

# Gastroşizisli Cıvciv Embriyolarında Intraamniyotik Mekonyumla Oluşan Barsak Hasarında Üriner Tripsin İnhibitörünün İntestinal Motiliteyi Koruyucu Etkisi

THE PROTECTIVE EFFECT OF URINARY TRIPSIN INHIBITOR ON INTESTINAL MOTILITY IN INTESTINAL DAMAGE OCCURING WITH INTRAAMNIOTIC MECONIUM OF CHICK EMBRYOS WITH GASTROCHISIS

Osman Z. KARAKUŞ<sup>1</sup>, Oğuz ATEŞ<sup>1</sup>, Nergis MURAT<sup>2</sup>, Gülce HAKGÜDER<sup>1</sup>, Mustafa OLGUNER<sup>1</sup>, Bora SOLMAZ<sup>1</sup>, Erdener ÖZER<sup>4</sup>, Sedef GİDENER<sup>3</sup>, Feza M. AKGÜR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu

<sup>3</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

<sup>4</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

## ÖZET

**Amaç:** Gastroşiziste barsak hasarı morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde etkiler. Morbiditenin en önemli nedeni barsak hasarı nedeniyle motilitenin yetersizliğine bağlı hastaların uzun süre parenteral beslenmelerinden kaynaklanan sepsis, kolestaz gibi ciddi sorunlardır. Üriner tripsin inhibitörü (ÜTİ)'nin gastroşiziste barsak hasarını engellediği gösterilmiştir. İntestinal motilite üzerindeki etkileri bilinmemektedir. Gastroşiziste ÜTİ'nin intestinal motilite üzerine etkilerini göstermek amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Bu çalışmada beş günlük cıvciv embriyoları kullanıldı. Kontrol grubunda yumurtalar hiç açılmadan izlendi. Sham grubunda sadece amniotik kese açıldı. Gastroşizis grubunda allantoik kese açılmadan amniyotik kese açılarak gastroşizis oluşturuldu. Mekonyum+gastroşizis grubunda, amnion sıvısına 1/400 konsantrasyonda mekonyum süspansiyonu eklendi. Tedavi gruplarında ise, sırasıyla 100, 200 ve 400 İÜ/ml ÜTİ + 1/400 mekonyum süspansiyonu gastroşizisli embriyoların amnion sıvısına eklendi. Embriyolar 18. günde çıkartılarak gastroşizisli barsak segmentleri Tyrode solüsyonunda organ banyosuna asılarak kümülatif olarak denenen asetilkolin ( $10^{-9}$ -  $10^{-4}$  M) ile oluşan kasılma yanıtları ölçüldü ve maksimum yanıt ( $E_{max}$ )  $10^{-4}$  konsantrasyonda alındı. Barsaklar histopatolojik olarak incelenerek seroza kalınlıkları ölçüldü.

**Bulgular:** Tüm gruplar  $E_{max}$ 'taki yanıtlarına göre değerlendirildiğinde kontrol, sham ve 400 İÜ/ml ÜTİ grupları arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. Gastroşizis mekonyum, 100 İÜ/ml ÜTİ ve 200 İÜ/ml ÜTİ grupları arasında da anlamlı fark saptanmadı. Bu gruplar ile 400 İÜ/ml ÜTİ grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ( $p < 0,01$ ).

## Oğuz ATEŞ

Dokuz Eylül Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Çocuk Cerrahisi AD

35340 İnciraltı İZMİR

Tel: (232) 4123001

e-posta: oguz.ates@deu.edu.tr

barsak seroza kalınlıklarında gastroşizis mekonyum, 100 ve 200 İÜ/ml ÜTİ gruplarında artış saptanırken, 400 İÜ/ml ÜTİ grubunda normal saptandı.

**Sonuç:** Gastroşiziste, intraamniotik 400 İÜ/ml ÜTİ, 1/400 konsantrasyonda mekonyum süspansiyonun yarattığı barsak hasarı ve motilite azlığını engellemektedir.

**Anahtar sözcükler:** Gastroşizis, barsak hasarı, motilite, üriner tripsin inhibitörü

#### SUMMARY

**Objective:** Intestinal damage (ID) is closely related to morbidity and mortality in gastroschisis. The reason of morbidity is hypomotility due to ID. Hypomotility causes serious problems such as sepsis and cholestasis following long time parenteral nutrition. Urinary trypsin inhibitor (UTI) has been shown to prevent intestinal damage in gastroschisis. However, the effect of UTI on intestinal motility is not known. An experimental study has planned to investigate the effects of UTI on intestinal motility in gastroschisis.

**Methods:** Five-days-old fertilized chick embryos were used in this study. In control group, embryos was observed without opening the eggs. In Sham group only amniotic membrane was opened. In gastroschisis group, gastroschisis was created after amniotic membrane was opened. In the meconium + gastroschisis group, 1/400 meconium suspension was instilled into the amniotic cavity. In the treatment groups, 100, 200 and 400 IU/ml UTI plus 1/400 meconium suspension was instilled to amniotic cavity of the gastroschisis embryos, respectively. On the 18<sup>th</sup> gestational day, all embryos were extirpated and intestines were harvested then placed in Tyrode solution. Contraction responses in intestine were assessed by isolated tissue bath with cumulative doses of acetylcholine ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$ M). Serosal thicknesses of the intestines in each group were evaluated histopathologically.

**Results:** When all the groups were evaluated according to their response to  $E_{max}$ , there was no significant difference between control, Sham, gastroschisis and 400 IU/ml UTI groups. Similarly there was no significant difference between meconium + gastroschisis group, 100 IU/ml and 200 IU/ml UTI groups. Significant difference was determined between these groups and 400 IU/ml UTI group ( $p < 0,01$ ). Indeed serosal thicknesses were increased in meconium + gastroschisis, 100 and 200 IU/ml UTI groups, it was normal in 400 IU/ml UTI group.

**Conclusion:** Intraamniotic 400 IU/ml UTI prevents the ID and hypomotility induced by 1/400 concentration of meconium in gastroschisis.

**Key words:** Gastroschisis, intestinal damage, motility, urinary trypsin inhibitor

Gastroşiziste amniyon sıvısı (AS) ile temas sonucu barsak hasarı gelişmektedir (1-4). Hasarın histopatolojik sonuçları yanında barsak motilitesi üzerine etkileri de belirgindir. Barsak hasarının sebep olduğu motilite yetersizliği, gastroşiziste morbidite ve mortalite üzerindeki en önemli faktördür (1-5). Morbidite ve mortalitenin nedeni, motilite yetersizliğine bağlı, hastaların uzun süre parenteral beslenmelerinden kaynaklanan sepsis ve kolestaz gibi ciddi sorunlardır.

Gastroşiziste barsak hasarını engellemeye yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Yenidoğan idrarında üriner tripsin inhibitörü (ÜTİ) denilen bir proteinin miktarının erişkinden fazla olduğu ve bu maddenin İL-8 ve TNF- $\beta$ 'nin enflama-

tuar etkisini inhibe ettiği gösterilmiştir (6-10). Gastroşizisli civciv embriyolarında ÜTİ'nin oluşabilecek barsak hasarını engellediği histopatolojik olarak gösterilmiştir. Ancak ÜTİ'nin barsak kontraktilitesi üzerine etkisi bilinmemektedir (6).

ÜTİ'nin, gastroşizisli civciv embriyolarında intraamniotik mekonyuma bağlı olarak gelişen barsak hasarında intestinal kontraktiliteyi koruyabilirliğini araştırmak amacı ile bu çalışmayı planladık.

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanı olarak döllenmiş tavuk yumurtaları (Gallus Domesticus) kullanıldı. Mikrocerrahi aletler ve 10x büyütme operasyon mikroskobu (OPMI-99, Carl Zeiss,

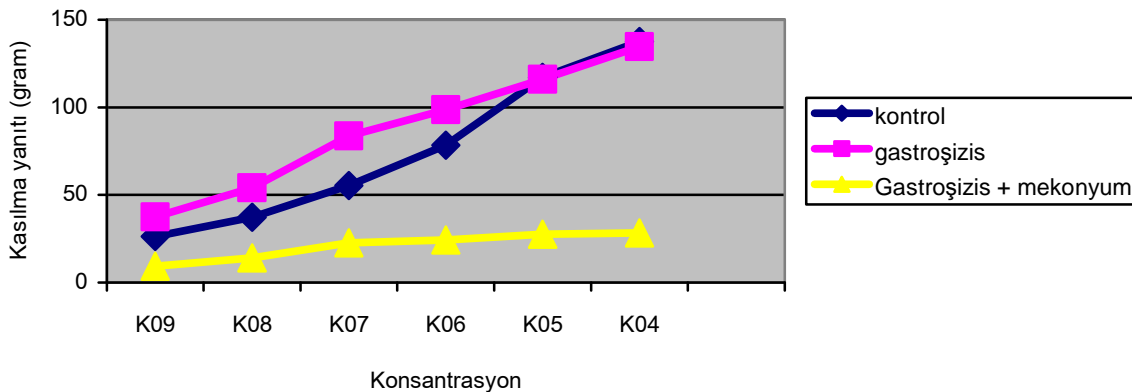
Jena, Almanya) kullanılarak döllenmenin 5. gününde yumurtaların kabukları hava kesesi bölgesinden açıldı. AS tekrar geri verilmek üzere bir enjektöre aspire edildi. Allantoik kavite açılmadan amniyotik kavite içerisindeki embriyoların karın duvarında yaklaşık 2,5 mm karın duvarı defekti oluşturuldu (11). Yumurtalar 6 gruba ayrıldı. Grup 1'de yumurtalar açılmadan izlendi (Kontrol grubu). Grup 2'de (sham grubu) allantoik kese açılmadan sadece amniyotik kese açılarak gastroşizis oluşturuldu. Grup 3, 4, 5 ve 6'da ilk aşamada gastroşizis oluşturuldu ve intraamniyotik son konsantrasyonu 1/400 olacak şekilde mekonyum süspansiyonu hazırlanarak amniyotik kavite içerisine konuldu (6,12). Steril mekonyum insan yenidoğanından elde edildi. Takiben grup 4, 5 ve 6'daki embriyoların AS içerisine son konsantrasyonları sırasıyla 100, 200, 400 İÜ/ml olacak şekilde ÜTİ (Mochida Pharmaceuticals Co, Yotsuya, Tokyo, Japonya) eklendi. Yumurtaların açılan kısımları steril film ile kapatılarak inkübatörde 37,5°C de %80 nem oranında muhafaza edildi. Çalışmaya her gruptan 10 adet canlı embriyo elde edilinceye kadar devam edildi.

Her gün ölen embriyo yumurtaları diğerlerinden uzaklaştırıldı. Döllenmenin 18. gününde canlı embriyolar boşaltıldı ve barsak segmentleri 1 cm uzunlukta rezeke edilerek Tyrode solüsyonuna alındı. Örnekler 37°C'de 0,5 g gerilimle, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 O<sub>2</sub> ile gazlandırılan Tyrode solüsyonu içeren 10 ml'lik organ banyosuna asıldı. Dokular 60 dakikalık dinlenme periyodu süresince 15 dakikada bir Tyrode solüsyonu ile yıkandı. Tüm gruplarda dinlenme periyodu sonunda dokulara kümülatif olarak asetilkolin

(Ach) ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$  M) (Merc Chemical Company, Darmstadt, Germany) uygulandı. İzometrik kasılma yanıtları May transdüserler (MAY Polwin 97, Acquisition Software, Ankara, Türkiye) aracılığıyla, Biopac programına aktararak değerlendirildi. Ayrıca tüm gruplarda çıkarılan barsak segmentlerinden 10 mm'lik materyal ise %10'luk formol çözeltilisi içerisine konularak histopatolojik incelemeye alındı ve barsak örneklerindeki serozal kalınlıkları  $\mu$ m cinsinden ölçülerek değerlendirildi. Elde edilen veriler gruplarda ortalama  $\pm$ SS olarak değerlendirildi. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U analiz yöntemleri kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirmede  $p < 0,01$  az olan değerler anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Tüm gruplarda Ach'nin ( $10^{-9}$ 'dan  $10^{-4}$ 'e kadar) artan konsantrasyonlardaki yanıtlarına göre değerlendirildi ve maksimum yanıt  $10^{-4}$  konsantrasyonda ( $E_{max}$ ) alındı. Gruplar  $E_{max}$ 'taki yanıtlarına göre karşılaştırıldı (Grafik 1). Gastroşizis grubu, kontrol ve 400 İÜ/ml ÜTİ grupları arasında fark olmadığı saptandı ( $p > 0,01$ ). Gastroşizis + mekonyum, 100 İÜ/ml ÜTİ ve 200 İÜ/ml ÜTİ grupları arasında da fark saptanmadı. Gastroşizis + mekonyum ve 400 İÜ/ml ÜTİ grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ( $p < 0,01$ ) (Tablo I). Barsak seroza kalınlıkları karşılaştırıldığında (Grafik 2) gastroşizis + mekonyum, 100 ve 200 İÜ/ml ÜTİ gruplarında fark saptanmadı. Ancak gastroşizis + mekonyum grubuyla 400 İÜ/ml ÜTİ grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark saptandı ( $p < 0,01$ ) (Tablo II, Grafik 3).

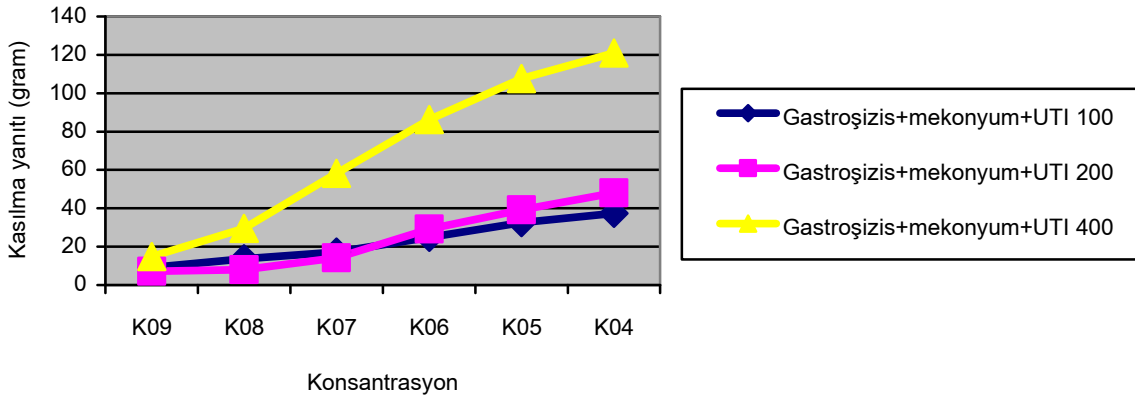


**Grafik 1.** Gastroşizis (Sham), gastroşizis + mekonyum ve kontrol gruplarında asetilkolinin artan konsantrasyonun karşı gösterilen doz yanıt eğrileri (Konsantrasyonlar 10 üzeri "eksi" değerlerdir)

**Tablo I.** Asetilkoline ( $E_{max}$ ) karşı gastroşizis, kontrol ve ÜTİ gruplarının doz yanıtlarının ortalamaları ve standart sapmaları

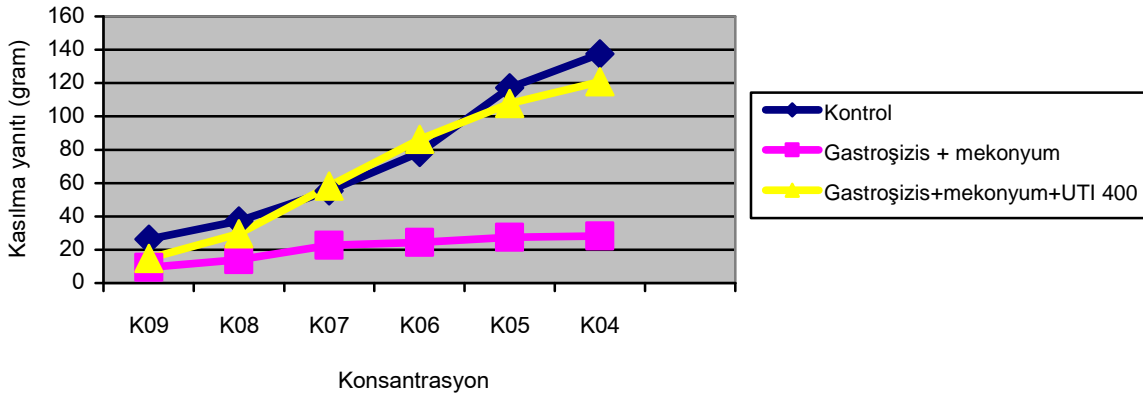
Gruplar	Asetilkolin Konsantrasyonu $10^{-4}$ ( $E_{max}$ ) (gram)
Kontrol	137,50 ± 44,95*
Gastroşizis (Sham)	134,60 ± 41,84*
Gastroşizis + Mekonyum	28,30 ± 13,54
Gastroşizis + Mekonyum + ÜTİ 100	37,30 ± 35,76
Gastroşizis + Mekonyum + ÜTİ 200	48,10 ± 10,03
Gastroşizis + Mekonyum + ÜTİ 400	120,90 ± 38,39*

\*  $p < 0,01$  Gastroşizis + mekonyum grubu ile karşılaştırıldığında

**Grafik 2.** Gastroşizis oluşturularak ÜTİ eklenen gruplarda asetilkolinin artan konsantrasyonuna karşı gösterilen doz yanıt eğrileri (Konsantrasyonlar 10 üzeri "eksi" değerlerdir)**Tablo II.** Histopatolojik incelemede gastroşizis, kontrol ve ÜTİ gruplarının seroza kalınlıkları ortalamaları ve standart sapmaları

Gruplar	Barsak seroza kalınlıkları ( $\mu$ m)
Kontrol	7,65 ± 0,72*
Gastroşizis (Sham)	8,65 ± 2,29*
Gastroşizis + Mekonyum	29,40 ± 5,73
Gastroşizis + Mekonyum + ÜTİ 100	22,70 ± 2,69
Gastroşizis + Mekonyum + ÜTİ 200	21,31 ± 3,56
Gastroşizis + Mekonyum + ÜTİ 400	9,37 ± 1,06*

\*  $p < 0,01$  Gastroşizis + mekonyum grubu ile karşılaştırıldığında



**Grafik 3.** Gastroşizis + mekonyum, kontrol ve ÜTI 400 gruplarında asetilkolinin artan konsantrasyonuna karşı gösterilen doz yanıt eğrilerinin karşılaştırılması (Konsantrasyonlar 10 üzeri "eksi" değerlerdir)

## TARTIŞMA

AS, deri ve gastrointestinal sistem mukozası gibi doğal olarak temas ettiği dokulara zarar vermemektedir. Gastroşizis ve myelomeningosel gibi doğumsal anomalili fetüslerde, AS normalde temas etmemesi gereken dokular ile temas ettiğinde hasar oluşturur. Gastroşiziste AS ile temas, barsaklarda ödem ve kısılmaya, serozal kalınlaşma ve fibrin birikimine yol açmaktadır (2-4, 13-22). Barsaklarda oluşan bu hasar hipomotiliteye yol açarak gastroşiziste prognozu önemli ölçüde etkilemektedir.

İntraamniyotik mekonyumun gastroşiziste görülen barsak hasarından sorumlu olabileceği Tanyel ve Aktuğ tarafından öne sürülmüştür (23). İntraamniyotik mekonyumun barsak hasarına yol açtığı Akgür ve ark. tarafından gösterilmiştir (24). Steril yenidoğan idrarı ve mekonyum süspansiyonları hazırlanıp sıçanların peritonu içine enjekte edilmiştir. İdrar enjekte edilen grupta barsaklar normal görünümde iken mekonyum süspansiyonu enjekte edilen grupta barsak serozasında kalınlaşma, enflamasyon ve fibrin oluşumu izlenmiştir (24). Başka bir çalışmada gastroşizis oluşturulmuş civciv embriyolarının AS'sına değişik konsantrasyonlarda mekonyum eklenmiş ve hasar yaratan minimum konsantrasyon 1/400 olarak bulunmuştur (4). Çalışmamızda barsak kontraktilitesi değerlendirilirken histopatolojik düzeyde oluşan hasar da değerlendirildi

ve 1/400 konsantrasyondaki mekonyumun barsaklar üzerinde belirgin hasar oluşturduğu gösterildi.

Gastroşiziste onarım sonrası önemli bir sorun olan hipomotilitenin, AS içeriğine bağlı olarak doğum öncesi başlayan gastrointestinal nöromüsküler fonksiyonlarda zayıflama sonucu olduğu gösterilmiştir (25,26). Bu sorunun tedavisi genellikle total parenteral beslenme ve zaman içerisinde barsak fonksiyonlarının yavaş yavaş geri gelmesidir. Ancak bu tedavi birkaç ay sürebilir ve hastalar kateter sepsisi, metabolik bozukluklar, karaciğer yetmezliğinden kaybedilebilir (25). Gastroşiziste barsak motilitesi üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Şencan ve ark yaptığı bir çalışmada AS değişiminin barsak kontraktilitesini koruduğunu göstermişlerdir (27). İntraamniyotik mekonyum konsantrasyonunun azaltılması ya da enflamatuvar mediatörlerin amniyotik sıvı değişimi ile uzaklaştırılması olasılıklarından hangisinin barsak kontraktilitesi üzerine koruyucu etkisi olduğu bilinmemektedir.

Klück ve ark. civciv embriyolarında yaptıkları çalışma sonucunda fetal idrarın barsak hasarından sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir (13). Akgür ve ark. İse bu görüşün aksine fetal idrarın barsak hasarından sorumlu olmadığını ve intraamniyotik mekonyumun oluşturduğu doku hasarını engellediğini göstermişlerdir (6,24). Fetal idrarda bulunan ÜTI' nin amniyotik konsantrasyonunun terme yakın giderek

arttığı ve erişkin idrarıyla karşılaştırıldığında yenidoğan idrarında çok yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir (9,10). ÜTİ'nin intraamniyotik enflamatuvar mediatörler üzerinde inhibitör etkisi bulunduğu saptanmıştır (7). Olguner ve ark barsak hasarını engelleyen madde olabileceği düşünülerek yaptığı bir çalışmada, ÜTİ'nin barsak hasarını histopatolojik düzeyde engellediği gösterilmiştir (6). Gastroşizis oluşturulan civciv embriyolarının amniyotik kavitesine barsak hasarı oluşturan konsantrasyonda (1/400) mekonyum süspansiyonu ve ÜTİ (50, 100 ve 200 İÜ/ml) verilmiştir. Histopatolojik incelemede, 100 ve 200 İÜ/ml ÜTİ verilen gruplarda barsaklarda hasar oluşmadığı saptanmış ve intraamniyotik ÜTİ'nin gastroşiziste mekonyumun neden olduğu barsak hasarını engellemekte etkili olduğu yorumu yapılmıştır (6). Çalışmamızda kontrol grubu ile sadece gastroşizis oluşturulan grupta anlamlı fark saptanmazken, mekonyum eklenen grupta belirgin barsak hasarı olduğu saptanmıştır. Ancak 400 İÜ/ml ÜTİ grubunda kontrol grubu gibi histopatolojik düzeyde barsak hasarının olmadığı ve Ach ile kasılma yanıtının kontrol grubuyla benzer şekilde normal olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar ÜTİ'nin sadece histopatolojik düzeyde değil, barsak kontraktilesinin korunması üzerine de etkisi olduğunu göstermektedir.

Gastroşiziste barsak hasarından sorumlu olan madde- nin intraamniyotik mekonyum olduğu ve bu hasarın AS içindeki mekonyum konsantrasyonu ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (4,12). Histopatolojik düzeydeki hasar azaltılabilir ya da engellenebilir olarak gösterilmesine rağmen gastroşiziste tedaviyi yönlendiren en büyük sorun barsak motilitesidir. Bu çalışmada gastroşiziste oluşan barsak hasarını 400 İÜ/ml ÜTİ'nin engellediği ve barsak kontraktilesinin normal barsak kontraktilesine yakın düzeyde korunduğu gösterilmiştir. ÜTİ'nin gastroşiziste barsak hasarında motiliteyi koruyucu etkileri, gastroşizis tedavisinin kısa sürede, daha az komplikasyonla, etkin olarak sürdürülebileceği umudunu arttırmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Cooney DR. Defects of the Abdominal Wall, in O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG (eds): Pediatric Surgery. St. Louis, Missouri 1998, 1045-1065.
- Langer JC, Longaker MT, Crombleholme TM, et al. Etiology of intestinal damage in gastroschisis: Effects of amniotic fluid exposure and bowel constriction in a fetal lamb model. J Pediatr Surg 1989; 24: 992-997.
- Tibboel D, Kluck P, van der Kamp AW et al. The development of the characteristic anomalies found in gastroschisis experimental and clinical data. Z Kinderchir 1985; 40: 355-360.
- Api A, Olguner M, Hakguder G, et al. Intestinal damage in gastroschisis correlates with the concentration of intraamniotic meconium. J Pediatr Surg 2001; 36: 1811-1815.
- Tibboel D, Vermey-Keers C, Klück P et al. The natural history of gastroschisis during fetal life: Development of the fibrous coating on the bowel loops. Teratology 1986; 33: 267-272.
- Olguner M, Hakgüder G, Ateş O, et al. Urinary trypsin inhibitor present in fetal urine prevents intraamniotic meconium induced intestinal damage in gastroschisis. J Pediatr Surg 2006; 41: 1407-1412
- El Maradny E, Kanayama N, Halim A, et al. Urinary trypsin inhibitor has protective effect on amnion. Gynecol Obstet Invest 1994; 38: 169-172.
- Akatsu H, Iwana H. Concentrative relationship between polymorphonuclear elastase and urinary trypsin inhibitor in amniotic fluid. Arch Gynecol Obstet 2000; 263:156-159.
- Kanayama N, Khatun S, Terao T. The effects of urinary trypsin inhibitor on uterine muscle contraction and cervical maturation. Trophoblast Res 1999; 13:415-425.
- Kanayama N, Maehara K, She L, et al. Urinary trypsin inhibitor suppresses vascular smooth muscle contraction by inhibition of Ca<sup>2+</sup> influx. Biochimica et Biophysica Acta 1998; 1381: 139-146.
- Tibboel D, Molenaar C, Van Nie CJ. New perspectives in fetal surgery: The chick embryo. J Pediatr Surg 1979; 14: 438-440.
- Olguner M, Akgur FM, Api A, et al. The effects of intraamniotic human neonatal urine and meconium on intestines of chick embryo with gastroschisis. J Pediatr Surg 2000; 35: 458-461.
- Klück P, Tibboel D, van der Kamp AWM, Molenaar JC. The effect of fetal urine on the development of the bowel

- gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1983; 18: 47-50.
14. Aktug T, Hoşgor M, Akgur FM, et al. End results of experimental gastroschisis created by abdominal wall defects versus umbilical cord defect. *Pediatr Surg Int* 1997; 12:583-585.
  15. Albert A, Julia MV, Morales M, Parri FJ. Gastroschisis in the partially extraamniotic fetus: Experimental study. *J Pediatr Surg* 1993; 28: 656-659.
  16. Bealer JF, Graf J, Bruch SW, et al. Gastroschisis increases small bowel nitric oxide synthase activity. *J Pediatr Surg* 1996; 31: 1043-1046.
  17. Haller JA, Kehrer BH, Shaker JI, et al. Studies of the pathophysiology of gastroschisis in fetal sheep. *J Pediatr Surg* 1974; 9:627-632.
  18. Philips JD, Kelly RE, Fonkalsrud EW et al. An improved model of experimental gastroschisis in fetal rabbits. *J Pediatr Surg* 1991; 26: 784-787.
  19. Srinathan SK, Langer JC, Blennerhasset MG et al. Etiology of intestinal damage in gastroschisis III: Morphometric analysis of smooth muscle and submucosa. *J Pediatr Surg* 1995; 30: 379-383.
  20. Srinathan SK, Langer JC, Botney MD, Pelletier GJ. Submucosal collagen in experimental gastroschisis. *J Surg Res* 1996; 65: 25-30.
  21. Srinathan SK, Langer JC, Wang JL, Rubin DC. Enterocytic gene expression is altered in experimental gastroschisis. *J Surg Res* 1997; 68: 1-6.
  22. Tibboel D, Raine P, McNeer M et al. Development aspects of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1986; 21: 865-869.
  23. Tanyel FC, Aktug T. Impairment of nutrient uptake in rabbit model of gastroschisis. (Letter to the editor). *J Pediatr Surg* 1995; 30: 1534.
  24. Akgur FM, Ozdemir T, Olguner M, et al. An experimental study investigating the effects of intraperitoneal human neonatal urine and meconium on rat intestines. *Res Exp Med* 1998; 198: 207-213.
  25. Jacob C, Bramlett G, Bramlett L, et al. Effect of prokinetic agents on ileal contractility in a rabbit model of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 1997; 32: 605-608.
  26. Oyachi N, Lakshmanan J, Ross MG, et al. Fetal gastrointestinal motility in a rabbit model of gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 366-370.
  27. Şencan A, Gümüştekin M, Gelal A, et al. Effects of amnio-allantoic fluid exchange on bowel contractility in chick embriyos with gastroschisis. *J Pediatr Surg* 2002; 37: 1589-1599.