Peters JH, Krailadsiri W, Incarbone R, Bremner CG, Froes E, Ireland AP, Crookes P, Ortega AE, Anthone GA, Stain SA. Reasons for conversion from laparoscopic to open cholecystectomy in an urban teaching hospital. *Am J Surg* 1994; 168: 555-9.
9. Kanaan SA, Murayama KM, Merriam LT, Dawes LG, Prysowsky JB, Rege RV, Joehl RJ. Risk factors for laparoscopic to open cholecystectomy. *J Surg Res* 2002; 106: 20-4.
10. Lein HH, Huang CS. Male gender: risk factor for severe symptomatic cholelithiasis. *World J Surg* 2002; 26: 598-601.
11. Russell JC, Walsh SJ, Reed-Fourquet L, Mattie A, Lynch J. Symptomatic cholelithiasis: a different disease in men? Connecticut Laparoscopic Cholecystectomy Registry. *Ann Surg* 1998; 227: 195-200.
12. Liu CL, Fan ST, Lai EC, Lo CM, Chu KM. Factors affecting conversion of laparoscopic cholecystectomy to open surgery. *Arch Surg* 1996; 131: 98-101.
13. Alonati A, Kum CK, Koh BC, Rajnakova A, Goh PM. Predictive factors for conversion of laparoscopic cholecystectomy. *World J Surg* 1997; 21: 629-33.
14. Trondsen E, Rosseland AR, Clausen AR, Bakka A, Engh E, Rodland EA, Aasen AO. An experimental study on effects of occlusion of the cystic duct in mice with or without emptying of the gallbladder. *Eur Surg. Res.* 1997; 29(2): 150-8
15. Granat M, Tur-Kaspa I, Zylber-Katz E, Schenker JG. Reduction of peritoneal adhesion formation by colchicine: a comparative study in the rat. *Fertil Steril* 1983; 40: 369-72.
16. Graham MF, Willey A, Adams J, Yager D, Diegelmann RF. Role of ascorbic acid in procollagen expression and secretion by human intestinal smooth muscle cells. *J Cell Physiol* 1995; 162: 225-33.
17. Kama NA, Kologlu M, Doganay M, Reis E, Atli M, Dolapci M. A risk score for conversion from laparoscopic to open cholecystectomy. *Am J Surg* 2001; 181: 520-5.
18. Woess JF Jr. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961 May; 93: 440-7.
19. Zisman A, Gold-Deutch R, Zisman E, Negri M, Halpern Z, Lin G, Halevy A. Is male a risk factor for conversion of laparoscopic into open cholecystectomy? *Surg Endosc* 1996; 10: 892-4.
20. Frazier-Jessen MR, Mott FJ, Witte PL, Kovacs EJ. Estrogen suppression of connective tissue deposition in a murine model of peritoneal adhesion formation. *J Immunol* 1996; 156: 3036-42.
21. Kartal A, Aksoy F, Vatanssev C, Sahin M, Yilmaz O, Belviranlı M, Karahan O. Does estrogen cause low conversion rates in laparoscopic cholecystectomies for acute and chronic cholecystitis in women? *JLS* 2001; 5: 309-12.
22. Shamberger RC, Thistlethwaite PA, Thibault LE, Talbot TL, Brennan MF. The effect of testosterone propionate on wound healing in normal and castrate rats. *J Surg Res* 1982; 33: 58-68.
23. Wichmann MW, Ayala A, Chaudry IH. Male sex steroids are responsible for depressing macrophage immune function after trauma-hemorrhage. *Am J Physiol* 1997; 273: 1335-40.
24. Frazier-Jessen MR, Kovacs EJ. Abdominal wall thickness as a means of assessing peritoneal fibrosis in mice. *J Immunol Methods* 1993; 162: 115-21.
25. Kartal A, Vatanssev C, Aksoy F, Boz S, Aktan M, Gölcük M. Inflammation and fibrosis of cholecystitis in males is more than in females. 5th European Congress of the IHPBA May 28-31, 2003 Istanbul, Turkey, *HPB* 2003;5 supplement 1; 54.