

**T. C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**CO₂ İLE PNÖMOPERİTONYUM OLUŞTURULAN HAYVAN MODELİNDE
MELATONİNİN PERİTON VE OVERLERDEKİ OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ.

Dr. Fatma KORKMAZ

DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Tamer MUNGAN

**Bu tez çalışması Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından 1701-TU-08 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA - 2010

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimimin ve tezimin tamamlanma sürecinde akademik tecrübesinden yararlandığım başta danışmanım Süleyman Demirel Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. M. Tamer Mungan olmak üzere tüm hocalarıma, tezimin başlangıcından tamamlanma sürecine kadar içerikle ilgili konularda yapılan değerlendirmelerde ve laboratuvar analizlerinde kendisine rahatlıkla ulaşabildiğim, bilgi birikimi ve deneyimlerinden faydalandığım Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mustafa Nazıroğlu hocama ve tezimin analizlerinde gerekli yardımlarını esirgemeyen Histolog Sayın Seren Gürgen ve tüm Biyofizik asistanlarına teşekkürlerimi sunarım. Asistanlığım süresince beraber yol aldığımız başta değerli dostum Dr. Müfide Dilek olmak üzere asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İlköğretimden başlayıp uzmanlık eğitimimi sonuçlandırınca kadar geçen uzun eğitim yolculuğunda emeği geçen bütün hocalarıma ve hayatımın her safhasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama, eşime, kardeşime ve hayatımın en değerli varlıkları büyük oğlum Tarık Zafer ve asistanlık sürem sonunda doğan küçük oğlum Emir Faruk'a sevgi ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne 1701-TU-08 proje numaralı bu tez çalışmasına verdikleri desteklerden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Laparoskopi	3
2.1.1. Laparoskopik Cerrahinin Tarihçesi	3
2.1.2. Jinekolojik Laparoskopik Cerrahinin Endikasyonları.....	3
2.1.3. Laparoskopik Cerrahinin Kontrendikasyonları	4
2.1.4. Laparoskopi Öncesi Hazırlık	5
2.1.5. Hasta Pozisyonu ve Anestezi.....	6
2.1.6. Laparoskopi Tekniği.....	6
2.1.7. Pnömooperitonyum.....	7
2.1.8. Trokarların Yerleştirilmesi İle İlgili Uyulması Gerekenler	8
2.1.8.1. Açık Laparoskopi Tekniği	8
2.1.9. Laparoskop (Optik).....	8
2.1.10. Işık Kaynağı.....	8
2.1.11. Batın İçinin Gözlemlenmesi	9
2.1.12. Laparoskopik Aletler	9
2.1.13. Laparoskopinin Komplikasyonları	11
2.2. Serbest Radikaller	13
2.2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu	13
2.2.2. Serbest Radikal Kaynakları	14
2.2.3. Reaktif Oksijen Ürünler (ROS)	15
2.2.3.1. Süperoksit Anyonu ($O_2^{\bullet-}$).....	15
2.2.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	16
2.2.3.3. Hidroksil Radikali ($\bullet OH$)	17
2.2.3.4. Hipokloröz Asit (HOCl)	18

2.2.3.5. Singlet Oksijen (1O_2)	19
2.2.4. Reaktif Oksijen Ürünlerin Etkileri.....	19
2.2.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Hastalıklar	21
2.3. Antioksidanlar.....	22
2.3.1. Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri	23
2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	23
2.3.1.2. Katalaz (CAT).....	24
2.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	24
2.3.1.4. Sitokrom Oksidaz	25
2.3.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar	26
2.3.2.1. Beta Karoten (A Vitamini)	26
2.3.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit)	26
2.3.2.3. E Vitamini.....	26
2.3.2.4. Glutasyon (GSH).....	27
2.4. Melatonin	27
2.4.1. Melatonin, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	30
2.4.2. Melatoninin Serbest Radikalleri Giderici Özelliği	31
2.4.3. Melatoninin Biyolojik Etkileri.....	33
2.4.3.1. Uyku ve Sirkadiyan Ritim Üzerine Etkileri.....	33
2.4.3.2. İmmün Sistem Üzerine Etkileri	33
2.4.3.3. Yaşlanma Üzerine Etkileri.....	33
2.4.3.4. Seksüel Matürasyon ve Üreme Üzerine Etkileri.....	34
2.4.3.5. Kansere ve Melatonin.....	35
2.5. Pnömooperitonyumla İlişkili Oksidatif Stres	35
2.5.1. Venöz ve Arteriyel Splanchnik Kan Akımında Azalma	36
2.5.2. İnsüflasyon Basıncının Etkisi	36
2.5.3. Kullanılan Gazın Etkisi.....	37
2.5.4. Pnömooperitonyum ve Peritoneal Yüzey Değişiklikleri	38
2.5.5. Pnömooperitonyumun Yol Açtığı Oksidatif Stresi Azaltma Amaçlı Önlemler	39
3. MATERYAL ve METOD	42
3.1. Deneysel Model	42

3.2. İlaç Uygulaması	42
3.3. Cerrahi İşlem.....	42
3.3.1. Pnömooperitonyum Oluşturulması	43
3.3.2. Doku Örneklerinin Alınması	43
3.4. ROS Çalışmaları	45
3.5. Histopatolojik İnceleme ve Skorlama.....	48
3.6. İstatistiksel Analiz.....	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. Periton Dokusundaki ROS Düzeyleri	50
4.2. Over Dokusundaki ROS Ölçümleri	51
4.3. Periton Dokusundaki Histopatolojik Bulgular.....	52
4.4. Over Dokusundaki Histopatolojik Bulgular	56
4.5. Histopatolojik İnflamasyon Skorları Düzeyleri.....	58
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ	68
7. ÖZET	69
8. SUMMARY	71
9. KAYNAKLAR.....	73

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat
Ca	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
CHPO	: Cumene-hidroperoxide
CO₂	: Karbon Dioksit
Cu	: Bakır
D	: Damar
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
e⁻	: Elektron
E	: Epitel
EC-SOD	: Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz
Fe	: Demir
GnRH	: Gonadotropin Salıverici Hormon
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
HCl	: Hidroklorik Asit
H&E	: Hematoksilen Eosin
H₂O	: Su
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HO₂[·]	: Perhidroksil Radikali
HOCl	: Hipokloröz Asit
5-HTP	: 5-hidroksitriptofan
HÜDAL	: Hayvan Üretim ve Deney Araştırma Laboratuvarı
IAP	: İntraabdominal Basınç
IL	: İnterlökin
i.m.	: İntramüsküler
K	: Kas Tabakası
KL	: Korpus Luteum
LH	: Lüteinizan Hormon

M	: Mezotelyal Tabaka
MDA	: Malondialdehit
MEL	: Melatonin
Mn	: Mangan
NAD	: Nikotin Adenin Dinükleotid
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH	: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NAT	: N-asetil Transferaz
NO	: Nitrik Oksit
O₂	: Moleküler Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
¹O₂	: Singlet Oksijen
OB	: Orijinal Büyütme
·OH	: Hidroksil Radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
pCO₂	: Karbondioksit Basıncı
PMNL	: Polimorfonüveli Lökositler
pP	: Pnömooperitonyum
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SCN	: Suprakiazmatik Nükleus
SCG	: Servikal Gangliyon
SOD	: Süperoksit Dismutaz
T	: Tunika Albuginea
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TCA	: Trikloro Asetik Asit
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TPF	: Tek Katlı Primer Folikül
Zn	: Çinko

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Serbest radikal hasarlarının neden olduğu hastalıklar	22
Tablo 2. Melatoninin serbest radikaller ve antioksidan enzimlere etkileri	32
Tablo 3. Deneyin yapılışı ve kullanılan kimyasallar	46
Tablo 4. Histopatolojik inflamasyon hasarı skoruması	48
Tablo 5. Peritondaki ortalama MDA, GSH-Px ve GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	50
Tablo 6. Overdeki ortalama MDA, GSH-Px ve GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı	51
Tablo 7. Histopatolojik inflamasyon skorlarının gruplara göre dağılımı	58

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. MDA'nın yapısı.....	20
Şekil 2. Glutasyon (GSH) redoks sistemi.	27
Şekil 3. Melatoninin pineal bezden aydınlık-karanlık döngüsüne göre salgılanma mekanizması.	28
Şekil 4. Melatoninin pinealositlerde sentezi ve salgılanması.	29
Şekil 5. Gruplar arası inflamasyon skorları grafiği	59

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Pnömooperitonyumun oluşturulması	43
Resim 2. Periton ve overlerin eksizyonu.....	44
Resim 3. Kontrol grubu periton.....	52
Resim 4. Pp grubu periton.....	53
Resim 5. Pp+MEL grubu periton	54
Resim 6. MEL grubu periton.....	55
Resim 7. Kontrol grubu over epiteli.....	56
Resim 8. Pp grubu over epiteli	56
Resim 9. Pp+MEL grubu over epiteli	57
Resim 10. MEL grubu over epiteli.....	57

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Jinekolojik laparoskopik cerrahi son yıllarda diagnostik ve operatif amaçla sıkça uygulanan ve tercih edilen bir cerrahi yöntem haline gelmiştir. Laparoskopik cerrahi, laparotomik yöntemlere göre daha iyi kozmetik sonuçlar, daha kısa hastanede yatış süresi, daha düşük morbidite gibi avantajlar sağlamaktadır. Genel olarak güvenilir bir yöntem olmasına rağmen rutin laparoskopik prosedürlerden sonra bildirilmiş birçok komplikasyon vardır. Cerrahi işlem sırasında ve sonrasında inflamatuvar, endokrin, metabolik ve immünolojik mediatörlerin aktivasyonu ile seyreden bir fizyolojik stres yanıtı vardır. Laparoskopi sırasında pnömoperitonyum oluşturmak amacıyla CO₂ gazının kullanımı cerrahi çalışma alanı oluşturmanın ötesinde peritoneal kavitede immün, yapısal ve metabolik olumsuz etkilere yol açar. Bu olumsuzluklardan bazıları mezotelyal zaradaki yapısal bozukluklar, pH değişimleri ve peritoneal makrofaj yanıtındaki değişikliklerdir.

Abdominal insuflasyon ve artmış intraabdominal basınç, abdominal desuflasyonu takiben reperfüzyon hasarıyla devam eden önemli organ iskemisine yol açar. Bu iskemi-reperfüzyonun temel sonuçlarından biri de reaktif oksijen türleri (ROS) oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengesizliktir. Bu dengesizlik oksidatif stres bozukluğu olarak tanımlanır ve artmış ROS yapımından ya da temizleyici sistemin işlevini yerine getirememesinden kaynaklanır. Bozulan peritoneal mezotelyal yapı ve azalan kapiller dolaşım neticesinde oluşan oksidatif stresi azaltmaya yönelik çeşitli yöntemler ve farmakolojik ajanlar kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılacak olan melatonin güçlü bir antioksidandır ve vitamin E ve C gibi bazı klasik antioksidanlardan daha koruyucu olduğu gösterilmiştir.

Biz bu çalışmamızda; laparoskopide uygulanan CO₂ pnömoperitonyumunun peritoneal ve ovaryan dokuda oksidatif strese neden olup olmadığına, mezotelyal ve ovaryan dokularda histopatolojik değişikliklere yol açıp açmadığına ve antioksidan melatoninin bu hasarları azaltma potansiyelini araştırmayı amaçladık. Bunun için gruplar arası karşılaştırmayı sağlamak amacıyla alacağımız peritoneal ve ovaryan dokuları biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelemeyi planladık.

Biz bu çalışma ile CO₂ gazıyla oluşturulan pnömoperitonyumda peritoneal dokuda ve overlerde lokal oksidatif stresin gelişip gelişmediği, oksidatif stres

gelişiyorsa antioksidan aktivitenin bundan nasıl etkilendiği, periton ve over yüzey epitelinde ne gibi histopatolojik değişikliklerin gerçekleştiği ve melatoninin antioksidan özelliğinden yararlanarak periton ve overlerde oluşan oksidatif stresin ve yapısal bozukluğun önlenip önlenemeyeceği sorularına cevap bulmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Laparoskopi

2.1.1. Laparoskopik Cerrahinin Tarihçesi

Peritoneal kavitenin endoskopik olarak gözlenmesine ilişkin girişimler 1910'da laparoskopi terimini ortaya koyan Jacobeus'la başlar. Önceleri diagnostik amaçla kullanılan laparoskopi Kalk, Ruddock ve Palmer gibi öncülerin ellerinde özellikle tubal sterilizasyon amacına yönelik operatif bir girişim özelliği kazanmaya başlamış ve bu süreçte önemli teknik değişikliklere uğramaya başlamıştır. Tekniğe yönelik en önemli gelişmelerden birincisi Palmer'in litotomiyle beraber Trendelenburg pozisyonunu ve peritoneal kavitenin gaz ile distansiyonunu gündeme getirmesi, ikincisi ise 1952'de soğuk ışık kavramının geliştirilmesi ve fiberoptik kabloların kullanıma sokulmasıdır. Bundan sonra laparoskopinin endikasyonları da genişlemeye başlamış ve 1974'ten itibaren Semm laparoskopik salpenjektomi, kistektomi, ooferektomi, salpingostomi ve myomektomiyi, 1977'de ise Gomel laparoskopik neosalpingostomiyi bildirmişlerdir. 1980'lerden itibaren de bir dönem in-vitro fertilizasyon için oosit toplanması amacıyla kullanılmıştır (1).

2.1.2. Jinekolojik Laparoskopik Cerrahinin Endikasyonları (2)

Biopsi

Tubal sterilizasyon

Adezyonların açılması

Endometriozis koterizasyonu

Over kistlerinin aspirasyonu ve eksplorasyonu

Salpenjektomi

Salpingostomi

Uterus süspansiyonu

Ektopik gebelik operasyonu

Over kistlerinin enükleasyonu (Endometriozis, Dermoid)

Myomektomi

Ooferektomi

Histerektomi

Tubal anastomoz

Pelvik ve paraortik lenfadenektomi

Omentektomi

Appendektomi

2.1.3. Laparoskopik Cerrahinin Kontrendikasyonları (1)

a- Kesin Kontrendikasyonlar

Barsak obstrüksiyonu

İleus

Peritonit varlığı

Ciddi kardiyovasküler hastalık

Masif akut intraabdominal kanama ve hipovolemik şok

b- Relatif Kontrendikasyonlar

Ülseratif kolit

Crohn hastalığı

Büyük abdominal kitle

İlerlemiş gebelik varlığı

İleri derecede obesite

Kronik pulmoner hastalık

Geçirilmiş birden fazla abdominal operasyon

Laparoskopik cerahinin solunum ve hemodinami üzerine önemli etkileri vardır. Trendelenburg pozisyonu nedeniyle ve oluşturulacak pnömoperitonyuma bağlı artmış intraabdominal basıncın, kalbe venöz dönüşte azalmaya neden olması ve kardiyak dekompanseasyon oluşturması nedeniyle kontrendike sayılır. Bu nedenle yaşlı ve düşükün hastalar laparoskopik cerrahiyi kaldıramayabilir (1).

Postural değişimler ve pnömoperitonyum, diafragmayı yükselterek vital kapasiteyi artırır. Kas gevşetici ajanlar, venöz dönüşte olan engeli azaltırlar. Kas gevşetici ajanların etkisiyle O₂ ve CO₂ homeostazisi sağlanabilir (3).

Ciddi kardiyak hastalık, kardiyak dekompanseasyon nedeniyle ve azalmış kardiyak önyüke bağlı olarak kontrendikedir. Yaşlı veya genç bu hastalar artmış intraabdominal basınç ve Trendelenburg pozisyonunu kaldıramazlar. Hemodinamik olarak tolere edemezler ve kalp yetmezliğine girebilirler.

Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı gibi enflamatuar barsak hastalıkları, neden oldukları intraabdominal yapışıklıklara bağlı olarak barsak yaralanması riskini arttırlar. Büyük intraabdominal kitle ve gebelik varlığı ise hem peritoneal eksplorasyonu güçleştirir, hem de organ yaralanması riskini arttırlar (1).

Önceden geçirilmiş batın ameliyatları, barsağın yapışık bir ansının perforasyon riski nedeniyle kontrendikedir. Barsağın preoperatif hazırlanması ve geliştirilmiş aletlerin kullanılması bu riskleri azaltabilir (3).

2.1.4. Laparoskopi Öncesi Hazırlık

Jinekolojik laparoskopi yapılacak hastanın önce öyküsü alınmalı ve tam bir fizik muayene yapılmalıdır. Gerekli laboratuvar testleri yapılmalıdır. Operasyon öncesinde hastalar olası tüm cerrahi ve anestezi komplikasyonlarıyla ilgili olarak bilgilendirilmeli ve gastrointestinal, üriner, vasküler ve respiratuvar komplikasyonlar da dahil olmak üzere laparoskopiye özel tehlikeler de gözden geçirilerek imzalı onam formu doldurulmalıdır. Hastanın işlem hakkında bilgi sahibi olması sağlanmalıdır (3).

Operatif laparoskopi planlanan hastalarda gerek barsak yaralanması riskinin azaltılması, gerekse oluşabilecek yaralanmaların komplikasyonsuz olarak tedavisinin sağlanabilmesi için operasyondan bir gün önce tam bir barsak temizliği uygulanması

şart olmalıdır. İnfertilite etyolojisine yönelik diagnostik laparoskopik girişimler için ovulasyonun belirlenmesi ve gebeliğin ekarte edilmesi önemlidir (1).

2.1.5. Hasta Pozisyonu ve Anestezi

Laparoskopide anestezi seçimi genel olarak sorumlu anesteziistin kararına bağlı olsa da, intestinal dilatasyon yapabileceğinden azot protoksit kullanımından kaçınılması gerekmektedir. Genel anestezi cerrah ve hasta için daha konforludur. İşlemin güvenliği artar ve operasyon alanı genişler. Anestezi indüksiyonuna, hasta masada düz ve süpin pozisyonda iken başlanır. Eğer vajinal müdahale yapılacaksa veya histeroskopi planlanıyorsa dorsolitotomi pozisyonu tercih edilebilir. Hastanın sol kolu gövdesine yaklaştırılmalı ve sabitlenmelidir. Cerrah sağ elini kullanıyorsa, hastanın solunda yer almalıdır (1).

2.1.6. Laparoskopi Tekniği

Umblikustan yerleştirilecek ilk trokarın yaralanmaya yol açmaması için hava ile distansiyona uğramış olabilen mide, nazogastrik sonda ile kontrol edilmeli ve varolan fazla havanın çıkması sağlanmalıdır. Aynı şekilde dolu bir mesanede de hem yaralanma riski yüksektir hem de pelviste çalışmak güçleşir. Bu amaçla mesanenin bir Foley sonda ile boşaltılması gerekir (1). İşlem öncesi perineal ve pubik kılların temizlenmesinin enfeksiyon açısından faydası yoktur ancak trokar girişi için bazen önem arz etmektedir. Hastanın abdomeni, pelvis ve vajeni antiseptik solüsyonlarla yıkanır ve pelvik muayene ile uterusun hareketliliği, boyutu ve pozisyonu hakkında bilgi sahibi olunur. Gerekli görülürse uterin manipulatörler servikse yerleştirilir.

Laparoskopinin aşağıda belirtilen sırayla yapılması oluşabilecek komplikasyonlar açısından önem arz etmektedir (3).

1. Aletlerin kontrolü
2. Perine ve mesane hazırlığı
3. Pnömooperitonyumun sağlanması
4. Birincil trokar ve teleskopun yerleştirilmesi
5. Yardımcı aletlerin yerleştirilmesi

6. Laparoskopik batın gözlemi ve müdahaleleri

7. Aletlerin çıkarılması ve abdomenin kapatılması

2.1.7. Pnömooperitonyum

Laparoskopiye intraperitoneal CO₂ insuflasyonu yoluyla pnömooperitonyum oluşturularak başlanır. Bu amaçla, umblikusun hemen altında transvers veya göbek çukuru içerisinde yer alan dikey plikalardan biri boyunca vertikal olarak planlanan bir insizyondan CO₂ akışını sağlayacak iğne periton boşluğuna iletilir. İnsizyon hem iğnenin girişi hem de birincil trokarın girişi için yaklaşık 1 cm olmalıdır. Bu amaçla Tuohy veya Verres iğneleri kullanılır. İğne girişinde uyulması gereken en önemli kural batına girerken ucunun sakrum konkavitesine doğru yönlendirilmesidir.

Pnömooperitonyum oluşturmak amacıyla dokulardan hızla diffüze olabilen ve kanda kolaylıkla çözünebilmesi nedeniyle akciğerlerden kolayca atılabilen ve gaz embolisi riski en az olan CO₂ tercih edilir. Verres iğnesine bağlanan bir hortumla peritona CO₂ ileten insuflatörler kullanılır. Düşük (0.5-1 lt/dk) hızda gaz akışı diagnostik laparoskopi için yeterli olsa da gaz kaçağının fazla olduğu operatif laparoskopiler için 10-15 lt/dk hızda gaz iletebilen insuflatörler tercih edilmelidir.

Kullanılacak insuflatörde gaz verilme hızını ve intraperitoneal basıncı ölçen manometre olmalıdır. 10-12 mmHg intraperitoneal basınç, çoğu laparoskopik girişim için yeterli olmaktadır. Basınç CO₂ verilmeye başlandığında 10 mmHg'yi operasyon sırasında ise 15 mmHg'yi aşmamalıdır. Peritoneal kavitenin 3-4 lt CO₂ ile distansiyonu yeterlidir. Yeterli pnömooperitonyum sağlandıktan sonra umblikustan birincil trokar yerleştirilir. Bunun için batın duvarı yukarı kaldırılır ve hafifçe sağa veya sola döndürerek trokar sokulmalıdır. İlk trokar girişinde en önemli nokta ise umblikus ve aort bifurkasyonu arasındaki anatomik ilişkidir. Normal ağırlıktaki hastalarda aort bifurkasyonu umblikusun ortalama 0.4 cm yukarısı ve 6 cm derininde iken, kilolu kadınlarda ise umblikusun ortalama 2.4 cm yukarısı ve 10-13 cm derininde yer alır. Bu nedenle zayıf hastalarda horizontale yakın obez hastalarda ise dike yakın trokar girilmelidir (1).

2.1.8. Trokarların Yerleştirilmesi İle İlgili Uyulması Gerekenler (3)

1. Karın içinde aletlerin çarpışmasını engellemek için trokarlar birbirinden mümkün olduğu kadar uzakta olmalıdır.
2. Her operasyon için temel trokar yerleştirme düzeni kullanılmalıdır.
3. Yeni bir trokar yerleştirilmeden önce yerleştirilen trokarın kullanımı ve etkinliği hesaplanmalıdır.
4. İngunal kanal, epigastrik arter sahası, kostal kenarlara trokar yerleştirilmemelidir.
5. Birincil trokar her zaman ilk önce yerleştirilmelidir.

2.1.8.1. Açık Laparoskop Tekniği

Batına girilemediği durumlarda ise açık laparoskopi tekniği kullanılır. Umblikus altında yapılacak küçük bir kesiden cilt altı yağ dokusu disseke edilerek ulaşılan fasya insize edilir. Allis klempleri ile tutularak iki yana açılan fasya yaprakları arasında görünen periton yaklaşık 1 cm uzunluğunda kesilir. Bu şekilde barsak ansları yaralanmadan batın içine ulaşılır. Takiben teleskop batın içine yerleştirilir (1).

2.1.9. Laparoskop (Optik)

Laparoskopide kullanılan optikler 4-12 mm çapında olabilirler. Pnömo-peritonyum oluşturulduktan sonra aynı yerde batına yerleştirilen trokarın kılıfından optik geçirilerek direkt veya oblik (30-45 derece açılı) görüntü sağlanır. İnce kalibreli optikler diagnostik laparoskopi için yeterli olurken, operatif laparoskopi için daha geniş bir görüntü alanı sağlamak amacıyla 10-12 mm'lik optikler tercih edilir. En ideal görüntü ise 10 mm'lik 0 derece optiklerle sağlanır (4).

2.1.10. Işık Kaynağı

Laparoskop periton boşluğuna yerleştirildikten sonra uygun bir ışık kaynağına bağlanır. İdeal ışık kaynakları olarak xenon ve halojen ışık kaynakları görünmektedir. Dokunun kanla boyandığı durumlarda zayıf ışık kaynakları yetersiz kalmaktadır (3). Laparoskopun ışık kaynağı ile bağlantısı genellikle fiberoptik kablolar ile

sağlanmaktadır. Ancak bu kabloların kolay kırılmaları nedeniyle likid ışık kabloları daha avantajlı gibi gözükmemektedir (1).

2.1.11. Batın İçinin Gözlemlenmesi

Optiğin ışık kaynağı ile bağlantısı yapıldıktan sonra intraabdominal organların izlenmesine başlanabilir. Bu amaçla optiğin üzerine monte edilecek bir kamera ile görüntü monitöre yansıtılır. Monitörle izlenen laparoskopik girişimin istendiği takdirde video kaydı da alınabilir, hatta optiğin üzerine monte edilecek fotoğraf kamerası ile de izlenen bölgenin fotoğrafları çekilebilir.

İntraabdominal organların değerlendirilmesine üst abdomen de dahil genel bir batın eksplorasyonu ile başlanır. Özellikle birincil trokar giriş yolu üzerindeki barsaklar ve mezenter incelenerek olası bir travma ekarte edilir.

Pelvik organların değerlendirilmesi belli bir sistematik içinde yapılmalıdır. Uterus ön yüzü, veziko-uterin plika, uterus arka yüzü sırasıyla kontrol edilir. Daha sonra sırasıyla her iki adneks gözden geçirilir. Overler künt bir proba kaldırılarak her iki yüzlerine bakılır. Ovaryan fossa ve pelvik yan duvarlar endometriozis ve adezyonlar yönünden değerlendirilmelidir. Her iki tuba traseleri boyunca, infundibulopelvik ligament, broad ligament, sakrouterin ligament ve son olarak da posterior cul-de sac değerlendirilerek eksplorasyon tamamlanır(1).

2.1.12. Laparoskopik Aletler

Laparoskopik cerrahide kullanılacak yardımcı aletler, sıklıkla 5 mm kalınlıkta ikincil trokarlar kullanılarak açılan giriş bölgelerinden peritona yerleştirilirler. Kullanılacak ikincil trokarların sayısı ameliyatın amacına göre değişebilir. Bu trokarların giriş bölgeleri çoğunlukla her iki alt kadranda ve suprapubik bölgede orta hattadır. Yan kadranda yerleştirilecek ikincil trokarlar için inferior epigastrik damarların laterali seçilmelidir. Karartılmış bir ameliyathanede karın ön duvarı laparoskopdan gelen soğuk ışıkla translumine edilerek damarların trasesi ortaya konabilir. Künt proplar laparoskopik cerrahide kullanılan yardımcı aletler arasında en basit olanlarıdır. Barsakların mobilizasyonu, overlerin kaldırılması künt proplarla sağlanır (1). Organları sabitlemek için ise grasper'lar (tutucular) ve forsepsler kullanılır.

Atravmatik grasper'lar daha nazik işlemler için kullanılırken 'Claw' forseps gibi iri dişli tutucular batın dışına alınması gereken myom gibi büyük doku parçalarını tutmak için kullanılırlar. 'Spoon' forseps gibi kaşık benzeri yapıda olanlar daha küçük hacimli dokuları tutmakta veya tubal gebelik ürününü yatağından ayırmada kullanılırlar. Majör cerrahi bir operasyonu gerçekleştirmek için 2 grasping forseps, 1 travmatik forseps kullanımı yeterlidir (4). Biyopsi aletleri öncelikle over biyopsisi almak amacıyla veya over ve periton yüzeylerinin yapışıklıklarının ayrılmasında kullanılırlar.

Dokuların kesilmesi amacıyla makaslar, çeşitli koterler ve laserler kullanılır. Geniş makaslar adezyonların kesilmesinde mikro makaslar ise daha ince diseksiyonlarda kullanılır. Kancalı yapıda uçları olan 'hooked' makaslar hidrosalpenksleri açmak için uygun olup tırtıklı uçları ile 'serrated ' makaslar ise sütür kesmede kullanılırlar. Kesme işlemi ile aynı zamanda hemostazın sağlanması için birçok makasta monopolar veya bipolar koagülasyon özelliği bulunmaktadır (1).

Elektrokoagülasyon laparoskopik cerrahinin en önemli unsurlarından biridir. Monopolar koterizasyon, sürekli yüksek enerjili ve yüksek frekanslı moda çalıştırıldığında kesici özellik gösterir. Bu yol over kist kapsülleri, tuba ve myom kesilmesinde kullanılır.

Monopolar koagülasyon için ise daha düşük frekansta ve giderek azalan voltajda bir akım modu kullanılır. Ancak koagüle edilen bölgenin 2-3 cm lateraline kadar sağlıklı gibi görünen dokunun da termal zarar göreceği unutulmamalıdır (1).

Periferdeki doku hasarının azaltılması hedeflendiğinde bipolar koagülasyon tercih edilmelidir. Bipolar forsepte akım aletin iki kolu arasında tutulan dokudan geçmekte ve periferde termal hasar kısmen de olsa azaltılabilmektedir. Yine de hedef dokunun 1-2 cm lateraline kadar yayılan bir ısı etkisinin sözkonusu olduğu bilinmeli ve uygun olan en dar uçlu forseps seçilmelidir. Bipolar koagülasyon özellikle kesin lokalizasyonu yapılabilen küçük damarların koagülasyonunda faydalıdır (1).

Laser'ler gerek kesici gerekse koagüle edici özellikleri ile kullanılabilseler bile yüksek maliyetleri yaygın kullanımlarını kısıtlamaktadır. Damar klipleri hemostazın sağlanmasında yukarıda bahsedilen yöntemlere bir alternatif teşkil etmektedir (1). Endoloop laparoskopideki ligasyonlar içinde en eski kullanılan sistemdir. İki tane sütür tekniği vardır.

A- Extracorporal.

B- Intracorporal.

Ekstracorporal metot kolaydır, önce doku suture edilir, iğne trokardan çıkarılır suture ekstracorporal bağlandıktan sonra düğüm itici ile dokuya doğru itilir. Intracorporal düğüm frajil dokularda ve de özellikle mikrocerrahi suturelerinde düşünölmelidir (5).

Morselatörler uterus veya myom gibi büyük doku parçalarının çıkarılmasında kullanılır. Laparoskopik cerrahi sırasında uterus ve adneksleri mobilize eden veya stabilize eden değişik uterin manipulatörler kullanılır (1).

Tüm laparoskopik cerrahi süresince batin içi uygun bir irrigatör aspiratörle sürekli temizlenmelidir. Yıkama amacıyla vücut ısısına getirilmiş Ringer laktat veya %1.5'lik glisin solüsyonları kullanılır. Sık kullanılan bir başka solüsyon da dekstran 70'tir (6). Laparoskopik cerrahi sonrası enfeksiyon olasılığı düşük ve bu nedenle antibiyotik profilaksisi konusu tartışmalıdır (7). Pelviste bırakılacak sıvı içerisinde antibiyotik katılmasından, peritoneal irritasyonu arttırabilmesi nedeniyle, özellikle kaçınılmalıdır (8). Benzer şekilde intraperitoneal uygulanacak steroidler, antihistaminikler, non steroid antiinflamatuvarların kullanılması da tartışmalıdır (8,9).

2.1.13. Laparoskopinin Komplikasyonları

Tüm cerrahi işlemlerde olduğu gibi laparoskopik cerrahide de komplikasyonlar oluşabilir. Komplikasyon görülmesi ihtimali laparoskopik cerrahide nadirdir. Komplikasyon oranı cerrahın deneyimine ve tekniğe göre değişmekle beraber 3.2/1000-5.2/1000 arasında değişmektedir (3).

a- Pnömooperitonyum İle İlgili Komplikasyonlar

Verres iğnesinin peritoneal kavite dışına yerleştirilmesi durumunda ekstraperitoneal insuflasyon oluşur. CO₂ kesilerek yeniden batına giriş denenmelidir. Oluşan amfizem spontan olarak rezorbe olur (10).

b- Damar Yaralanması

Verres iğnesi veya trokar ile omental, mezenterik ve hatta abdominal ve pelvik damarlar travmatize edilebilir. Zayıf ve kısa boylu hastalar daha fazla risk altındadırlar. Ön batin duvarını kaldırmak ve iğne veya trokarı pelvik boşluğa yönlendirmek bu

komplikasyonu önleyebilir. Küçük damarların yaralanması koagülasyonla tedavi edildiği halde, büyük damarların yaralanması acil laparotomi gerektirir (10).

c- Barsak Yaralanması

Mide hasarı sık görülmemekle beraber entübasyon sonrasında bu ihtimal oldukça artar. Verres iğnesini girmeden önce nazogastrik tüp ile mide havasının boşaltılması gerekir. Verres iğnesi yerleştirildiğinde gastrik sıvı geliyorsa veya mide yaralanmasından şüphelenilmişse mide boşaltılarak verres iğnesi geri çekilir ve yeniden yerleştirilir. 5 mm'den küçük hasarlar kanama yoksa spontan iyileşir. Daha büyük hasarların ise kapatılması gerekir. Barsak yaralanması ilk girişte veya operasyon sırasında meydana gelebilir. Pelvik adezyonu olan veya daha önce geçirilmiş batın ameliyatı olan hastalar daha fazla risk altındadırlar. Verres iğnesi ile kalın barsak yaralanması genelde kendini sınırladığından fark edilmeyebilir. Trokar girişi sırasında oluşan hasar cerrahi olarak onarılır. Eğer trokar barsak lümenine girerse batın içi kirlenmeyi önlemek için yerinde bırakılır ve hasar tespiti yapılmaya çalışılır. Hafif hasarlar laparoskopik olarak onarılır. Büyük hasarlarda laparotomi ve kolostomi gerekebilir. Büyük miktardaki barsak diseksiyonları birkaç gün süreli postoperatif ileusa neden olabilirler. Ayrıca barsaklarda termal yaralanmaya bağlı hasarlar da gelişebilir. Abdominal ağrı ve peritonitis semptomları termal yaralanmanın belirtileri olup postoperatif dönemde bu semptomlar konusunda dikkatli olunmalıdır (10).

d- Mesane Yaralanması

Mesane yaralanması trokar insersiyonu sırasında meydana gelebilir. Geçirilmiş batın cerrahisi olan hastalarda daha sıklıkla karşımıza çıkar. Tüm hastalarda anestezi başladıktan sonra mesane boşaltılması işlemi yapılmalıdır. Eğer işlem 30 dakikadan uzun sürecekse devamlı drenaj sağlayan kateter yerleştirilmelidir. Mesane yaralanması büyüklüğüne göre tedavi edilir. Eğer 5 mm'den küçük bir yaralanma ise postoperatif 4-5 gün mesane sondası bırakılarak spontan iyileşmesi sağlanır. Daha büyük hasarlar ise sütüre edilirler (10).

e- Üreter Yaralanması

Üreter mesaneye göre daha az yaralanır. Eğer pelvik yan duvarı kapsayan endometriozis veya adezyon varsa üreter hasarlanması oluşabilir. Üreteral stentler normal anatominin bozulduğu durumlarda üreter trasesinin izlenmesinde faydalı

olabilir. Eğer intraoperatif üreter yaralanmasından şüphelenilirse intravenöz olarak indigo karmin boyası verilerek sistoskopik olarak 5 dakika içerisinde boyanın görülmesi beklenir. Postoperatif dönemde üreter yaralanmasından şüphelenilirse intravenöz piyelogram yapılması uygun olur (10).

f- Trokar Hernisi

Barsaklar laparoskopi insizyonundan herniye olarak inkarsere olabilirler. Trokar insersiyonunda Z tekniğinin kullanılması bu komplikasyonu azaltır. 7 mm'den büyük trokarlarda herni ihtimali daha büyüktür. Operasyon sonrası fasya onarımı burada büyük önem arzeder. Barsaklar trokarların çıkarılması sonrasında intraabdominal basınçla herniye oldukları için laparoskopi sonrası CO₂'in tamamen boşaltılması çok önemlidir (10).

g- Postoperatif Komplikasyonlar

Diafragmanın CO₂ irritasyonu sonucu postoperatif omuz ağrısı yaygın görülen bir şikayettir. Yanlış pozisyon verme veya uzun süreli Trendelenburg pozisyonu omuz ağrılarına neden olabilir. Entübasyon sonrası boğaz yanması ve insizyonel ağrı da yaygındır. Ağrının genellikle 24-48 saat içinde azalması beklenir. Sinir kökü etkilenmesi ve nörolojik sekel intraabdominal cerrahiden sonra nadir görülür (3).

2.2. Serbest Radikaller

2.2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller dış orbitalarında bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküler yapılar olarak tanımlanır. Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidan yıkım iskemi ve doku inflamasyonu gibi birçok olayda yer alarak hastalıkların patogenezinde rol oynar. Oksidan ajanlara karşı organizmada bulunan veya diyetle alınan antioksidanların tedavide ve korunmada yer aldığı uzun yıllardır bilinmektedir.

Serbest radikaller hücreyi hasara uğratır ve kolaylıkla okside olarak hücrenin yapısını bozarlar. Orbitalerinde bulundurdukları paylaşılmamış elektron sayesinde kolaylıkla reaksiyon verebilirler ve bu yüzden de son derece reaktifirler. Hücresel

fonksiyonların gerçekleşmesi sırasında ciddi miktarda ve çeşitlilikte serbest radikal üretilmektedir. Bu serbest radikaller üç temel yolla oluşur (11).

a) Kovalent Bağların Homolitik Bölünmesi:

Yüksek sıcaklık ve yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar kimyasal bağların kırılmasına yol açar. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalır ve bu tür kırılmalar homolitik kırılma olarak adlandırılır.

b) Normal Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi:

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin glutatyon, askorbik asit ve tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formu oluşur.

c) Normal Bir Moleküle Elektron Eklenmesi:

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi sonucu, dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür bir indirgenme, radikal oluşumuna sebep olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksitin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış da, oksijenin diğer radikal türlerinin oluşmasına neden olur. Bu radikallerin bir bölümünün oluşumu bazı biyokimyasal tepkimeler için gereklidir. Hücre içinde meydana gelen birçok reaksiyonda oksijenin rolü büyüktür. Bu yüzden oksijen radikallerinin oluşumu da kaçınılmazdır. Oksijen radikallerinin fazla üretilmesiyle birlikte çeşitli sorunlar başlar.

2.2.2. Serbest Radikal Kaynakları (11)

1- Dış Etkenler:

- a) Radyasyon;
- b) Çevresel faktörler (sigara dumanı, aromatik hidrokarbon vb.);
- c) Alkol, uyuşturucu;
- d) Cerrahi stres;
- e) İskemi, travma, intoksikasyon.

2- İç Etkenler:

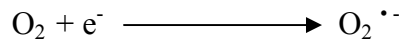
- a. Aktive olmuş fagositler (Respiratory Burst);
- b. Hemoglobin yıkımı: Hem yıkımında görevli olan Hem Oksidaz enzimi serbest radikal üretilmesine neden olur.
- c. Araşidonik asit metabolizması: Lipooksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerinin reaksiyonları esnasında oluşur.
- d. Endoplazmik retikulum e- transport sistemleri;
- e. Peroksizomlarda bulunan oksidazlar;
- f. Mitokondrideki e⁻ transportu: En büyük serbest radikal kaynağıdır.
- g. Ksantin Oksidaz: Kalsiyuma bağımlı proteaz aktive olarak ksantin dehidrogenazı ksantin oksidaza dönüştürür. Ksantin oksidaz, ksantinin ürik aside dönüşümü sırasında süperoksit üretimine neden olur.

2.2.3. Reaktif Oksijen Ürünler (ROS)

2.2.3.1. Süperoksit Anyonu (O₂⁻)

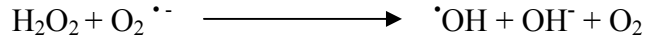
Canlılarda oluştuğu belirlenen ilk radikal; süperoksit (O₂⁻) anyon radikalidir. Aerobik hücrelerde O₂'nin bir e⁻ alarak indirgenmesiyle süperoksit (O₂⁻) meydana gelir. e⁻ transport zincirinin elemanlarından olan mitokondri, endoplazmik retikulum gibi organellerden O₂'ye e⁻ sızması sonucu oluşur (11). En önemli kaynağı polimorfonüveli lökositler (PMNL)'dir.

O₂ konsantrasyonunun arttığı durumlarda süperoksit (O₂⁻) oluşumu da artar. Mitokondriyal e⁻ transport zincirinde yer alan NADH-dehidrogenaz, koenzim Q ya da ubikinon basamağında e⁻ verilmesi ile olur. e⁻'ların O₂'ne taşınmasından sorumlu olan sitokrom oksidaz enzimi O₂'nin % 98'ini harcayarak suya indirger. O₂'nin % 2'si ise, transport zincirinden sızan e⁻'larla süperoksit (O₂⁻) oluşturur.



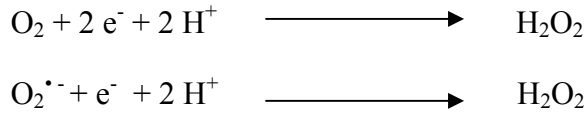
Aktive edilen lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve aynı zamanda buldukları ortama verirler. Antibakteriyel görev için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatır. Yani radikal yapımı bazı hücrel

fonksiyonlar için gerekli de olabilir. Hücresel koşullarda üretilen süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) direkt olarak dokulara fazla zarar vermez. Ancak hidrojen peroksidin (H_2O_2) asıl kaynağıdır. Nitrik oksit (NO) ile birleşerek peroksinitriti ($OONO^-$) oluşturur. Peroksinitrit ($OONO^-$), proteinlere zarar verir. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), düşük pH değerlerinde perhidroksil radikali (HO_2^{\bullet}) oluşturur. Ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyonu sonucu hidroksil ($\bullet OH$) oluşumuna neden olur. Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir (12).



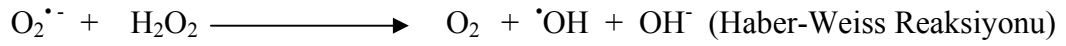
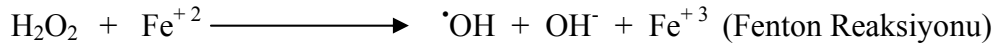
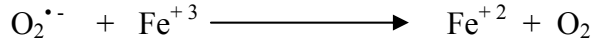
2.2.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Aerobik canlılarda süperoksitlerin hidrojen peroksite (H_2O_2) çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. Bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Alkali ve nötral pH'da enzimatik dismutasyon daha belirgindir. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), özellikle hafif asidik koşullarda süperoksit dismutaz (SOD) olmadan kendiliğinden dismutasyonla da hidrojen peroksite (H_2O_2) çevrilebilir. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) birikimine izin verilmez. $O_2^{\bullet-}$ 'nin $2 e^-$ alması ya da süperoksitin ($O_2^{\bullet-}$) bir e^- alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü $2 H^+$ ile birleşerek hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturur (13).



Hidrojen peroksit (H_2O_2), hücre membranlarını kolay geçer. Hücresel ortamda süperoksitin ($O_2^{\bullet-}$) dismutasyonu ile oluşur. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden serbest radikal özelliği taşımaz. Ancak yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilir ve daha da önemlisi süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) ile birleşerek hidroksil ($\bullet OH$) radikali üretebilir ki bu da oksijen yapısındaki radikallerin en toksik olanıdır ve hücrelerde ve makromoleküllerde hasara yol açar. Bu reaksiyon ise Haber-Weiss reaksiyonudur. Ayrıca aktivitesi de yüksek olduğundan herhangi bir moleküle hızla reaksiyon vererek mitokondrial DNA, membran lipidleri ve karbonhidratlara da zarar verir (11).

Hidrojen peroksitin (H₂O₂) oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir ve bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin (•OH) öncülü olarak davranmasıdır. Hidrojen peroksit (H₂O₂) proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidatif özellikte olan reaktif demir formlarını oluşturur. Bu reaksiyonda önce Fe⁺³, süperoksit (O₂^{•-}) ile Fe⁺² 'ye indirgenir. Fe⁺² ile hidrojen peroksit (H₂O₂) birleşerek hidroksil (•OH) oluşur. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir (13). Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle, biyolojik sistemlerde oluşan hidrojen peroksitin (H₂O₂) derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirir.



2.2.3.3. Hidroksil Radikali (•OH)

Hidroksil (•OH) radikali canlılarda iyonlaştırıcı radyasyonun etkisi ile sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşması ile meydana gelir. Bu tepkimeler çok kısa sürede gerçekleşir ve üretilen hidroksil (•OH) radikali, radyasyonun canlılardaki toksik etkisinden sorumlu ve en önde gelen kimyasal türdür (14). Hidroksil (•OH) radikalının bir diğer oluşum yolu ise hidrojen peroksitin (H₂O₂) eksik indirgenmesi sonucudur. Hidrojen peroksitin (H₂O₂) iki e⁻ ile indirgenmesi ile su oluşurken, tek elektron ile indirgenmesi sonucu hidroksil (•OH) oluşur. Bu indirgenme reaksiyonu bakır, demir gibi metal iyonları tarafından katalizlenir. Askorbik asit, süperoksit (O₂^{•-}) gibi indirgeyici bileşiklerin de bulunduğu ortamda oksitlenen metal iyonu, tekrar indirgendiğinden hidrojen peroksitten (H₂O₂) hidroksil (•OH) yapımı sürekli bir hale gelir. Haber-Weiss tepkimesi ya da Fenton tepkimesi (15) olarak adlandırılan bu tepkimeler ile hidroksil (•OH), vücutta üretilen hidrojen peroksit (H₂O₂) ve serbest metal iyonunun varlığına bağlı olarak oluşur. Süperoksit (O₂^{•-}) hem hidrojen peroksitin (H₂O₂) öncülü hem de metalleri indirgeyici bir tür olduğundan ve proteinlere bağlı

metallerin indirgenip serbest kalmasına da neden olabildiğinden, biyolojik koşullarda süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) oluşumunun arttığı ortamda hidroksil ($\cdot OH$) üretimi de devam eder.

Biyolojik sistemler için en reaktif tür olan hidroksil ($\cdot OH$), su dahil tüm ortamlarda rastladığı her biyomolekülle tepkimeye girer. Başlıca tepkimeleri şunlardır:

- a) Elektron transfer tepkimeleri
- b) Hidrojen çıkarma tepkimeleri
- c) Katılma tepkimeleri olarak sınıflanabilir.

Bütün bu tepkimeler, hidroksil ($\cdot OH$) radikalinin paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma özelliğinden kaynaklanır. Hidroksil ($\cdot OH$) radikalinin organik moleküllerden hidrojen atomu alarak suya indirgendiği tepkime, hidrojen çıkarma tepkimesi olarak bilinir. Katılma tepkimeleri, özellikle elektron açısından yoğun moleküllerle (pürin ve primidin bazları, aromatik amino asitler gibi) gerçekleşir. Hidroksil ($\cdot OH$) radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Hidroksil ($\cdot OH$) radikali özellikle elektron açısından zengin bileşikler olmak üzere her türlü biyolojik molekülle tepkimeye girer. Bunlardan bazıları proteinler, lipidler ve nükleik asitlerdir.

2.2.3.4. Hipokloröz Asit (HOCl)

Enzimatik olarak, nötrofiller tarafından üretilen, güçlü bir oksidandır. Fagositik hücrelerce bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynar. Aktif nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller hipokloröz asiti (HOCl) üretirler. Özellikle hidrojen peroksit (H_2O_2) üzerine myeloperoksidazın etkisi ile nötrofillerde oluşur. Hücre dışına salınan antibakteriyel bir ajandır. Ancak çok düşük konsantrasyonlarda bile belirli protein fonksiyonlarını bozabilme yeteneğine sahiptir. Yüksek konsantrasyonlarda hücre lizisi oluşturabilir. Alfa 1-antitripsini okside ve nötrofil kollajenazını aktive etme yeteneğinde olan hipokloröz asit, temizleyici antioksidanlar olan albümin ve askorbik asit ile uzaklaştırılır (16).

2.2.3.5. Singlet Oksijen (1O_2)

Singlet oksijen (1O_2) gerçek bir radikal değildir ve eşleşmemiş elektron içermez. Diğer reaktif oksijen türleri ile karşılaştırıldığında oldukça zararsızdır. Singlet oksijen (1O_2), oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünden ters yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi, süperoksitin ($O_2^{\cdot-}$) dismutasyonu ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) hipokloröz asit ($HOCl$) ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir (17).

2.2.4. Reaktif Oksijen Ürünlerin Etkileri

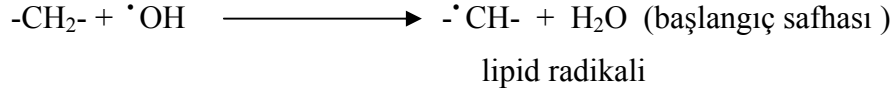
Reaktif oksijen ürünleri protein, lipid, karbonhidrat, DNA ve enzimler gibi hücrenin tüm hayati bileşiklerine etki ederler (12).

a- Proteinlere Olan Etkileri

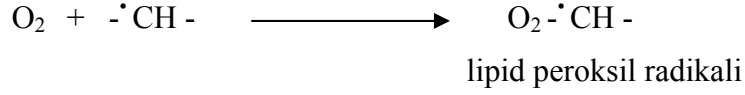
Reaktif oksijen ürünlerinin yol açtığı protein hasarı proteinlerin aminoasit bileşimine bağlıdır. Ancak serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastırlar. Yapısında sülfür içeren aminoasitler (triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin, sistein gibi) serbest radikal hasarından daha kolay etkilenirler (18). Serbest radikallerin oluşturduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve agregasyonlar meydana gelir. Proteinlerde hasar oluştuğunda üç boyutlu yapıları bozular. Normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hasar büyükse ve hücresel fonksiyonlar için hayati önemi olan proteinler etkilenmişse sonuçta hücrenin bütünlüğü bozular (11).

b- Lipidlere Olan Etkileri

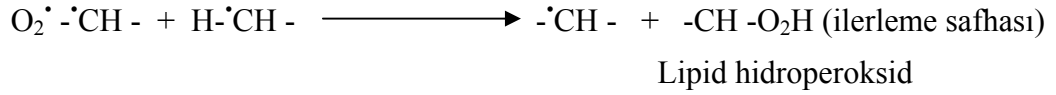
Lipidler reaktif oksijen ürünlerine karşı en dayanıksız olan bileşiklerdir. Reaktif oksijen ürünleri hücre membranında bulunan yağ asitlerinin doymamış bağları ile tepkimeye girerek lipid peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Membran hasarını yapan bu peroksidasyon ürünleridir. Hücre membranının hasarı, geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, zincir reaksiyonudur. Reaktif oksijen ürünlerinin etkisi ile poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlar. Bunun sonucunda lipid radikali meydana gelir (11).



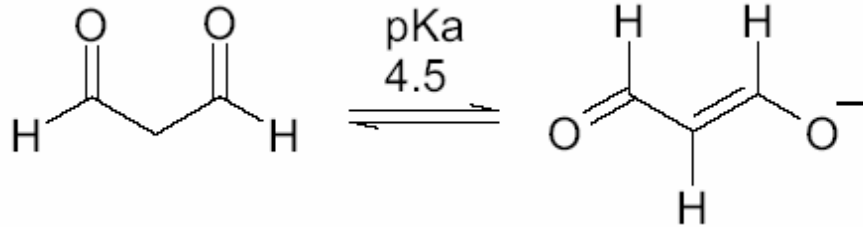
Lipid radikali, dayanıksız bir bileşik olduğundan değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesiyle dien konjugatları ve lipid radikalının O₂ ile etkileşimi sonucu lipid peroksil radikali oluşur (18).



Lipid peroksil radikalleri, diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerini oluştururken, aynı zamanda açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşürler (18).



Lipid hidroperoksitleri geçiş metallere katalizi ile yıkıldığında aktif aldehidler oluşur. 3 veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA (malondialdehit) oluşur (sonlanma safhası) (11).



Şekil 1. MDA'nın yapısı

MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ve kantitatif bir göstergesi değildir. Fakat lipid peroksidasyonunun derecesi ile koreledir. Peroksidasyonla oluşan lipid peroksitleri ve MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirir. Ayrıca DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girmektedir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik ve karsinojenik olduğunu açıklar. MDA, uzun ömrü ve yüksek reaktivitesi ile hücre içi ve dışındaki protein, nükleik asit gibi birçok biyomoleküle etki ederek geri dönüşümü mümkün olmayan hasarlara yol açmaktadır. Bunun yanı sıra membranın akıcılığının azalmasına, membran fonksiyonlarının yavaşlamasına, membran reseptör ve

enzimlerinin inaktif olmasına ve de Ca^{+2} iyonları üzerine geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır (19,20).

c- Karbonhidratlara Olan Etkileri

Monosakkaritler, reaktif oksijen ürünlerinin hasarına uğradığında hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler, DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve çapraz bağ yapabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler (11).

d- Nükleik Asitlere Olan Etkileri

Reaktif oksijen ürünleri için DNA önemli bir hedefdir. DNA'nın yapısını etkileyerek mutasyona ve hücre ölümüne neden olurlar. Hidroksil radikali ($\cdot OH$), deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Eğer bu radikal, DNA'nın yakınında meydana gelirse, pürin ve pirimidin bazlarını etkileyerek mutasyonlara neden olur. Nükleik asitlerde, doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin (1O_2) nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Singlet oksijen (1O_2) güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer. Aktive olmuş nütrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. (21). Hasara uğrayan DNA daha antijenik özellik gösterir. Bunun sonucunda da DNA'ya karşı vücutta anti-DNA antikorları üretilir (13).

2.2.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Neden Olduğu Hastalıklar

Okidatif stres, süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) anyon radikali ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen ürünleri tarafından başlatılır. Her iki reaktif oksijen ürünü de güçlü oksidanlardır, ancak dokularda oluşan zararlı reaksiyonlar sonucunda daha da tehlikeli oksidanlar haline dönüşebilmektedirler (22).

Oksidatif stresin neden olduğu sonuçlara bakılarak, bir çok hastalığın gelişimine moleküler anlamda temel oluşturduğu anlaşılmaktadır (23). Buna göre metabolizmada üretilen radikallerin fazlasının oluşmaması için çok erken safhalarda indirgenmesi biyomoleküllerin korunması bakımından hayati öneme sahiptir. Radikaller tepkimelerin

sonlanması için ise ya oluşan radikallerin antioksidanlar ile indirgenmesi, ya radikallerin birbirleri ile tepkimeleri ya da ortamda tepkimeye girebilecek bileşik kalmaması gerekmektedir. Serbest radikallerin bazı hastalıkların oluşumundaki rolü Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo 1. Serbest radikal hasarlarının neden olduğu hastalıklar

HASTALIK	SERBEST RADİKALLERİN PATOFİZYOLOJİK ROLÜ
Hipertansiyon (24)	Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu, NADP/NADPH oksidaz üzerinden oksidan üretimi ve endotelial disfonksiyon
Ateroskleroz (25)	Endotelial disfonksiyon, makrofajların aktivasyonu
Miyokardiyal Enfarktüs (26) Ateroskleroz (25)	İskemik reperfüzyon hasarı sonucunda miyosit nekrozu ve/veya apoptosis
Diyabet (27)	ROS’ların oluşumunu hızlandırdığı, süperoksidin neden olduğu endotelial disfonksiyon
Yaşlanma (28)	Hücre hasarları ve metabolik anormallikler
Kanser tipleri (29,30)	Gen mutasyonu ve hücrel faaliyetlerin ileri derecede bozulması
Alzheimer (31,32)	Amiloid peptid ürünleri oluşumu, beyin hücrelerinde oluşan nörotoksisite
Huntington (33)	Mitokondrial zaafiyet
Parkinson (34)	Mitokondriyal disfonksiyon
Akut solunum yetersizliği, enflamasyon ve hiperoksiya (35,36,37)	Enflamasyon ve endotelial disfonksiyon
Otoimmün Bozukluklar (38)	Enflamasyon ve doku yıkımları
Yaşa bağlı dejenerasyon (39)	Fotokimyasal reaksiyonlar

2.3. Antioksidanlar

Reaktif oksijen ürünlerinin yapımını ve hasarını önlemek için vücutta koruyucu mekanizmalar gelişmiştir. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir

kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu maddelere antioksidanlar adı verilir (13). Antioksidan sistemler ikiye ayrılır (20):

A- Enzimatik antioksidanlar

B- Non-enzimatik antioksidanlar

Antioksidanlar lipid peroksidasyonuna karşı etkilerini birkaç şekilde gösterirler (11).

1. Reaktif oksijen ürünlerinin enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi,

2. Reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunun baskılama yoluyla engellenmesi,

3. Metal iyonlarının bağlanması ve böylece radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,

4. Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi (40).

2.3.1. Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

2.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikale karşı devreye giren ilk savunma sistemidir. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi iki molekül süperoksitin ($O_2^{\cdot-}$) iki molekül proton ile reaksiyona girerek hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşümü reaksiyonunu katalizleyerek, böylece hücre içindeki süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikali düzeylerini azaltır. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikali birçok yükseltgenme reaksiyonunda yan ürün olarak üretilir, fakat büyük bir kısmı mitokondrideki elektron taşıma zincirinin sonucunda ortaya çıkar. Aerobik hücreler dismutasyon reaksiyonunu katalizleyerek süperoksiti ($O_2^{\cdot-}$) temizleyen ve detoksifiye eden süperoksit dismutazları (SOD) içerir.



Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi fazladır. Buna karşılık ekstraselüler sıvılarda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi çok düşüktür. Süperoksit dismutaz (SOD) izoformlarının dağılımı dokudan dokuya değişiklik göstermektedir. İskelet kasında toplam süperoksit dismutaz (SOD)

aktivitesinin %15-35'i mitokondrilerde gerçekleşirken geri kalanı sitozolde gerçekleşir (40). İnsanlarda süperoksit dismutazın (SOD) üç izoenzimi vardır:

1- Cu/Zn-SOD: Dimerik yapıda olup sitoplazmada lokalizedir. Aktif bölgesinde kofaktör olarak bakır ve çinko bulunur. En fazla bulunan ve antioksidan savunmada ana rolü oynayan enzimdir. Disülfid köprüsü ile bağlanan birbirinin aynı iki alt üniteden oluşmuştur ve her iki alt ünite birer atom Cu^{+2} ve Zn^{+2} içermektedir. Siyanürle inhibe olur (41).

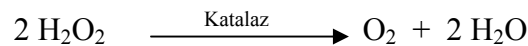
2- EC-SOD: Vasküler endotele bağlı olarak bulunan ekstrasellüler süperoksit dismutazın (SOD) kofaktörleri bakır ve çinkodur. EC-SOD'ın aktivitesinden bakır, stabilitesinden ise çinko sorumludur (41).

3- Mn-SOD: tetramerik yapıda olup mitokondride ve diğer hücre komponentlerinde bulunur. Kofaktör olarak mangan içerir. Siyanürden etkilenmez (41).

2.3.1.2. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksit (H_2O_2) bir radikal olmamasına rağmen, reaktivitesi en fazla olan reaktif oksijen türü olan hidroksilin ($\cdot\text{OH}$) öncüsüdür ve bu nedenle birçok reaktif oksijen türünden daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz (CAT) solunum yapan tüm organizmalarda bulunan ve iki fonksiyon gösteren bir enzimdir (42,43).

1- Hidrojen peroksitin suya ve moleküler oksijene parçalanması (zehirsizleştirme reaksiyonu)



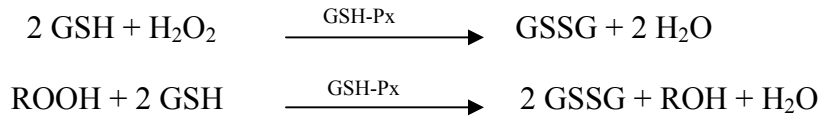
2- Bir mol peroksitin parçalanması ile oluşan reaksiyon sonucunda; metanol, etanol, formik asit veya fenollerin yükseltgenmesi (42,43).

Katalaz (CAT) enzimi peroksidazlarda lokalizedir ve yapısında dört tane hem grubu bulunur. Peroksidaz aktivitesi de vardır ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi küçük moleküllere etki ederken, lipid hidroperoksitlerine etki etmez (44).

2.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hidrojen atomlarını vermek eğiliminde olan bileşikler ile bu atomları alıcı durumunda olan hidrojen peroksit (H_2O_2) bileşiği arasındaki reaksiyonu katalizleyen bir

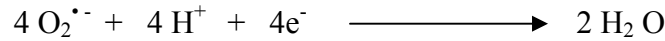
oksidoredüktazdır. Canlılarda görev yapan farklı peroksidaz enzimleri vardır. Peroksidaz enzimlerinin en önemlilerinden biri olan glutatyon peroksidazın (GSH-Px) önceleri sadece hayvanlarda bulunduğu kabul edilirken, yakın dönemlerde yapılan çalışmalar bitkilerde de hidrojen peroksitin parçalanması (H_2O_2) için glutatyon peroksidazın (GSH-Px) görev yaptığını göstermiştir. Substratı glutatyon olan bu enzim aneoroplarda bulunmaz. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px); sitozolde bulunan bir enzimdir, tetramer yapısındadır ve dört tane selenyum atomu içerir. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksitin (H_2O_2) ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar.



Glutatyon peroksidazın (GSH-Px) iki substratı vardır. Substratlarından biri olan peroksitler alkolle indirgenirken, diğer substrat olan glutatyon yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutatyon, glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşür. Glutatyonun okside formu disülfid bağıyla bağlanmış iki glutatyon molekülü içerir. Bu tepkimeyi glutatyon peroksidaz (GSH-Px) katalizler (40).

2.3.1.4. Sitokrom Oksidaz

Mitokondrilerde solunum zincirinin en son basamağında yer alır. Bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken süperoksit ($O_2^{\bullet -}$) radikalinin suya dönüşümünü de sağlar.



Ancak süperoksit ($O_2^{\bullet -}$) radikallerinin oluşumu çoğu kez enzimin kapasitesini aşar ve diğer enzimlerin devreye girmesiyle süperoksit ($O_2^{\bullet -}$) radikalinin zararlı etkileri engellenir (40).

2.3.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

2.3.2.1. Beta Karoten (A Vitamini)

Beta karoten, A vitamininin metabolik ön maddesidir. A vitamini aktivitesi, retinolün ancak altıda biri kadardır. Yağda çözünür ve ince bağırsakta parçalandıktan sonra 2 molekül retinal oluşur. İnsanlarda bu dönüşüm etkin değildir (12). Konjuge alkil yapısı taşıyan serbest organik peroksit radikallerinin ortadan kaldırılmasında etkilidir.

2.3.2.2. C Vitamini (Askorbik Asit)

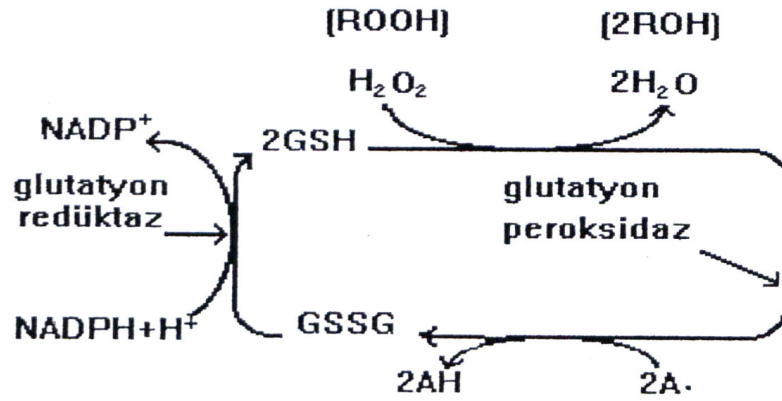
Suda çözünen vitaminlerdendir. İnsanlarda sentezlenemediğinden dolayı diyetle alınması gerekir. Isıtılmaya dayanıksız, dondurulmaya dayanıklıdır. Doku yapımında, hormon sentezinde ve amino asit metabolizmasında rol oynar. Plazmada ve dokularda askorbat şeklinde bulunur. En yüksek askorbat içeren dokular timus, adrenal bez ve korpus luteumdur. C vitamini güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve singlet oksijen (1O_2) ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Suda çözünmesine rağmen lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve hücre zarlarını oksidatif strese karşı korur (40).

2.3.2.3. E Vitamini

E Vitamini (α -Tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır. İnsan dokularında en fazla bulunan ve yağda eriyen vitaminlerdendir. Hücre zarında bulunan poliansatüre yağ asitlerini, serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur (45). E Vitamini, zincir kırıcı antioksidan olarak görev alır ve serbest radikalleri etkisiz hale getirir. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir ve bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin; eritrosit membranları ve solunum sistemi membranında yoğunlaşma eğilimi gösterir. E vitamini, hücre membran lipidleri üzerindeki etkisi nedeniyle bu membranları oksidatif hasarlanmaya karşı korur. Böylece eritrosit membranının stabilitesini artırır ve aynı etkiyi diğer hücrelerde de gösterir (46).

2.3.2.4. Glutatyon (GSH)

Karaciğerde glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir. Glutatyon (GSH), redükte tiyol grubu ve peptidaz ataklarına dirençli gama glutamil bağı ile karakterizedir. Suda çözünür bir antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutatyonun (GSH) birçok metabolik görevi vardır. Glutatyon (GSH), proteinlerdeki sülfhidril gruplarını redükte halde tutarak, pek çok proteini ve enzimi oksidasyona karşı korur. Amino asitlerin membrandan transportunu sağlar. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasarı engeller. Hidroksil ($\cdot\text{OH}$) ve karbon radikalleri ile birleşir ve H^+ atomu verir (11). Böylece oksidatif hasarın esas kaynağı olan hidroksil ($\cdot\text{OH}$) nötralize edilmiş olur. Glutatyon (GSH), bu reaksiyon sırasında okside glutatyona dönüşür. Bunun için NADPH gereklidir (Şekil 2).



Şekil 2. Glutatyon (GSH) redoks sistemi (12).

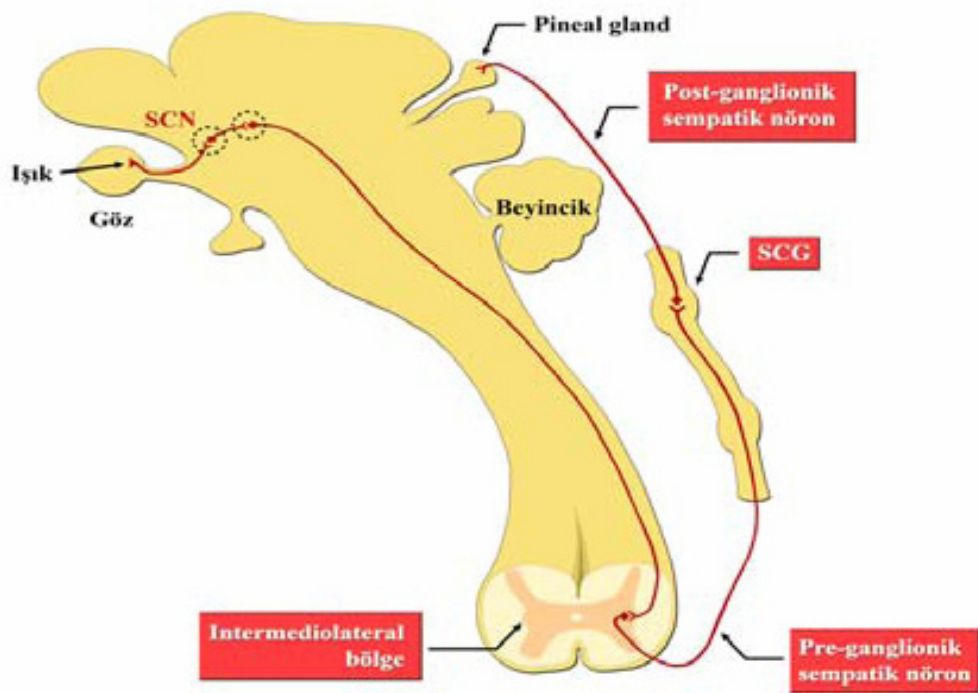
Glutatyon (GSH), eritrosit membranının oksidatif hasardan korunmasında da hayati öneme sahiptir. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önler.

2.4. Melatonin

Melatonin (N-metoksitriptamin); beyinde bulunan pineal salgı bezinden sirkadien ritim ile salgılanan endokrin bir hormondur. Melatonin salgılanma hızını belirleyen en önemli faktör, çevrenin aydınlık veya karanlık olmasıdır. Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkla beraber depolarize olarak, pineal bezde melatonin sentezini başlatırlar. Melatonin salınımı geceleri maksimum konsantrasyona ulaşır bu yüzden melatonin ritmi gecenin endokrin markırı olarak ifade edilir (47).

Pineal bez dışında retina, bağırsak, kan damarları, karaciğer ve ovaryumlarda da üretildiği gösterilmiştir (48,49).

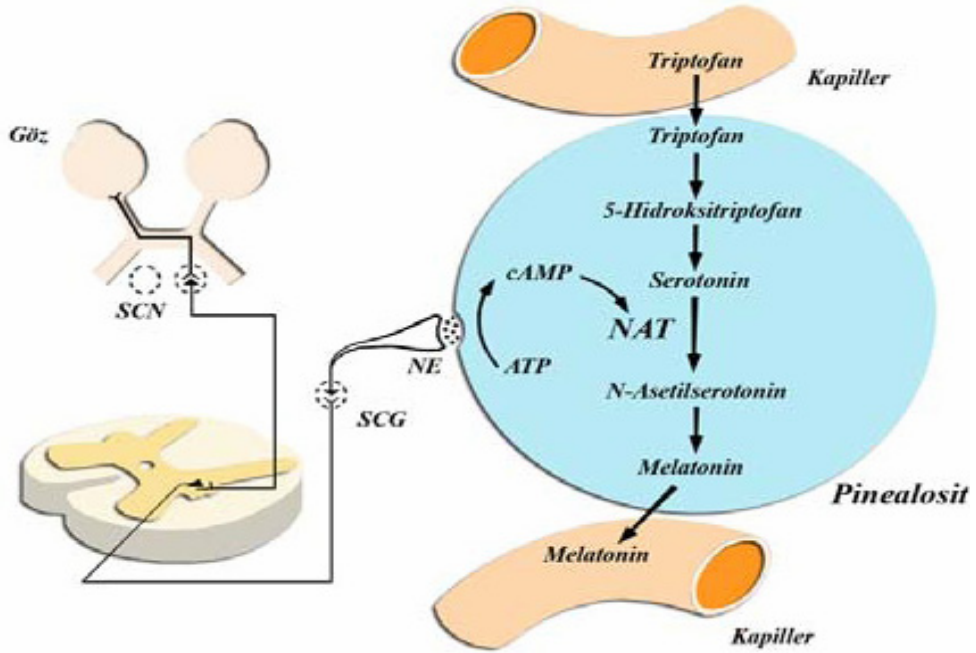
Işık retina ve suprakiazmatik nukleus (SCN) üzerinden superior servikal gangliyonu (SCG)'yi inhibe eder. Bu nedenle aydınlık periyod boyunca superior servikal gangliyon (SCG) pineal bezi uyaramaz. Karanlıkta retinal inhibisyon kalkar ve superior servikal gangliyon (SCG) adrenerjik yolak üzerinden pineal bezi uyarır. Bu uyarı karanlık periyod boyunca pineal bezden melatonin salgılanmasına neden olur (Şekil 3).



Şekil 3. Melatoninin pineal bezden aydınlık-karanlık döngüsüne göre salgılanma mekanizması (50).

Doğumdan itibaren 3 aya kadar çok az olan melatonin salınımı, giderek artmakta ve sirkadiyan salınmaya başlamaktadır. Genç erişkinlerde gündüze göre, gece 3-10 kat daha yüksek olan serum melatonin konsantrasyonu, gece yarısı en yüksek seviyeye ulaşmakta ve daha sonra giderek azalmaktadır (51). Yaşlanma ile birlikte melatonin sentezinin azaldığı gösterilmiştir (52). Melatonin başta uykunun düzenlenmesi olmak üzere bir çok fizyolojik olayda rol oynar. Sindirim sisteminde, kardiovasküler sistemde ve özellikle de vücudun biyolojik ritminin düzenlenmesinde yer alan önemli bir düzenleyici hormondur. Beyin hücrelerinin korunmasında ve yenilenmesinde etkili bir

antioksidandır. Ayrıca melatonin, hücreleri oksidatif stresten koruyan, serbest radikal yakalama fonksiyonu yüksek bir moleküldür. Melatonin biosentezinde başlangıç maddesi, pineal bez tarafından plazmadan alınan ve esansiyel bir aminoasit olup dışarıdan besinlerle alınması gereken “triptofan”dır. Triptofan, triptofan-5-hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksitriptofana (5-HTP), 5-HTP ise aromatik aminoasit-dekarboksilaz ile serotonine, serotonin N-asetil transferaz (NAT) ile N-asetilserotonine ve N-asetilserotonin ise hidroksiindol-O-metiltransferaz enzimi ile melatonine dönüştürülür. Melatonin salgılanmasında hız kısıtlayıcı enzim N-asetil transferaz (NAT)’dir. Karanlıkta superior servikal gangliyon (SCG)’den kalkan uyarılar, cAMP yoluyla ile N-asetil transferaz (NAT) aktivasyonuna neden olur ve melatonin üretimi artar (Şekil 4).



Şekil 4. Melatoninin pinealositlerde sentezi ve salgılanması (50).

Pineal bezde üretilen melatonin depolanmadan hızlı bir şekilde komşu kapiller damarlara geçer. Bu özelliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA’nın korunmasında oldukça etkilidir. Dolaşımdaki melatonin konsantrasyonu pineal bezdeki melatonin üretimini yansıtır. Lipofilik özelliği nedeniyle, hücrenin tüm fraksiyonlarına kolaylıkla geçebilen melatonin için (51) sitozolik ve nükleer bağlanma yerleri de tanımlanmıştır (48). Melatonin’in inaktivasyonu, karaciğerde gerçekleşir ve sonuçta idrarla atılır.

2.4.1. Melatonin, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Fonksiyonel olarak melatonin üreten hücreler organizmanın savunmasında radikal giderici olarak rol oynayabilir. Serbest radikaller bir çok doku ve organda bulunmaktadır. Büyük miktarda nitrik oksit (NO) içeren barsak, beyin, retina ve akciğerlerde bol miktarda melatonin taşıyan hücrelerin bulunması bu hipotezi desteklemektedir.

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal yakalayıcı ajan olduğu gösterilmiştir. Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$) başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle de DNA'yı koruyabilir. Çünkü moleküler yapısı, tüm hücre organellerine ulaşmaya müsaittir ve DNA'yı koruyan hücre çekirdeğine bile etki edebilir. Serbest radikal giderici etkisi bakımından, bilinen tüm antioksidanlardan (mannitol, glutatyon ve vitamin E gibi) daha güçlüdür. Melatonin, antioksidanların büyük çoğunluğunun aksine; hem suda, hem de yağda çözünebildiğinden; hücrenin tüm komponentlerine etki eder. Ayrıca, indirekt olarak, özel melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzim seviyelerini arttırarak da doku koruyucu etki gösterir (53). Melatonin'in antioksidan özelliği üç ana başlık altında toplanabilir:

a- Antioksidan enzim aracılı etki: Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki melatoninin, bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini arttırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir.

b- Direkt antioksidan etki: Melatonin oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye eder. Böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir. Melatoninin antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır.

c- Prooksidan enzim aracılı etki: Melatoninin bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve böylece antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir (54,55).

Yapılan çalışmalar melatoninin hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikalini, süperoksit anyon ($\text{O}_2^{\cdot-}$) radikalini, peroksil radikalini, singlet oksijeni ($^1\text{O}_2$), hidrojen peroksiti (H_2O_2), nitrik oksiti (NO) ve hipokloröz asiti (HOCl) nötralize edebildiğini göstermektedir.

Ayrıca peroksil ve hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) yakalayıcısı olarak da E vitamininden daha etkilidir. In vivo çalışmalarda melatoninin, glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı, nitrik oksit sentetazın aktivitesini ise azalttığı gösterilmiştir (56).

2.4.2. Melatoninin Serbest Radikalleri Giderici Özelliği

Melatonin tüm canlılar için gerekli bazal ve multifonksiyonel bir moleküldür. Esansiyel bir aminoasit olan triptofandan türeyen melatonin, elektron transferini düzenleyebilmekte, reaktif ara ürün radikalleri detoksifiye edebilmekte, peroksidatif reaksiyon zincirlerini güçlü bir şekilde kontrol edebilmektedir. Bu temel antioksidan etkinin insan biyolojisindeki karşılığı ise hücre ve dokunun bütünlüğünün korunmasıdır. Metabolizmanın biyokimyasal işleyişinde oksidasyon ara ürünleri ve dolayısıyla oksidatif stres oluşumu kaçınılmazdır. Bununla beraber metabolizma, bu kaçınılmaz oksidatif strese karşı etkin antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Son yapılan çalışmalar, bu endojen antioksidan maddelerden en güçlüsünün melatonin olduğunu göstermiştir (57). Melatonin molekülü kolaylıkla oksitlenmez, otooksidasyona uğramaz ve redoks döngüsüne, hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) üreten reaksiyonlara katılmaz. Melatoninin yanısıra melatonin metabolitlerinden hiçbirisinin prooksidatif aktivitesi yoktur. Melatoninin hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikalini nötralize etme özelliği glutatyondan 5 kat, mannitolden 15 kat, peroksit radikalini giderme özelliğinin ise E vitamininden 2 kat daha güçlü olduğu ispatlanmıştır (57). Direkt süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) anyon radikalini yakalayıcılığı yönünden melatonin düşük yeteneğe sahip görünmektedir. Ancak melatoninin süperoksitin ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dismutasyonunda önemli bir rol oynayan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi için hücre içi mRNA'yı arttırdığı ileri sürülmektedir (58). Antioksidan enzimler hidrojen peroksiti (H_2O_2) hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikaline redükleyerek ve toksik olmayan ürünler oluşturmak suretiyle hücrelerin yaşamasını sağlarlar. Hidrojen peroksitin (H_2O_2) toksisitesi süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) toksisitesi ile benzerdir. Melatoninin hidrojen peroksit (H_2O_2) üzerinde direkt etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) hücrelerde katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ile toksik olmayan ürünlere dönüştürülür. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır.

Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre melatonin etkili bir serbest radikal yakalayıcısıdır ve hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikalının DNA üzerinde yaptığı hasarları azaltmaktadır. Bu nedenle melatonin, sitotoksiste, lipid peroksidasyonu ve DNA zincir kırılmalarına karşı etkili bir koruyucudur. Hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikalının detoksifikasyonunda elektron donörü olarak rol oynamaktadır. Melatonin bir e^- vererek hidroksili ($\cdot\text{OH}$) nötralize eder ve non-toksik indolil katyon olan melatonil radikaline dönüşür. Melatonin singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve peroksil radikalının yakalayıcısı olarak da etki gösterir. Sonuç olarak melatoninin bir lipid peroksidasyon inhibitörü olduğu herkesçe kabul edilen bir durum olmuştur.

Tablo 2. Melatoninin serbest radikaller ve antioksidan enzimlere etkileri (53)

ETKİLENEN MOLEKÜL	MELATONİNİN ETKİSİ
Singlet Oksijen	Süpürür
Hidroksil Radikali	Süpürür
Peroksil Radikali	Süpürür
Peroksinitrit Anyonu	Süpürür
Süperoksit Anyon Radikali	Süpürür
Süperoksit Dismutaz	mRNA'sını stimüle eder
Glutasyon Peroksidaz	Aktivasyonunu uyarır
Glutasyon Redüktaz	Aktivasyonunu uyarır
Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz	Aktivasyonunu uyarır
Nitrik Oksit Sentaz	Aktivasyonunu inhibe eder

Serbest radikal süpürücü etkisine ek olarak, melatonin membran Ca^{+2} pompası aktivitesini etkileyerek, aşırı Ca^{+2} yüklenmesini önler ve hücre içi Ca^{+2} düzeyini ayarlayabilir. Hücre içi Ca^{+2} 'un aşırı artması ile hücre şişmesi ve nekroz oluşmaktadır. Bu sistemin bloke edilmesiyle de nekroz oluşumu engellenmektedir (59).

2.4.3. Melatoninin Biyolojik Etkileri

2.4.3.1. Uyku ve Sirkadiyan Ritim Üzerine Etkileri

İnsanlarda 24 saatlik melatonin sekresyonu karanlık saatlerin daha fazla olduğu kış aylarında yaz aylarına göre daha yüksektir. Melatonin salgılanmasının uyku saatleri ve sirkadiyan ritimle senkronizasyonu açıkça bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda insomniası olan yaşlılarda gece pik değerlerinin insomniası olmayan yaşlılara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Oral melatonin verilmesi sonrası insomniası olan yaşlı hastalarda uyku bozukluğunda düzelme olduğu görülmüştür. Serum melatonin konsantrasyonundaki artış uykunun başlamasını tetiklemektedir ve uykunun devamlılığı ve kalitesini etkilemektedir (60,61).

2.4.3.2. İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Melatoninin strese bağlı immunodepresyonu giderici ve tümör büyümesini inhibe edici etkisi vardır (62). Fare çalışmalarında melatoninin kemik iliğinde T helper hücrelerinde IL-2, IL-4 yapımını ve stromal hücrelerde granülosit makrofaj koloni stimulan faktör yapımını arttırdığı gösterilmiştir (63). Bunun yanında melatonin kemik iliği hücrelerini apoptozise karşı korumaktadır (64). T lenfositlerde, yüksek afiniteli melatonin reseptörü bulunmuştur fakat B lenfositlerde melatonin reseptörünün olmadığı saptanmıştır (65).

2.4.3.3. Yaşlanma Üzerine Etkileri

Melatonin antioksidan ve immün sistemi destekleyici etkisi ile hücreleri hasarlanmadan koruyarak yaşlanmaya karşı koruyucu etki gösteriyor olabilir. Yaşlanmayla birlikte gece yarısı serum melatonin seviyesinin düşmesi, zararlı oksijen radikalleri ile oluşturulan hasarı artırır. Melatonin seviyesinin düşmesi sonrası yaşlanma süreci başlıyor ya da yaşlanmaya sekonder melatonin seviyesi düşüyor olabilir. İnsanlarda melatoninin yaşlanmaya karşı koruyucu etkisinin olduğuna dair çok net bulgular yoktur.

2.4.3.4. Seksüel Matürasyon ve Üreme Üzerine Etkileri

Melatoninin üremeyi etkilediğine dair çok sayıda çalışma vardır. Bazı canlı türlerinde melatonin antigonadotropik etki göstermektedir. Mevsimsel değişiklikler gonadal fonksiyonları etkileyerek mevsimsel üreme periyotları ortaya çıkarmaktadır. Günlerdeki karanlık saatlerin sayısının değişmesi melatonin sekresyonunu etkilemekte olup, bu da üreme aktivitesini etkilemektedir. İnsanlarda mevsimsel değişim yoktur ancak epidemiyolojik çalışmalarda coğrafi alanlara göre döllenme ve doğum oranlarında mevsimsel bir dağılım gözlenmiştir. Kuzey kutbunda yaşayanlarda hipofizer-gonadal fonksiyon ve döllenme oranları yaz aylarına göre karanlık kış aylarında daha düşüktür (66,67). Melatonin eksikliği hipofizer-gonadal fonksiyonu aktive edebilir. Melatonin salınımının çocukların büyümesiyle birlikte puberte dönemine doğru düşmesi pubarşta rol oynadığını gösteriyor olabilir. Adolesan döneminde gece yarısı serum melatonin değerleri çocukluk dönemine göre progresif olarak düşmektedir. Puberte prekoks olan bazı çocuklarda, aynı yaştaki çocuklara göre melatonin seviyeleri daha düşük bulunmuştur (68). Hipogonadotropik hipogonadizmi olan bir hastada yüksek melatonin seviyesi ve gecikmiş puberte saptanmış ve aynı hastada melatonin seviyesi spontan olarak normal değerlere düştüğü zaman normal pubertal gelişim olmuştur (69). Bu bulgular melatonin'in pubertenin zamanlaması üzerinde etkisi olduğu hipotezini desteklemektedir. Serum melatonin konsantrasyonu hipotalamik amenorede atmaktadır (70). Bu ve benzeri bulgular melatonin sekresyonundaki değişikliklerin seks steroidlerinin yapımını etkileyebileceği fikrini desteklemektedir. Sağlıklı genç kadınlara oral melatonin verilmiş olan bir çalışmada siklus ortasında LH sekresyonunda ve ovulasyonda inhibisyon görülmüştür (71). Melatonin hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksı suprese etmekte, hipotalamik pulsatil GnRH salınımını değiştirmekte, muhtemelen LH'ın hipofizer salınımını ve sentezini etkilemekte ve ovaryuma direkt etki ile kontraseptif etki göstermektedir (72). Melatonin overlerin fonksiyonlarının modülasyonunda direkt etki ediyor olabilir. Ovaryan foliküler sıvı melatonin içerir ve granüloza hücrelerinin membranları melatonin reseptörü taşır (73).

2.4.3.5. Kanser ve Melatonin

Deneysel çalışmalarda melatoninin hayvanlarda tümör büyümesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Pinealektomi sonrası tümör büyümesi artmış, aynı hayvanlara melatonin verilmesi sonrası tümör büyümesinde inhibisyon görülmüştür (74). Bu etki antimitotik aktiviteye bağlı olabilir. Yine immunomodülatör etkisi ile melatonin kansere karşı koruyucu olabilir. T-helper kaynaklı IL-2 ve IL-4 yapımını artırır ve kemik iliğinde apoptozisi engelleyerek kök hücrelerini korur. Ayrıca granülosit-makrofaj koloni stimulan faktörlerinin yapımını arttırmaktadır. Yine antioksidan etkisi onkostatik etkiye katkıda bulunabilir fakat bu etki farmakolojik dozlarda olur. Meme bezinde kemoterapik ajanlar gibi antiöstrojen etki göstermek suretiyle anti-tümoral etki yapmaktadır. Östrojen reseptörü pozitif olan meme kanserli kadınlarda ve prostat kanserli erkeklerde düşük serum melatonin konsantrasyonları ve düşük üriner ekskresyon tespit edilmiştir (75,76). Bir çalışmada östrojen reseptörü pozitif meme kanserli 14 kadında tamoksifen tedavisine melatonin eklendiğinde hastalığın progresyonunun yavaşladığı görülmüştür (77). Yine bir çalışmada melatoninin kemoterapi ve radyoterapiye bağlı kan hücrelerindeki hasarı azalttığı ve böylece tedaviye bağlı yan etkilere karşı tolerabiliteyi arttırdığı gösterilmiştir (78). Ratlarda yapılan bir deneysel çalışmada subkütan ve intraperitoneal verilen melatoninin pelvik adezyonları azalttığı görülmüştür (79).

2.5. Pnömooperitonyumla İlişkili Oksidatif Stres

Laparoskopik cerrahi şu anda sıradan olmasına (80) ve genelde güvenli olduğu kabul edilmiş olmasına rağmen, rutin laparoskopik prosedürlerden sonra bildirilen birçok mezenterik iskemi ve barsak enfarktı vardır (81,82). Bunların çoğu kardiyovasküler, hepatik ya da renal preoperatif belirtileri olan hastalarda görülmüştür (83,84,85); bununla birlikte nadir de olsa genç sağlıklı hastalarda da komplikasyon bildirilmiştir (82,86,87,88). Bu bulgular abdominal insuflasyonun ve akabinde artmış intraabdominal basıncın, desuflasyon sonrası reperfüzyon hasarıyla devam eden önemli organ iskemisine yol açtığı hipoteziyle sonuçlanmıştır (89). Bu iskemi-reperfüzyonun en önemli sonuçlarından biri de reaktif oksijen ürünleri ve antioksidanlar arasındaki dengesizliktir (90). Bu dengesizlik oksidatif stres bozukluğu olarak tanımlanır ve artmış ROS yapımından ya da temizleyici sistemin işlevini yerine getirememesinden

kaynaklanabilir. Laparoskopik işlemlerin artan karmaşıklığı ve süresi göz önüne alındığında, organ iskemii-reperfüzyon hasarı ve pnömoperitonyum ilişkili oksidatif stres çok daha önemli bir problem haline gelebilir.

2.5.1. Venöz ve Arteriyel Splanchnik Kan Akımında Azalma

Her ne sebeple olursa olsun artmış intraabdominal basınç, artmış sistemik vasküler direnç ve kardiyak outputta bir azalmaya yol açar (91). Çoğunlukla arterioller seviyede gerçekleşen splanchnik vazokonstriksiyon bir çok farklı mekanizmadan kaynaklanır. Artmış intraabdominal basınca yanıt olarak bir santral sinir sistemi yolağı tarafından üretilen vazopressin renal, superior mezenterik ve çölyak damarlarının konstrüksiyonuna neden olur (91,92,93). Buna ek olarak, splanchnik damarlar vasküler tonusun lokal kontrolü için iyi gelişmiş bir intrinsik myojenik mekanizmaya sahiptirler ve venöz çıkış bu mekanizmayı tetikleyip vazokonstriksiyona yol açar (92).

İnsan laparoskopik çalışmalarında da hemodinamik değişiklikler gösterilmiştir. (91,94,95). İnsüflasyon basıncı genelde, intraabdominal basıncı normal portal dolaşım basıncının üzerine çıkaran 12-15 mmHg'ye ayarlanmıştır (80). Kardiyak outputtaki azalmanın ve eşlik eden mezenterik vazokonstriksiyonun, kolesistektomi gibi rutin laparoskopi uygulaması sırasında organ perfüzyonunda anlamlı bir azalmaya ve portal venöz akımında düşüşe yol açtığı belirtilmiştir (94,95).

2.5.2. İnsüflasyon Basıncının Etkisi

Ratlarda 5, 10 ve 15 mmHg basınçlarıyla oluşturulan pnömoperitonyum, akciğer ve karaciğer dokularındaki serbest oksijen radikalleri oluşumunda artışla sonuçlanmıştır. (96) Benzer artışlar 0, 15 ve 25 mmHg ile pnömoperitonyuma maruz bırakılmış tavşanların ince bağırsaklarında ve laparoskopik donör nefrektomi modelindeki ratların böbreklerindeki MDA seviyelerinde de görülmüştür (97,98). Nickkholgh ve meslektaşlarının çalışmasında, karaciğer reperfüzyon hasarı histolojik ve biyokimyasal kanıtının 8 mmHg'da değil ancak 12 mmHg'da gözlemlendiği gösterilmiştir.(89)

Abdominal duvardaki gerilim ne kadar yüksek olursa intraabdominal basınç da o kadar fazla olur. Bu basınç, yukarda bahsedilen sistemik hemodinamik etkinin yanı sıra, laparoskopi sırasındaki peritoneal mikrosirkülasyonu da azaltmaktadır (99,100).

2.5.3. Kullanılan Gazın Etkisi

a- Gaz Tipi

Pnömooperitonyum için ideal olan gaz doğal, kolayca emilebilen ve peritoneal ortam için toksik olmayan gazdır. En yaygın kullanılan gaz olan CO₂ ideal bir gaz değildir, ancak hazır olarak bulunabilme, kolay absorpsiyon ve ekskresyon, ucuzluk ve yanıcı olmama gibi avantajları vardır (101). CO₂ abdominal boşluğa insüfle edildiğinde peritondan diffüze olur ve kan dolaşımıyla vücuttan atıldığı yer olan akciğerlere taşınır (96). Bununla birlikte, artan sistemik CO₂ yükünden dolayı arteriyel pCO₂'de kaydedilebilir artışlar olarak kendini gösteren yan etkiler mevcuttur (102). pCO₂'deki bu yükselme doku pH'ında düşmeye neden olarak vazokonstriksiyona, mezenterik ve hepatik kan akışında azalmaya yol açar (92,102,103). Buna ek olarak, CO₂'in peritoneal sıvıda karbonik aside dönüştürülmesiyle oluşan lokal asidite, mezotelyal yapılarda mikroskopla gözlenebilen ve periton oda havasına maruz kaldığında daha da belirginleşen doku hasarına neden olmaktadır (101,104,105). Ayrıca CO₂'in peritoneal makrofaj fonksiyonunu direkt olarak etkilediğine dair çalışmalar da mevcuttur. (106). Helyum ve argon gibi reaktif olmayan gazlar alternatif olarak düşünülmektedir.

b- Gaz Sıcaklığı ve Nem

Laparoskopide kullanılan gaz 21°C ve %0 nem derecesinde olup tipik olarak soğuk ve kurudur. Laparoskopik portların düzgün olmayan sızdırmazlıkları ve peritoneal CO₂ emilimi sebebiyle bir hasta için 500 litreye kadar varan büyük hacimlerde gaz gerekebilir. Bu soğuk ve kuru gaz akışının peritoneal ortam üzerindeki etkisi büyüktür. (107). Gazın soğutucu ve kurutucu etkisi, peritoneal mezotelyal yüzey katmanında gözle görünür yapısal, morfolojik ve artan sitokin yanıtı gibi biyokimyasal değişimlere neden olur. Bu değişimler mezotelyal hücrelerin şişmesini, hücreler arası bağlantıların genişlemesini ve alttaki bazal membranın açığa çıkmasını içerir (106).

2.5.4. Pnömooperitonyum ve Peritoneal Yüzey Değişiklikleri

Periton, 2.3-3 µm kalınlığında tek katlı kontinü bir mezotel hücre tabakasından ibaret olup mikrovilluslar ile kaplıdır(108). Sıkı junctionlarla ve desmozomlarla birleşik bu hücreler, altında bir fibröz konnektif dokunun uzandığı bazal bir membran üzerinde bulunurlar. Bir pnömooperitonyum oluşumunun peritoneal mezotelyal yüzey tabakasında mikroskopik olarak görülebilen yapısal bir değişime yol açtığı gösterilmiştir (109).

Uzamış CO₂ insüflasyonu vücut kor sıcaklığındaki bir düşüşle birliktelik gösterir. CO₂ silindirlerinden yaklaşık -90°C'lik bir sıcaklıkta likid formda gaz tedarik edilir. CO₂'in insüflatör ve tubajdan pasajı ile peritoneal kaviteye verilme noktasına kadar bu sıcaklık yaklaşık olarak oda sıcaklığı seviyesine yükselir (110). Buna rağmen verilen gazın sıcaklığı hala normal intraperitoneal ısıdan veya kor ısıdan önemli oranda daha düşüktür. Bouton ile ark. kuru gaz insüflasyonunun nemli gaz insüflasyonuna nazaran plevrada daha büyük ultrastrüktürel değişimlere yol açtığını göstermişlerdir (111). Özellikle de mikrovilluslardaki ultrastrüktürel harabiyet standart kuru gaz insüfle edildiğinde görülmüştür.

CO₂ pnömooperitonyumunun peritoneal ortamı değiştirdiği ve lokalize metabolik değişimlerle sonuçlandığı bilinmektedir (112). Bir CO₂ pnömooperitonyumu ile ilişkili metabolik değişimler, peritoneal yüzey boyunca CO₂ absorpsiyonuna sekonder hiperkapni ve metabolik asidoz gelişimini içerir (113,114). CO₂, ayrıca vücutta normal metabolik proses ile de sürekli olarak üretilir. İşlemden kullanılan CO₂ miktarı ile CO₂'in arteryel kısmi basıncındaki artış arasında doğrudan bir korelasyon mevcuttur (115). CO₂ insüflasyonu ile yalnızca peritoneal yüzeyde değil aynı zamanda altta uzanan konnektif dokuda da şiddetli asidoz gelişir. Ayrıca elektriksel yüzey yüklenmesinde bozukluk ve endotoksin gibi çeşitli mediatörlerin salınımı da artar (112).

West ile arkadaşlarının yürüttüğü in vitro çalışmalar helyum ya da havaya göre CO₂ kullanımının, belirgin sitozolik makrofaj asidifikasyonu ile ilişkili olduğunu ve doku pH'ını düşürdüğünü göstermiştir (116). Aynı zamanda intraperitoneal pH'da da bir düşme olduğu klinik deneylerde ve in vivo rat çalışmalarında gösterilmiştir (117).

Periton genellikle bir miktar lenfosit ve deskuamöz mezotel hücrelerine ek olarak çoğunlukla makrofaj olacak şekilde 300 hücre/mm³'ten daha az hücre içerir. Bununla birlikte peritoneal kavitenin polimorfonükleer lökosit ve makrofaj oluşturma

yeteneği çok büyüktür (118). Abdominal cerrahi, gros inflamasyon olmadan da hızlı bir polimorfonükleer hücre istilasına yol açar. Hemen akabinde de bunları makrofajlar takip eder. Peritoneal mast hücre degranülasyonu, vasküler permeabiliteyi arttıran vazoaaktif substans ve makrofajlar için kemotaktik olan kompleman ve opsin salınımına yol açar. Ayrıca polimorfonükleer lökositler tarafından salınan sitokinler makrofajların fagositik fonksiyonları arttırmaları (118). Redmond ve ark. cerrahinin immünsüpresif etkilerini onaylar şekilde, hem lokal hem de sistemik makrofaj fonksiyonlarında laparatomiden sonra geçici ancak önemli bir bozukluk olduğunu bildirmişlerdir (119). Deneysel bulgular CO₂'in insüfle edici bir ajan olarak kullanımıyla, peritoneal makrofaj fonksiyonlarındaki bozukluk arasında birliktelik olduğunu göstermektedir (117,120). Laparoskopî sonrası peritoneal makrofaj fonksiyonunun bozulmasıyla ilişkili olabilecek diğer bir faktör de intraperitoneal hipotermi mekanik etkisidir. Postoperatif immün süpresyonun ve tümör implantasyonunun hipotermi ile arttığı ileri sürülebilir (110).

2.5.5. Pnömooperitonyumun Yol Açtığı Oksidatif Stresi Azaltma Amaçlı Önlemler

Rutin laparoskopî sağlıklı insanlarda iyi tolere edilir, fakat önemli komorbiditeli hastalarda pnömooperitonyumun neden olduğu oksidatif stresin klinik önemi daha ileri araştırma gerektirir. Hemodinamik riski azaltmak için, en düşük insüflasyon basıncını kullanmak, aralıklarla gaz vermek, başın yukarıda olduğu pozisyondan kaçınmak, aralıklı pnömatik kompresyon cihazı kullanmak ve abdominal kaldırma aletlerinin kullanıldığı gazsız cerrahi teknik gibi birçok yöntem denenmiştir.

a- İskemik düzenleme

İskemik düzenleme iskemi-reperfüzyon hasarının zararlı etkilerini önlemek için kullanılan bir kavramdır. Temel hasardan önce uygulanan kısa iskemi-reperfüzyon döngülerinden meydana gelir. Bu döngüler artmış hücre reoksijenasyon hasarına karşı artmış direnç ile devam edebilir (116). Bu teori ratlarda pnömooperitonyum oluşumu üzerine çeşitli kısa süreli insüflasyon ve desüflasyon protokolleri kullanmak suretiyle test edilmiştir. Sonuçlar, çeşitli plazma ve doku markırlarının kullanımıyla ölçülmüş olup oksidatif streste tutarlı bir düşüş olduğunu gösterir. Peritoneal ve plazma sitokin seviyelerinde düşüş ve ince barsak, karaciğer ve böbreğin histolojik hasar skorlarında bir iyileşme görülmüştür (117,118).

Yazarlar oksidatif stresi ve laparoskopiyle ilişkili inflamatuvar sitokin yanıtı azaltmada iskemik prekondüsyonun düşük basınçlı pnömoperitonyumdan daha etkili olacağı sonucuna varmışlardır. Hayvanlardaki bu başarıya rağmen, pnömoperitonyumun iskemik düzenlemesine yönelik yürütülmüş hiçbir insan çalışması yoktur ve düzenleme klinik pratikte belli bir yer edinmemiştir.

b- Farmakolojik ajanlar

Oksidatif stresle mücadelede çeşitli farmakolojik ajanlar denenmiştir ve bazı antioksidan ve vazodilatörlerin hayvan modellerinde başarılı olduğu gösterilmiştir (121,122,123). Dopaminin ve Endotelin-1 antagonistlerinin verilmesi CO₂ ve helyum insuflasyonuna maruz kalan ratlarda portal dolaşımı yüksek oranda iyileştirmiş fakat oksidatif stres markırları ölçülmemiştir (123). Kalsiyum kanal antagonisti verapamil ile yapılan çalışmada retroperitonoskopili bir tavşan modelinde oksidan seviyelerinin önemli derecede düştüğü ve antioksidan seviyelerinin arttığı görülmüştür (124). Bu sonuç, kalsiyum kanal antagonistleri ve serbest radikaller arasında spesifik bir ilişki görülmemesine rağmen, kan akımını etkileyerek renal ve hepatik iskemi-reperfüzyon hasarında azalma olduğunu gösteren önceki verapamil çalışmalarına dayandırılmıştır (125,126).

Eritropoetin temel olarak böbrekte salgılanan hipoksiyle indüklenebilir bir büyüme hormonudur. Apoptoza ve oksidanlara karşı multipl koruma etkileri bulunur. Bir rat modelinde laparoskopiden önce 1000 ünite/kg dozunda eritropoetin verilmesi kontrol grubundakilerle karşılaştırıldığında plazma MDA seviyelerini anlamlı olarak düşürmüştür (127). Benzer bir şekilde, bir hayvan modelinde, insuflasyondan 5 dk önce ve desuflasyondan hemen önce melatonin verilmesi (10 mg/kg) karaciğer, ince barsak ve böbrek temel MDA seviyelerini anlamlı olarak düşürmüş ve incebarsak histolojik parametrelerini iyileştirmiştir (128).

Antioksidan etkili ilaçların verilmesi ya da farmakolojik konsantrasyonlarda doğal olarak bulunan antioksidanların takviye edilmesi suretiyle oksidatif stresin modifikasyonunun, çeşitli hasta popülasyonlarında morbiditeyi ve mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir (129,130). Bu bağlamda antioksidan olarak melatonine karşı artan bir ilgi bulunmaktadır (129,131).

Tokoferol, glutatyon ve superoksit dismutaz (SOD) gibi diğer endojen antioksidanlar ve ksantin oksidaz inhibitörleri gibi çeşitli sentetik antioksidan ilaçlar hem laparoskopik cerrahide hem de açık cerrahide doku hasarının en aza indirilmesi için olası alternatifler olarak görünmektedir (96). Bunların genel kullanıma kabul edilebilmesinden önce klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

3. MATERYAL ve METOD

Bu deneysel çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı (HÜDAL), Biyofizik Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin desteği ile ve Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneysel Yerel Etik Kurulu (SDÜ-HADYEK) onayı alınarak yapıldı (Etik Kurul Karar Tarihi: 04.09.2009, Karar No: 03).

3.1. Deneysel Model

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Üretim ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı (HÜDAL)'nda yetiştirilen, "National Institutes of Health Publication Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (NIHPGC)'a uygun olarak 12 saatlik aydınlık-karanlık siklusunda, yeteri kadar (ad libitum) standart rat yemi ve su ile beslenen 32 adet, ağırlığı 180-200 gram arasında değişen, Sprague-Dawley cinsi erişkin dişi rat kullanıldı. Ratlar normal oda sıcaklığı (22 ± 1 °C) ve neminde tutuldu. Deneye başlamadan önce toplam 32 rat, 4 gruba rastgele örnekleme yöntemi ile dağıtıldı. Operasyon, tüm hayvanlarda aynı cerrah ve yardımcısı tarafından gerçekleştirildi.

3.2. İlaç Uygulaması

Melatonin (Sigma Chemical Company., St. Louis, MO, USA), DMSO içinde (20 mg/ml) çözülerek solüsyon şeklinde hazırlandı. CO₂ insuflasyonundan 10 dk önce ve desuflasyondan hemen önce 20 mg/kg melatonin i.m. olarak enjekte edildi.

3.3. Cerrahi İşlem

Deneye başlamadan önce 32 rat dört gruba bölündü ve tartılarak ağırlıkları belirlendi. Ameliyat öncesi ratlar 12 saat aç bırakıldı. Anestezik ajan olarak Ketamin Hidroklorid 90 mg/kg (Ketalar, Parke-Davis) + Xylazine 10 mg/kg (Rompun, Bayer) kombinasyonu i.m. olarak enjekte edildi.

3.3.1. Pnömooperitonyum Oluşturulması

Anestezi sağlandıktan sonra 21 gauge'luk spinal iğne ile umblikustan periton boşluğuna girildi. Histeroflator (Karl-Storz) ile CO₂ insuflasyonuna başlandı ve pnömoperitonyum oluşturuldu. İntraabdominal basınç 15 mm Hg olacak şekilde 60 dk. boyunca insuflasyona devam edildi. Ardından desuflasyon işlemi yapılan ratlar 30 dk boyunca sol yana yatırılarak dinlendirildi.



A



B

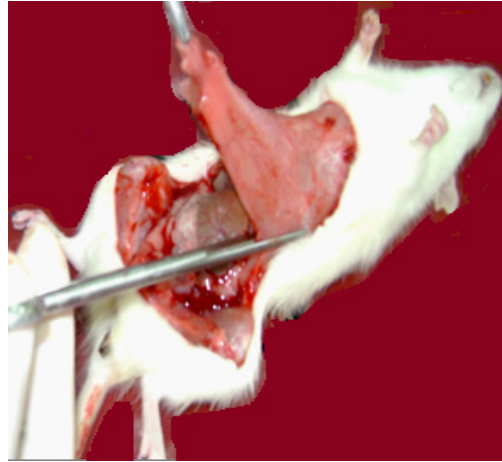
Resim 1 (A ve B): Pnömooperitonyumun oluşturulması

3.3.2. Doku Örneklerinin Alınması

Desuflasyondan 30 dk. sonra periton batin ön duvarından disseke edilerek eksize edildi. Ardından her iki over çıkarıldı.



C



D



E



F

Resim 2 (C,D,E,F): Periton ve overlerin eksizyonu

Grup I. Kontrol grubu (n=8): 21 gauge'lık spinal iğne ile periton boşluğuna girildi.

Grup II. Pnömooperitonyum grubu (Pp; n=8): 15 mmHg intraabdominal basınç sağlayacak şekilde 60 dk. boyunca CO₂ insuflasyonu yapılarak pnömooperitonyum uygulandı.

Grup III. Pnömooperitonyum + Melatonin grubu (Pp+MEL; n=8): 15 mmHg intraabdominal basınç sağlayacak şekilde 60 dk. boyunca CO₂ insuflasyonu yapılarak pnömooperitonyum uygulandı. CO₂ insuflasyonundan 10 dk. önce ve desuflasyondan hemen önce olmak üzere toplam 2 doz 20 mg/kg'dan intramusküler melatonin verildi.

Grup IV. Melatonin grubu (MEL; n=8): 70 dk. arayla toplam 2 doz 20 mg/kg'dan intramusküler melatonin verildi.

Grup I'deki ratların doku örnekleri 90 dk. sonra alındı. Grup IV'teki ratların doku örnekleri ikinci doz melatonin enjeksiyonundan 30 dk. sonra eksize edildi. Grup II ve Grup III'teki ratlar abdominal desuflasyondan sonraki 30 dk. boyunca sol yanına yatırılarak dinlendirildi. Dinlenme periyodundan sonra periton ve overler eksize edildi. Çıkarılan periton dokusu iki eşit parçaya bölündü. İki overden biri ve peritonun bir parçası çalışılmak üzere Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarında analize kadar -80°C'de saklandı. Diğer over ve peritonun diğer yarısı histolojik inceleme için %10'luk formaldehid solüsyonunda tespit edildi.

3.4. ROS Çalışmaları

Periton ve over örnekleri alındı. Bu periton ve over örnekleri tartıldıktan sonra fosfat tamponu (50 mM, pH 7.4) ile sulandırıldılar. Daha sonra cam-cam parçalayıcı (Çalışkan Cam Teknik, Ankara) ile parçalanarak doku homojenatları hazırlandı. Bu doku homojenatları lipid peroksidasyon (MDA), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) analizlerin yapılması için 1 ay süre ile -26 °C de donduruldular.

a- Doku örneklerinde lipid peroksidasyon tayinleri

Periton ve over homojenatlarında lipid peroksidasyon düzeylerinin belirlenmesi Placer ve ark. (1966) bildirdikleri yöntemle göre thiobarbituric-asit (TBARS) reaksiyonu ile son derece hassas en gelişmiş spektrofotometrede (Schimadzu, UV-1800, Japonya) yapılmıştır. Bu metod şu esaslara dayanmaktadır;

0.25 ml doku homejanatı 1/9 (2.25 ml) oranında TBARS solüsyonu ile sulandırıldı. Kör olarak ise 0.25 ml fosfat tamponu ile 1/9 oranında TBARS karışımı kullanıldı. Örnekler ve kör 100 °C 20 dakika kaynar suda su banyosunda tutuldular. Daha sonra çeşme suyu altında soğutuldu. 2500 g de 5 dakika santrifüj edildiler. Üstteki pembe renkli sıvı otomatik pipetle hassas bir şekilde alınarak 1 cm ışık geçişine sahip 532 nm dalga boyundaki spektrofotometrede köre karşı okundular. Standart olarak ise yine aynı oranlarda hazırlanmış 1,1,3,3 tetraethoxy propane solüsyonu kullanıldı. Değerler µmol/gram protein olarak belirlendi. TBARS metodu hassas bir metod olmamasına rağmen lipid peroksidasyon ve reaktif oksijen türlerinin düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan yaygın ve güvenilir bir methodur.

b- Doku indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeylerinin belirlenmesi

GSH düzeyleri Sedlak ve Lindsay (1968)'in bildirdikleri yöntemle göre spektrofotometre cihazı ile belirlenmiştir. GSH tayini için gerekli solüsyonlar;

- %10 triklorikasetik asit (TCA) solüsyonu

- Tris tamponu (0.4 M pH:8.9): 48.46 gram tris-hydroxymethyl-aminomethan'ın hidroklorik asit (HCl) ile pH 8.9 olacak şekilde 1 litrede çözülmesi ile hazırlanır.

- DTNB solüsyonu: 5,5-dithiobis-2 nitrobenzoik asit'in 25 etanolde çözülmesi ile elde edilir.

Deneyin yapılışı: 0.1 ml doku homejanatı 0.4 ml TCA solüsyonu ile karıştırılır. 20 saniye karıştırıcıda vortekslenir ve 3000 rpm de 5 dakika santrifüj edilir. 0.1 ml süpernatant temiz bir tüpe alınır. Üzerine 0.9 ml distile su, 2.0 ml Tris tamponu ve 0.1 ml DTNB solüsyonu eklenir. Oluşan sarı renk distile suya karşı 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunur.

c- Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitelerinin belirlenmesi

GSH-Px enzim aktiviteleri Lawrence ve Burk (1976)'un bildirdikleri yöntemle göre spektrofotometrede belirlendi.

d- Deneyin yapılışı

Tablo 3. Deneyin yapılışı ve kullanılan kimyasallar

KİMYASALLAR	KONTROL	ÖRNEK
Doku homejanatı	0.5 ml	0.5 ml
Tris HCl tamponu	0.3 ml	0.3 ml
CHPO	-	0.1 ml
GSH (her tüpe 5'er sn aralıklarla konuldu)	0.1 ml	0.1 ml
Oda ısısında tam 10 dakika beklendi		
TCA (her tüpe 5'er sn aralıklarla konuldu)	1.0 ml	1.0 ml
2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi		
Üstteki süpernatant temiz bir tüpe alındı		
Üzerine Tris Tampon	2.0 ml	2.0 ml
DTNB eklendi	0.1 ml	0.1 ml

Oda ısısında 5 saniye beklendi. Distile su örneği kör kabul edilerek 412 nm'de spektrofotometrede aynı örneğin yukarıdaki tabloda bahsi geçen hem kontrol ve hem de örnek okundu.

e- Kullanılan kimyasallar

- 1- Tris HCl tamponu (50 mM) pH:7.6
- 2- GSH solusyonu
- 3- CHPO (cumene-hydroperoxide) solüsyonu
- 4- %10 TCA solüsyonu
- 5- Tris tampon 0.4 M pH: 8.9
- 6- DTNB solüsyonu

f- Kullanılan malzemeler ve aletler

- 1- Soğutmalı santrifüj : Eppendorf MR5415 (Almanya)
- 2- Santrifüj : Jouan B4İ (Fransa)
- 3- Derin dondurucu : Uğur (Türkiye)
- 4- Hassas terazi : Scaltec SPB 33 (İsviçre)
- 5- Vorteks : Nüve NM 100 (Türkiye)
- 6- Otomatik pipetler : Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
- 7- Spektrofotometre : Shimadzu UV 1601 (Japonya)
- 8- pH metre : Hanna Instruments (Portekiz)
- 9- Manyetik karıştırıcı : Nüve (Türkiye)

3.5. Histopatolojik İnceleme ve Skorlama

%10'luk formaldehid içinde saklanan dokulara parafin emdirildikten sonra spesmenlerden 5 µm kalınlığında kesitler, poli-L-lizinle kaplı lamlara alınarak hematoksilin-eozinle boyandı (H&E). Alınan kesitler ışık mikroskobunda incelenerek histopatolojik skorlama yapıldı.

Tablo 4. Histopatolojik inflamasyon hasarı skorlaması (132).

SKOR	HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER
Periton	
Mezotelyal tabaka	
0	Normal
1	Epitelyal hücre sayısında artış ve kısmi ayrılmalar
2	Epitelyal hücrelerde orta derecede proliferasyon ve epitel bütünlüğün bozulması
3	Epitelyal hücrelerde yoğun proliferasyon, ayrılma ve hücrelerde nekrozis
Submezotelyal tabaka	
0	Normal
1	Fibroblast hücrelerinde az sayıda artış, az derecede kollajen birikimi, tabakada kalınlaşma
2	Fibroblast hücrelerinde orta derecede proliferasyon, orta derecede kollajen birikimi, tabakada belirgin kalınlaşma, birkaç nötrofil infiltrasyonu
3	Fibroblast hücrelerinde şiddetli proliferasyon, yoğun kollajen birikimi, tabakada oldukça kalınlaşma, yoğun nötrofil infiltrasyonu
Kas	
0	Normal
1	Fibroblast hücrelerinde az sayıda artış
2	Fibroblast hücrelerinde belirgin artış, kas arası bağ dokuda kollajen artışı, az sayıda nötrofil
3	Fibroblast hücrelerinde şiddetli proliferasyon, kas arası bağ dokuda yoğun kollajen artışı, çok sayıda nötrofil infiltrasyonu
Over epiteli	
0	Normal
1	Epitel hücrelerinde hafif artış, tunika albugineada hafif kalınlaşma, fibroblast hücrelerinde az sayıda artış
2	Epitel hücrelerinde orta derecede artış, tunika albugineada kalınlaşma, fibroblast hücrelerinde artış, kan damarlarında hafif dilatasyon
3	Epitel hücrelerinde kuvvetli artış, tunika albugineada belirgin kalınlaşma ve kollajen birikimi, fibroblast hücrelerinde kuvvetli artış, kan damarlarında belirgin dilatasyon

3.6. İstatistiksel Analiz

Bütün veriler ortalama \pm standart sapma [mean \pm standard deviation (SD)] olarak verildi. Ratlardan elde edilen biyolojik materyalde çalışılan parametrelerin aritmetik ortalama değerleri arasındaki farklılıklar, SPSS (Windows 9.05 ve 16 paket) bilgisayar programı kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Genel olarak gruplar arası fark olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Tüm istatistiki karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Periton Dokusundaki ROS Düzeyleri

Çalışma gruplarının periton dokusundaki MDA, GSH-Px ve GSH ölçümleri Tablo 5’de gösterildi.

Tablo 5. Peritondaki ortalama MDA, GSH-Px ve GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı. (Ortalama \pm SD)

Parametreler	Kontrol (n=8)	Pp (n=8)	Pp+MEL (n=8)	MEL (n=8)
MDA (μ mol/gr protein)	3.17 \pm 0.15	4.19 \pm 1.05 ^a	3.05 \pm 0.97 ^d	3.29 \pm 0.57 ^d
GSH (μ mol/gr protein)	38.26 \pm 4.96	33.83 \pm 2.64 ^a	38.21 \pm 4.66 ^d	37.43 \pm 4.56 ^d
GSH-Px (IU/gr protein)	75.56 \pm 3.68	61.87 \pm 6.28 ^b	85.78 \pm 9.62 ^{a,e}	87.56 \pm 4.92 ^{b,f}

^ap<0.05, ^bp<0.01 ve ^cp<0.001 ve kontrole kıyasla.

^dp<0.05, ^ep<0.01 ve ^fp<0.01 ve Pp grubuna kıyasla.

^gp<0.05 ve Pp+MEL grubuna kıyasla.

Tablo incelendiğinde periton MDA düzeylerinin Pp grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli oranda (p<0.05) yüksek olduğu gözlemlenirken, GSH (p<0.05) ve GSH-Px (p<0.01) düzeylerinin önemli düzeyde azaldığı görülmektedir. Bu nedenle, Pp grubunda lipid peroksidasyon düzeyinin arttığı, buna karşın antioksidan düzeylerinin de azaldığı gözlemlendi. Bununla birlikte, Pp grubuna 70 dakika aralıklarla iki doz melatonin uygulanması antioksidan sistemi kuvvetlendirirken, lipid peroksidasyon düzeylerinin azalmasına neden oldu. Diğer bir ifade ile, Pp grubuna kıyasla Pp+MEL grubunda MDA düzeylerinde önemli düzeyde (p<0.05) azalma izlenirken, GSH (p<0.05) ve GSH-Px (p<0.01) düzeylerinde önemli düzeyde artış gözlemlendi.

4.2. Over Dokusundaki ROS Ölçümleri

Çalışma gruplarının over dokusundaki MDA, GSH-Px ve GSH ölçümleri Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. Overdeki ortalama MDA, GSH-Px ve GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı.(Ortalama \pm SD)

Parametreler	Kontrol (n=8)	Pp (n=8)	Pp+MEL (n=8)	MEL (n=8)
MDA ($\mu\text{mol/gr protein}$)	1.35 \pm 0.27	1.70 \pm 0.28 ^a	1.42 \pm 0.41 ^d	1.40 \pm 0.27 ^d
GSH ($\mu\text{mol/gr protein}$)	36.74 \pm 5.39	29.73 \pm 4.73 ^a	34.95 \pm 2.51 ^d	38.24 \pm 2.52 ^{e,g}
GSH-Px (IU/gr protein)	107.90 \pm 7.66	88.13 \pm 7.98 ^a	93.55 \pm 6.75 ^d	100.50 \pm 2.78 ^d

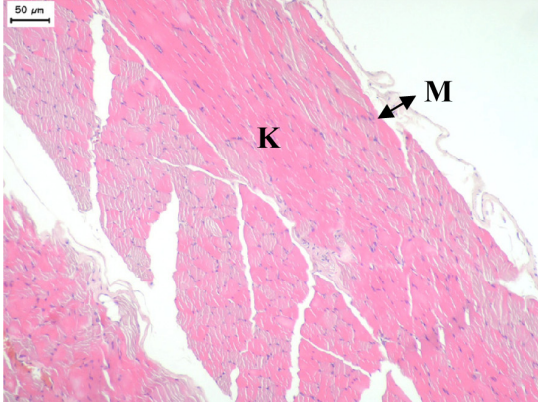
^ap<0.05, ^bp<0.01 ve ^cp<0.001 ve kontrole kıyasla.

^dp<0.05, ^ep<0.01 ve ^fp<0.01 ve Pp grubuna kıyasla.

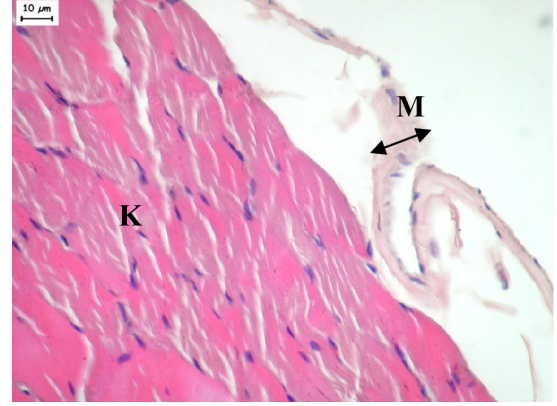
^gp<0.05 ve Pp+MEL grubuna kıyasla.

Tablo incelendiğinde overin MDA düzeylerinin Pp grubunda kontrol grubuna kıyasla önemli oranda (p<0.05) yüksek olduğu, buna karşın GSH (p<0.05) ve GSH-Px (p<0.05) düzeylerinin önemli düzeyde azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlarla, Pp grubunda over lipid peroksidasyon düzeyinin arttığı, antioksidan düzeylerinin ise azaldığı görüldü. Pp grubuna kıyasla Pp+MEL grubunda MDA düzeylerinde önemli düzeyde (p<0.05) azalma izlenirken, GSH (p<0.05) ve GSH-Px (p<0.01) düzeylerinde önemli düzeyde artış saptandı. Diğer bir ifade ile, Pp grubuna 70 dakika aralıklarla iki doz melatonin uygulanması antioksidan sistemi kuvvetlendirirken, lipid peroksidasyon düzeylerinin azalmasına neden oldu.

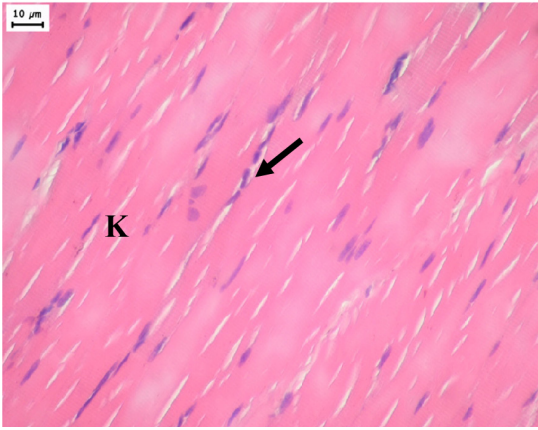
4.3. Periton Dokusundaki Histopatolojik Bulgular



Resim 3a



Resim 3b

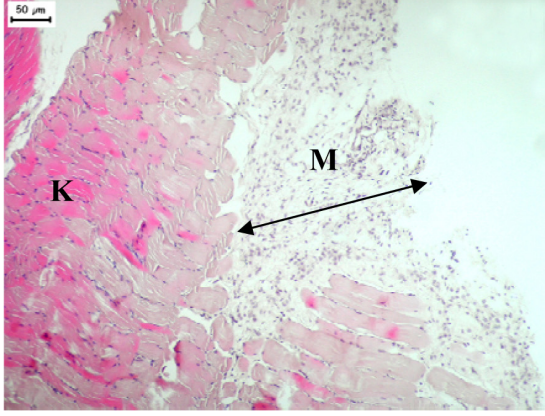


Resim 3c

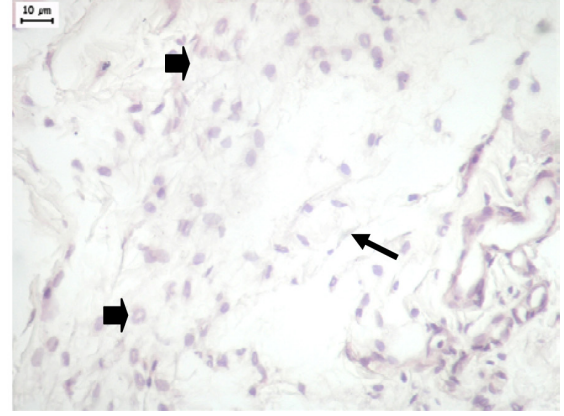
Resim 3 (a,b,c): Kontrol grubu periton.

(X100 (a), mezotelyal ve submezotelyal tabaka X400 (b), kas tabakası X400 (c) Orijinal büyütme (OB), M: Mezotelyal tabaka, K: Düz kas katmanı, ↔: Submezotelyal tabaka, →: Fibroblast hücreleri). Hematoksilen & Eozin (H&E).

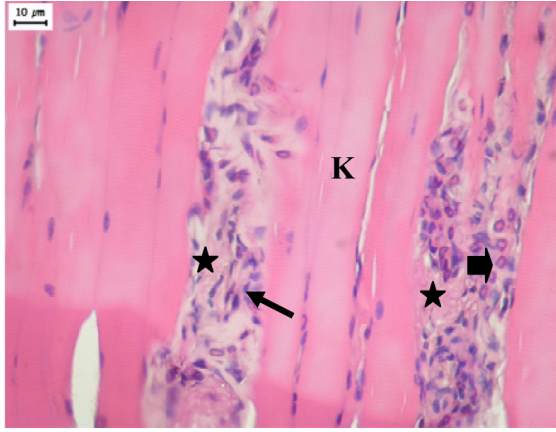
Kontrol grubu periton kesitlerinde mezotelyal tabakada tek sıralı yassı hücreler normal yapılarında izlendi. Mezotelyal tabakanın altında ince olarak uzanan submezotelyal tabakada bağ dokusu hücreleri ve bağ dokusu lifleri ayırt edildi. Kas tabakasında liflerin arasında ince bağ dokusunda birkaç fibroblast gözlemlendi.



Resim 4a



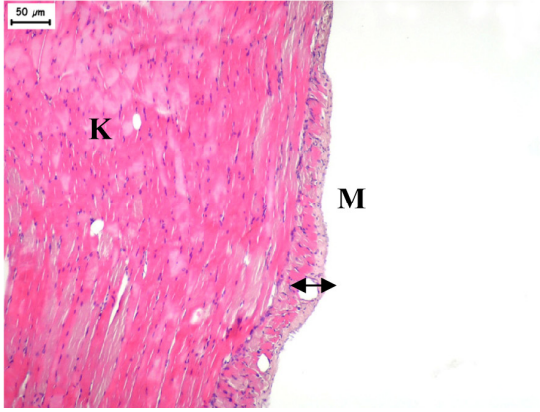
Resim 4b



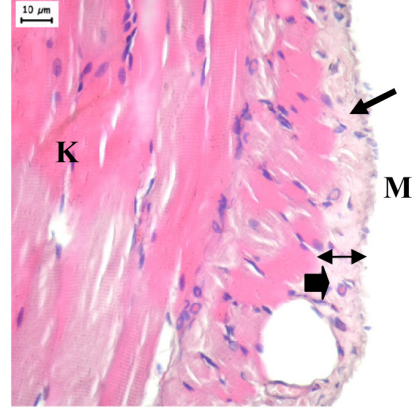
Resim 4c

Resim 4 (a,b,c): Pp grubu periton.
 (X100 (a), submezotelyal tabaka X400 (b), kas tabakası X400 (c), OB, M: Mezotelyal tabaka, K: Düz kas katmanı, ↔: Submezotelyal tabaka, →: Fibroblast hücreleri, ➡: nötrofil, ★: bağ dokusu. H&E)

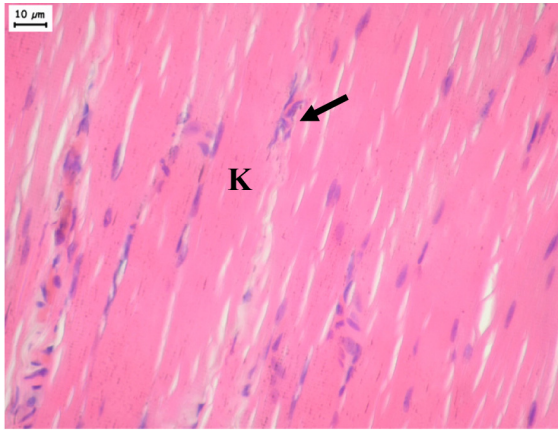
Pp grubu periton kesitlerinde mezotelyal tabakadaki hücrelerde oldukça yoğun proliferasyon dikkati çekti. Hücrelerde yer yer ayrılmalar ve nekrozis ayırt edildi. Submezotelyal tabakada en belirgin özellik oldukça kalın bir katman oluştuğuydu. Fibroblast hücrelerinde şiddetli proliferasyon ve yoğun kollajen birikimi oldukça dikkat çekiciydi. Ayrıca yoğun nötrofil infiltrasyonu izlendi. Kas tabakasında kas hücrelerinin arasındaki bağ dokuda kalınlaşma fibroblast artışı ve nötrofil infiltrasyonu tespit edildi.



Resim 5a



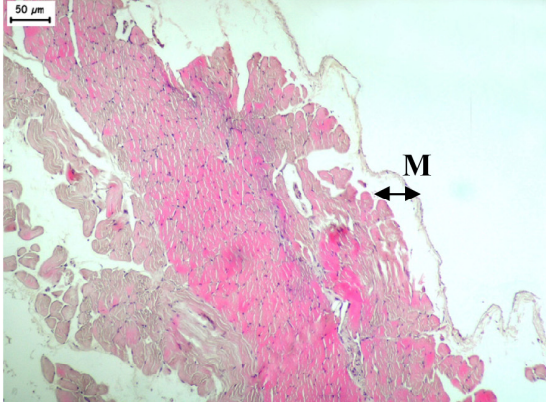
Resim 5b



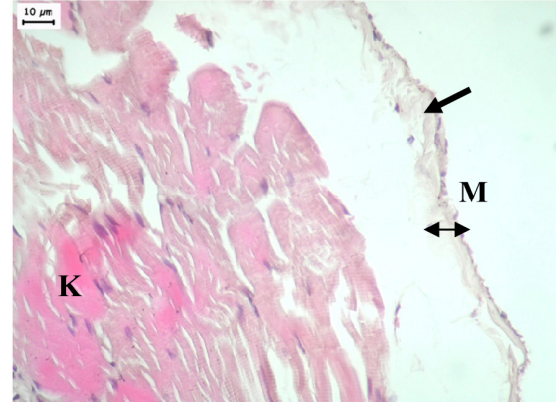
Resim 5c

Resim 5 (a,b,c): Pp+MEL grubu periton. (X100 (a), mezotelyal ve submezotelyal tabaka X400 (b), kas tabakası X400 (c), OB, M: Mezotelyal tabaka, K: Düz kas katmanı, ↔: Submezotelyal tabaka, →: Fibroblast hücreleri, ►: nötrofil, ★: bağ dokusu. H&E)

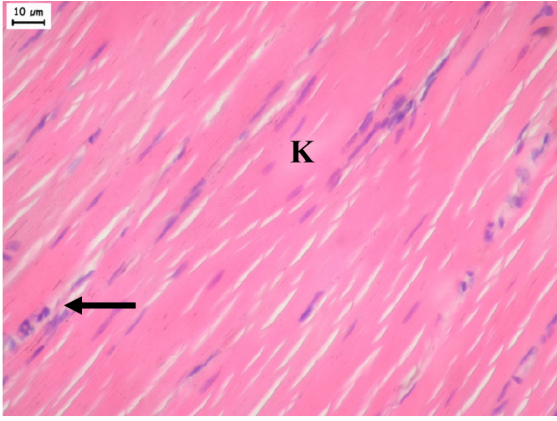
Pp+MEL grubu periton kesitlerinde mezotelyal tabakadaki hücrelerde proliferasyon az olarak izlendi. Hücrelerin kontrol grubuna benzer şekilde bütünlüğünü koruduğu gözlemlendi. Submezotelyal tabakanın kalınlığının Pp grubuna göre oldukça incelendiği belirlendi. Fibroblast hücrelerinde proliferasyon zayıf derecede idi ve kollajen birikiminin oldukça azaldığı dikkati çekti. Kas tabakasında kas hücrelerinin arasındaki bağ doku miktarı kontrole yakındı. Birkaç fibroblast gözlenirken nötrofil infiltrasyonu izlenmedi.



Resim 6a



Resim 6b

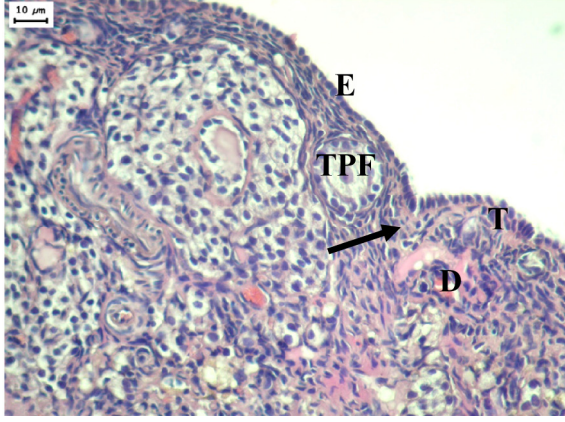


Resim 6c

Resim 6 (a,b,c): MEL grubu periton. (X100 (a), mezotelyal ve submezotelyal tabaka X400 (b), kas tabakası X400 (c), OB, M: Mezotelyal tabaka, K: Düz kas katmanı, ↔: Submezotelyal tabaka, →: Fibroblast hücreleri. H&E)

MEL grubu periton kesitleri Kontrol grubu ile tamamen benzer sonuçlar sergiledi. Periton kesitlerinde mezotelyal tabakada tek sıralı yassı hücreler normal yapıdaydı. Mezotelyal tabakanın altında submezotelyal tabakada bağ dokusu hücreleri ve bağ dokusu lifleri kontrol grubu ile benzer miktardaydı. Kas liflerinin arasındaki ince bağ dokusunda birkaç fibroblast gözlemlendi.

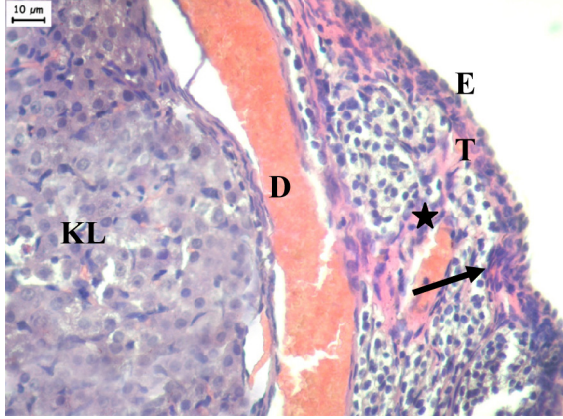
4.4. Over Dokusundaki Histopatolojik Bulgular



Resim 7: Kontrol grubu over epiteli.
(E: epitel, T: Tunika albuginea, →: Fibroblast hücreleri, D: Kan damarı, ★: Bağ dokusu, TPF: Tek katlı primer follikül. H&E, X400, OB.)

Resim 7

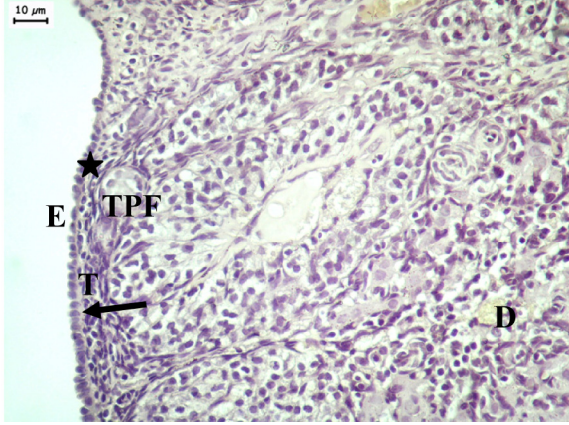
Over epitel kesitlerinde tek sıralı kübik epitel hücrelerinin normal yapı sergilediği belirlendi. Epitelin altında bağ dokusu tabakası tunika albuginea ince bir katman olarak uzanıyordu, bağ dokusu lifleri ve fibroblastlar ayırt ediliyordu.



Resim 8: Pp grubu over epiteli.
(E: epitel, T: Tunika albuginea, →: Fibroblast hücreleri, D: Kan damarı, ★: Bağ dokusu, KL: Korpus luteum. H&E, X400, OB.)

Resim 8

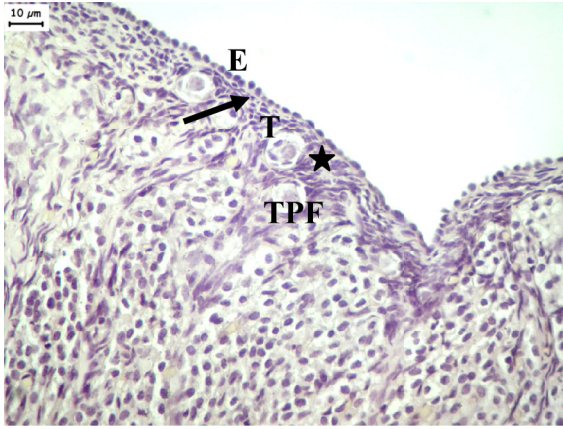
Pp grubundaki over epitel kesitlerinde kübik epitel hücrelerinde belirgin proliferasyon, epitel altı bağ dokuda kalınlaşma ve fibroblast hücrelerinde proliferasyon izlendi. Ayrıca kan damarlarında belirgin dilatasyon belirlendi.



Resim 9: Pp+MEL grubu over epiteli.
(E: epitel, T: Tunika albuginea, →: Fibroblast hücreleri, D: kan damarı, ★: bağ dokusu, TPF: Tek katlı primer follikül. H&E, X400, OB.)

Resim 9

Pp+MEL grubunda ise over epitel kesitlerinde, kübik epitel hücrelerinin kontrole benzer şekilde normal yapılarını korudukları gözlemlendi. Epitel altı bağ dokusu ince bir tabaka halinde ve fibroblast hücreleri normal yapıda izlendi. Kan damarlarında dilatasyon belirlenmedi.



Resim 10: MEL grubu over epiteli.
(E: epitel, T: Tunika albuginea, →: Fibroblast hücreleri, ★: Bağ dokusu, TPF: Tek katlı primer follikül. H&E, X400, OB.)

Resim 10

Yalnız melatonin verilen ratların over epitel kesitlerinde tek sıralı kübik epitel hücreleri normal yapıdaydı. Epitelin altında bağ dokusu tabakası ince bir katman olarak uzanıyordu. Bağ dokusu lifleri ve fibroblastlar normal yapıda izlendi.

4.5. Histopatolojik İnflamasyon Skorları Düzeyleri

Çalışma gruplarındaki ortalama inflamasyon skorları Tablo 7’de gösterildi.

Tablo 7. Histopatolojik inflamasyon skorlarının gruplara göre dağılımı.
(Ortalama \pm SD)

Tabakalar	Kontrol (n=8)	Pp (n=8)	Pp+MEL (n=8)	MEL (n=8)
Mezotelyal tabaka	0.12 \pm 0.35	2.75 \pm 0.46 ^a	1.37 \pm 0.52 ^c	0.50 \pm 0.53 ^d
Submezotelyal tabaka	0.25 \pm 0.46	2.75 \pm 0.46 ^a	1.62 \pm 0.52 ^b	0.50 \pm 0.53 ^e
Kas	0.12 \pm 0.35	2.75 \pm 0.46 ^a	1.50 \pm 0.53 ^b	0.62 \pm 0.52 ^d
Over	0.12 \pm 0.35	2.75 \pm 0.46 ^a	1.62 \pm 0.52 ^b	0.50 \pm 0.53 ^e

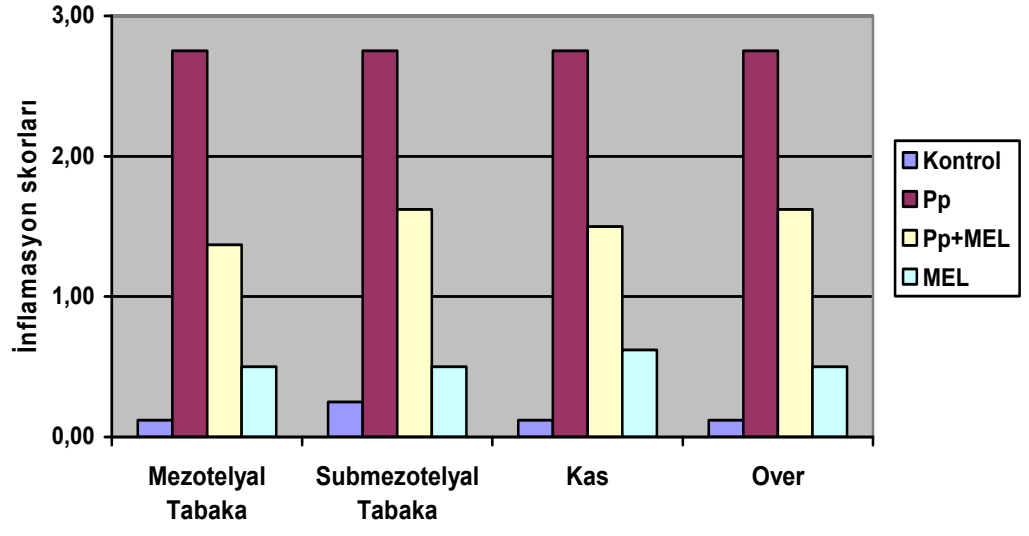
^ap<0.001 ve kontrole kıyasla.

^bp<0.01 ve ^cp<0.01 ve Pp grubuna kıyasla.

^dp<0.05 ve ^ep<0.01 ve Pp+MEL grubuna kıyasla.

Histolojik skorlamanın özetlendiği tablo incelendiğinde mezotelyal, submezotelyal, kas ve over doku örneklerinde, kontrole kıyasla Pp gruplarında inflamasyon oranlarının çok önemli düzeyde (p<0.001) arttığı gözlemlendi. Pp+MEL grubunda Pp grubuna kıyasla inflamasyon düzeylerinin, mezotelyal (p<0.001), submezotelyal (p<0.01), kas (p<0.01) ve over doku (p<0.01) örneklerinde önemli düzeyde azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlarımızın antioksidan sistem sonuçları ile uyum içerisinde olduğu görüldü.

Gruplar arası inflamasyon skorları değişimleri Şekil 5’te gösterildi.



Şekil 5. Gruplar arası inflamasyon skorları grafiği

5. TARTIŞMA

Laparoskopik cerrahi teknikler son yıllarda cerrahlar ve halk tarafından benimsenen ve kabul gören cerrahi yöntemler haline gelmiştir. Kozmetik sonuçlarının iyi olması, postoperatif daha az ağrıya neden olması ve işe daha erken dönme imkânı sağlaması nedeniyle insanlar tarafından daha çok ilgiyle takip edilmeye başlanmıştır. Ancak her yeni cerrahi teknikle birlikte yıllar içerisinde bu tekniklerin avantaj ve dezavantajlarının bilimsel olarak değerlendirilme gereksinimi vardır.

İnsuflasyon ajanı olarak CO₂ kullanımının takdim edilmesinden bu yana pnömoperitonyumun büyük oranda zararsız olduğu varsayılmıştı. Ancak son çalışmalar CO₂ gazı ile yapılan pnömoperitonyumun çok sayıda olumsuz yapısal, metabolik ve immün dengesizlik ile birliktelik gösterdiğini düşündürmektedir.

Abdominal insuflasyonu takiben gelişen yüksek intraabdominal basınç ve CO₂ gazının kendisinin yol açtığı pH değişimleri ve peritoneal hücresel değişiklikler sayesinde cerrahi stres yanıt başlar. ROS üretiminin kendilerini detoksifiye edecek mekanizmaları aştığı bir durum olarak tanımlanan oksidatif stres yanıt, bu cerrahi stres yanıtın bir komponenti olarak gelişir. İnflamatuar stres yanıtın bir parçası olarak interlökin-1 (IL-1), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-8 (IL-8) dahil artmış bir sitokin üretimi olur. Bu sitokinler inflamatuvar yanıtın ilerlemesini ve güçlenmesini hızlandırırlar ve çeşitli hümmoral sistemlerin yanı sıra makrofajların, trombositlerin ve mast hücrelerin aktivasyonlarında rol oynarlar. Bu da ya oksijen bazlı ya da nitrojen bazlı reaktanlar olan serbest radikallerin oluşumuyla sonuçlanır (133).

Lokal peritoneal ortamdaki değişimlerin sonuçları iyi bilinmemektedir. Örneğin peritoneal travma alanlarındaki tümör implantasyonunu kolaylaştırabilecekleri ve intraperitoneal enfeksiyonları temizleme yeteneği üzerinde olumsuz bir etki görülebileceği ileri sürülmüştür. Deneysel kanıtların çoğu intraperitoneal ortamdaki değişimlerin CO₂ gazına spesifik etkiler olduğunu düşündürür. Peritoneal yüzeydeki CO₂ nedenli asidifikasyon, peritoneal makrofaj fonksiyonunun supresyonunda aracı olabilir (117,120). CO₂ insuflasyonuna bir yanıt olarak görülen periton asidifikasyonu yalnızca peritoneal yüzeyde değil aynı zamanda altta uzanan konnektif dokuda da gerçekleşebilir ve bu da endotoksin gibi çeşitli immün mediatörlerin salınımı ile sonuçlanır (112).

İnsan vücudunda karbonhidratların, protein ve yağların mitokondride değerlendirilmeleri ve fagositoz gibi fizyolojik olaylar ve iskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi patolojik olaylar sırasında reaktif oksijen türleri ismi verilen ürünler meydana gelmektedir. Bunların başlıcaları; superoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit radikali (H_2O_2), hidroksil radikalidir ($\cdot OH$). Bu ürünler özellikle doymamış yağ asitlerinin yapılarını bozmaktadırlar (11). Bu radikallerin zararlı etkilerinin dolaylı yoldan hücre düzeyinde belirlenmesinde kullanılan yöntem malonildialdehid (MDA) esasına bağlı lipid peroksidasyon düzeyi tayinidir. Bunların vücuttaki zararlı etkilerinin önlenmesinde antioksidanlar rol oynamaktadır. Antioksidanları başlıca iki gruba ayırmak mümkündür. Birincisi enzimatik antioksidanlar olup superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz gibi enzimleri içermektedir. Superoksit dismutaz (SOD) enzimi superoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) dismute ederek hidrojen peroksit (H_2O_2) üretmektedir. Görünüşte superoksit dismutaz (SOD) zararlı bir iş yapıyor gibi görünmektedir. Fakat katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri hidrojen peroksiti (H_2O_2) suya (H_2O) parçalamadan önce superoksit dismutaz (SOD), superoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) bu enzimlerin parçalayabileceği şekle dismute etmektedir. İkinci grup antioksidanlar enzimatik olmayan antioksidanlardır. Bu grup içerisine başlıca yağda eriyen A, E vitaminleri ile beta karoten, C vitamini ve ürik asit girmektedir. Örneğin, E vitamini yapısında bulundurduğu hidrojen iyonlarını hidroksil radikallerine ($\cdot OH$) vermekte ve bu sayede hidroksil radikallerini ($\cdot OH$) inhibe etmektedir. E vitamini kendisi radikal haline dönüşmekte ve E vitamininden radikalleri C vitamini ile glutatyon (GSH) temizlemektedir. Bu sayede C vitamini ve GSH, E vitaminin rejenerasyonunu sağlamaktadırlar (121).

Fizyolojik süreçlerde ksantin, su ve nikotin adenin dinükleotid (NAD), ksantin dehidrogenaz enzimi katalizörülüğünde tepkimeye girerek ürik asit, NADH ve hidrojen ürünlerini sonuç vermektedir. İskemi-reperfüzyon olaylarında ise ksantin dehidrogenaz yerine ksantin oksidaz enzim aktivasyonu artmakta ve ortamda serbest radikaller de oluşmaktadır. Ayrıca, artmış inflamasyon, serbest radikallerin üretimini de artırmaktadır. Çünkü inflamasyonda artan fagositik aktivite bakteri ve virusların sindirilmesi için gerekli olan serbest radikallerin üretimini de arttırmaktadır. Pnömooperitonyum durumlarında iskemi-reperfüzyon ve inflamasyon olaylarının arttığı çok iyi bilinmektedir (142).

Biz de bu çalışmamızda CO₂ gazı ile ve yüksek basınçla oluşturulan pnömoperitonyumun periton dokusu ve over dokusu düzeyinde yol açtığı oksidatif stresi ve hücrel değişlikleri araştırdık. Yaptığımız literatür taramasında birçoğu plazma olmak üzere organ düzeyinde de oksidatif stres belirteçlerinin ve histolojik hasar incelemelerinin yapıldığını gördük. Bu organlardan bazılarının mide, karaciğer, akciğer, barsak, böbrek ve periton olduğunu saptadık. CO₂ gazı ile pnömoperitonyumun overlerde ne gibi değişimlere neden olduğunu araştırılmadığı gördük. Pnömoperitonyumun periton ve over dokusunda yol açtığı oksidatif stresi ve histolojik hasarı antioksidan özelliğinden yararlandığımız melatonin ile azaltarak laparoskopik cerrahinin daha güvenilir bir yöntem olmasını sağlamayı amaçladık.

Bu tez çalışması sonuçlarında hem over hem de periton örneklerinde lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerinin önemli düzeyde arttığı gözlemlenirken, antioksidanlardan GSH ve GSH-Px düzeylerinin ise önemli düzeyde azaldığı gözlemlendi. Ayrıca, mezotelyal, submezotelyal, kas ve over doku örneklerinde inflamasyonun arttığını gözlemledik. Bu nedenle, CO₂ uygulanması sırasında over ve periton dokularında oksidatif stresin arttığı söylenebilir. Bununla birlikte melatonin uygulanması ile antioksidan değerler (GSH, GSH-Px) artarken, doku inflamasyon değerlerinin ve MDA düzeylerinin ise azaldığı görüldü.

Oksidatif stres cerrahi stres yanıtın entegre bir parçasıdır, ancak farklı cerrahi yöntemlerde serbest radikal üretimini arttıran yöntem ile ilişkili nedenler de vardır. Majör damar cerrahisindeki iskemi-reperfüzyon fazı bunun bir örneğidir. İskemi-reperfüzyon fazı sırasında bir organa giden kan desteği geçici bir süreliğine kesilir ve bu da etkilenen bölge için gerekli esansiyel besinlerin ve oksijenin tüketimi ile sonuçlanır. Oluşan iskeminin uzaması halinde en nihayetinde doku ölümü gerçekleşir. Akabindeki reperfüzyon fazında iskemik bölge oksijen bakımından zengin kan ile perfüze olarak dokunun antioksidan kapasitesini aşan aşırı serbest radikal üretimi meydana gelir. Serbest radikaller de hücrel hasara ve daha ileri safhası olan hücre ölümüne neden olur. (134,135)

Myokardiyumda serbest radikal üretimi klinik miyokardiyal infarkta, ventriküler aritmilere ve ölüme neden olabilir (134,135). Antioksidanlar veya serbest radikal temizleyicileri aracılığıyla serbest radikal üretiminin azaltılması ya da tamamen ortadan

kaldırılması miyokardiyumdaki reperfüzyon hasarını azaltır ve hayatta kalım oranını iyileştirir (134,136,137). Melatoninin miyokard infarktını ve ventriküler aritmileri etkileyebilme yeteneği birkaç deneysel iskemi-reperfüzyon hayvan modelinde araştırılmıştır. Lee ile ark. akut miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarlı rat modelinde melatoninin iskemik aritmiler ve reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerini araştıran ilk kişilerdir. Bu çalışmada melatoninin kardiyoprotektif etkisinin, melatoninin antioksidatif özelliğiyle ve nötrofil infiltrasyon inhibisyonu ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür (138).

Kardiyoprotektif bir ajan olan melatoninin kalp dışında diğer birçok organda da iskemi-reperfüzyon nedeniyle hücrel ve moleküler hasarı azalttığı gösterilmiştir (139,140). Çay ile arkadaşları, splanknik organlardaki artmış oksidatif stresi göz önünde bulundurarak laparoskopinin olumsuz postoperatif sonuçlarını test etmişlerdir. Pnömooperitonyumla artmış intraabdominal basıncın (IAP) serbest radikal üretiminde bir yükselmeye yol açtığını ve yüksek malondialdehit (MDA) seviyelerinin melatonin profilaksisi ile önemli oranda azaldığını göstermişlerdir (128).

Operatif stres yanıtın hafifletilmesi için melatonin kullanımı insan çalışmalarında da test edilmiştir. Cerrahi geçirecek yenidoğanlarda oksidatif stresin morbidite ve mortaliteyi arttırdığı düşünülür. Gitto ile ark. cerrahi aday yenidoğanlarda melatoninin antioksidan tedavi etkinliğini randomize bir şekilde çalışmışlardır. Cerrahi stres belirteçleri (IL-6, IL-8, TNF-alfa ve nitrit/nitrat seviyeleri) operasyondan sonra sağlıklı yenidoğanlara kıyasla cerrahi geçiren noenatalarda önemli oranda artış göstermiştir. Melatonin tedavisi almamış cerrahi yenidoğanlarda melatonin tedavisi almış yenidoğanlara nazaran stres markırlarında (IL-6, IL-8 ve nitrit/nitrat seviyeleri) önemli bir artış görülmüştür (141). Bu araştırmacıların sonuçları bu tez projesi içerisinde yer alan MDA, GSH ve GSH-Px sonuçlarını desteklemektedir.

Laparoskopik cerrahi sırasında abdominal CO₂ insuflasyonu intraabdominal basıncı artırır. Abdominal kavitenin desuflasyonundan sonra intraabdominal basıncın normale dönmesiyle splanknik hipoperfüzyon oluşur. Bu değişimler serbest radikal üretimini artırarak hücrel hasara neden olur. Bu durum tipik bir iskemi-reperfüzyon fenomeni olarak kabul edilir (142). Çeşitli hayvan ve insan çalışmaları, pnömooperitonyumun bir sonucu olarak meydana gelen iskemi-reperfüzyon hasarını

araştırmıştır. Pnömooperitonyumun end-organ hasarına ve iskemisine doğrudan yol açtığına dair hayvan çalışmalarından elde edilen çok net kanıtlar vardır. Nickkholgh tarafından yakın bir geçmişte yapılan çalışmada (89), 90 dakika süreli ve 12 mmHg basınçta pnömooperitonyumun, ratlarda karaciğer reperfüzyon hasarına ilişkin histolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Ancak bu değişikliklerin 8 mm Hg basınçta değil yüksek basınç kabul edilen 12 mm Hg'da görüldüğü bildirilmiştir. Laparoskopik insuflasyondan sadece 20 dk sonra tavşan kolonik dokularında artmış ksantin oksidaz aktivitesi gözlemlenmiştir (143). Diğer çalışmalar da açık ve retroperitoneoskopik donör nefrektomilerinde doku oksidatif hasarının benzer bir paternini göstermişlerdir (144). Bu araştırmacıların bildirimleri de bu tez projesi içerisinde yer alan MDA, GSH ve GSH-Px sonuçları ile uyum göstermektedir.

Ekstraabdominal organlarda da pnömooperitonyuma bağlı olarak oksidatif stres görülebilir. Rat akciğerlerinde desuflasyondan 2 ve 6 saat sonra önemli oranda artmış malondialdehit (MDA) seviyesi gösterilmiştir (145). Bukan ve ark. laparoskopik kolesistektomi ile açık kolesistektominin oksidatif stres üzerindeki etkilerini karşılaştırmış ve malondialdehit (MDA) ve nitrit/nitrat seviyelerini ölçmüşlerdir (146). Açık kolesistektomi grubunda hem intraoperatif, hem de postoperatif dönemde malondialdehit (MDA) ve nitrit/nitrat seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Polat ve ark. açık ya da laparoskopik herni onarımı geçirecek olan hastalarda cerrahi öncesinde ve sonrasında malondialdehit (MDA), protein karbonilleri ve protein sülfhidril seviyelerini ölçmüşlerdir (147). Her iki cerrahi yöntem de oksidatif stres yanıtta önemli bir artışa ve antioksidan aktivitede azalmaya yol açmıştır. Malondialdehit (MDA) ve karbonil protein seviyeleri laparoskopik grupla kıyaslandığında açık herni onarımı grubunda önemli oranda daha yüksek bulunmuştur.

Yüksek intraabdominal basınç genellikle basıncın 12 mm Hg ve üzerinde olması olarak tanımlanır. Polat ve ark. laparoskopik kolesistektomili insan çalışmasında 10 mmHg yerine 15 mmHg kullanıldığında artan oksidatif stres belirteçleri yönünde bir eğilim olduğunu göstermişlerdir (148). Biz de çalışmamızda yüksek basınç olarak 15 mm Hg'yı kullandık.

Kullanılan gazın türü, veriliş sıcaklığı ve nem oranı da laparoskopik cerrahi sırasında oluşan oksidatif yanıtı etkilemektedir. Yılmaz ve ark. rat modelinde belirli bir

insuflasyon basıncında helyuma kıyasla CO₂ kullanıldığında oksidatif stres belirteçlerinde daha büyük miktarda artış olduğunu göstermişlerdir. Helyum pnömoperitonyumu 15 mmHg'da dahi kontrollerle karşılaştırıldığında MDA ve karbonil seviyelerinde önemli artışlar meydana getirmemiştir, fakat CO₂ pnömoperitonyumu 10 mmHg kadar düşük basınçlarda bile anlamlı artışlara neden olmuştur (90). Bu belirgin avantajlara rağmen, emilemeyen gazların ölümcül gaz embolilerine ve pnömotoraksa yol açarak daha riskli olabileceği endişesinden ötürü, pnömoperitonyumda CO₂'in tercih edilen gaz olarak kalması olasıdır (101,149). Biz de çalışmamızda bu nedenlerden dolayı CO₂ gazını kullanmayı uygun gördük.

CO₂ ile yapılan pnömoperitonyum oksidatif stres belirteçlerinde değişikliklere neden olduğu gibi mezotelyal strüktürel yapıda da değişikliklere neden olur. Bu histolojik değişiklikler CO₂'in kullanımına bağlı olabileceği gibi, gaz türüne bağlı olmaksızın periton yüzeyinin soğuk insuflasyon gazıyla temas etmesine de bağlı olabilir. Volz ile ark. CO₂ insuflasyonundan sonra periton yüzeyinde karakteristik ultrastrüktürel değişimler olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarında CO₂ insuflasyonundan 2 saat sonra periton yüzeyindeki morfolojik değişiklikler elektron mikroskopi taramasında görülebilmekteydi. Bu değişimler mezotelyal hücrelerin şişmesine ve intersellüler bileşkelerin genişlemesine, takiben de bazal membranın açığa çıkmasına neden olmuşlardır. Ayrıca intersellüler boşlukta peritoneal makrofajlar görülmüştür. Mezotelyal rejenerasyon 48 saatten sonra gerçekleşmiştir (150). Bizim çalışmamızda da insüflasyondan 1,5 saat sonra periton kesitlerinde kontrol grubuna kıyasla mezotelyal tabakadaki hücrelerde oldukça yoğun proliferasyon izlendi. Hücrelerde yer yer ayrılmalar ve nekrozis gözlemlendi. Submezotelyal tabaka da belirgin olarak kalın bir katman halinde gözlemlendi. Fibroblast hücrelerinde şiddetli proliferasyon, yoğun kollajen birikimi ve nötrofil infiltrasyonu izlendi. Kas tabakasında kas hücrelerinin arasındaki bağ dokuda kalınlaşma fibroblast artışı ve nötrofil infiltrasyonu tespit edildi. Melatonin verilen Pp grubunda anlamlı iyileşme olduğunu gördük. Bu gruptaki periton kesitlerinde mezotelyal tabakadaki hücrelerde daha az proliferasyon izlendi. Hücrelerin kontrol grubuna benzer şekilde bütünlüğünü koruduğu gözlemlendi. Submezotelyal tabakanın kalınlığının Pp grubuna göre oldukça incelendiği belirlendi. Fibroblast hücrelerinde proliferasyon zayıf derecede olup kollajen birikiminin oldukça azaldığı dikkatimizi çekti. Kas tabakasında kas hücrelerinin arasındaki bağ doku miktarı

kontrole yakındı. Sadece melatonin verilen gruptaki peritoneal incelemede ise kontrol grubuna benzer bulgular izlendi.

Over dokusunda yaptığımız histopatolojik inceleme sonucunda da kontrol grubuna göre Pp grubunda anlamlı değişiklikler izlendi. Kontrol grubunda over epitel kesitlerinde tek sıralı kübik epitel hücrelerinin normal yapı sergilediği belirlendi. Epitelin altında bağ dokusu tabakası tunika albuginea ince bir katman olarak uzanıyordu ve bağ dokusu lifleri ve fibroblastlar ayırt ediliyordu. Pp grubu over kesitlerinde kübik epitel hücrelerinde belirgin proliferasyon, epitel altı bağ dokuda kalınlaşma, fibroblast hücrelerinde proliferasyon izlendi. Ayrıca kan damarlarında belirgin dilatasyon gözlemlendi. Melatonin verilen Pp çalışma grubunda ise kübik epitel hücrelerinin kontrole benzer şekilde normal yapılarını korudukları gözlemlendi. Epitel altı bağ dokusu ince bir tabaka halinde ve fibroblast hücreleri normal yapıda izlendi. Kan damarlarında dilatasyon belirlenmedi. Sadece melatonin verilen grupta ise kontrol grubuna benzer strüktürel yapı izlendi. Böylece melatoninin periton ve overlerdeki inflamasyon hasarını anlamlı derecede iyileştirdiğini gözlemledik.

Pnömoreperitonyum nedeni ile oluşan hasar ve doku destrüksiyonu bizim çalışmamızda erken dönem sonuçları açısından araştırılmıştır. Uzun dönem sonuçların değerlendirilebilmesi için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Cerrahinin süresi de oksidatif stresin derecesini belirlemede önemlidir. Uzun laparoskopik operasyonlardan sonra zamana bağlı olarak oksidatif stres belirteçleri artar. Ratlardaki böbrek dokularında uzamış CO₂ insuflasyonunun oksidatif stres belirteçlerinde anlamlı artışlara neden olduğu gösterilmiştir (151). Ayrıca ekstraabdominal organlarda da pnömoreperitonyuma bağlı desuflasyondan 2 ve 6 saat sonra özellikle rat akciğerlerinde önemli oranda artmış MDA seviyeleri tespit edilmiştir (145). Operasyon süresi ile doku destrüksiyonu arasındaki ilişkinin aydınlatılması için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Peritoneal defansın bozulmasıyla birlikte endometrial hücrelerin veya tümör hücrelerinin peritoneal implantasyonu veya trokar yeri metastazının arttığına dair veriler de mevcuttur. Laparoskopik endometrioma kist operasyonu geçiren bir kadında operasyondan 1 yıl sonra ortaya çıkan trokar yeri hernisinin onarımını takiben operasyondan 2 yıl sonra aynı yerde endometriotik odak tespit edilmiştir (152).

Laparoskopi sırasında oluşan inflamasyon ve oksidatif stres bu implantasyona zemin hazırlamış olabilir.

Yine jinekolojik malignensili kadınlarda laparoskopik trokar yeri metastazları bildirilmiştir. Trokar yeri metastazı erken evre jinekolojik kanserlerde bile laparoskopi ve pnömoperitonyumun potansiyel bir komplikasyonu olarak gözükmektedir (153).

Genel olarak malign hastalık nedeniyle laparoskopik cerrahi geçiren hastalarda trokar yeri metastazı oranı %1-2 olarak tespit edilmiştir. Birçok faktör bu komplikasyona neden olabilir. En önemli nedenin ise cerrahi teknik olduğu tahmin edilmektedir. İnsüflasyon sırasında CO₂ gazının porttan sızması ve baca etkisi oluşturması tümör hücrelerinin metastazına neden olabilir. Ayrıca pnömoperitonyumun neden olduğu lokal immün reaksiyonun da bu implantların oluşmasında rolü olabilir. Bu komplikasyonun önlenmesi için peritoneal kavitenin sitotoksik ajanlarla yıkanması veya cerrahi tekniğin modifikasyonunu önerenler olmuştur (154). Melatonin de antioksidan bir ajan olarak, peritoneal oksidatif stresi azaltarak ve inflamasyon hasarını gidererek endometriotik ve malign hücrelerin implantasyonuna engel olabilir. Bu konuda da çalışmalara ihtiyaç vardır.

Overlerde tespit ettiğimiz inflamasyon hasarı ve oksidatif stres özellikle infertil ve amenoreli olgularda diagnostik amaçlı kullanılan laparoskopinin infertilite üzerine de etkisinin olabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Bu nedenle profilaktik olarak ve postoperatif dönemde verilecek melatoninin fertilitte üzerine oluşacak daha fazla hasarı engelleyebileceğini tahmin ediyoruz. Ancak daha önce yapılmamış olan bu çalışmaların gelecekte önemli bir ihtiyaç olacağı kanısına varmış bulunmaktayız.

6. SONUÇ

Cerrahi girişimler, artmış postoperatif mortalite ve morbiditeye neden olan oksidatif stresle sonuçlanırlar. Hem deneysel hem de insan çalışmaları oksidatif stresi azaltarak organ fonksiyonlarının iyileştirilebileceğini ve de morbidite ve mortalitenin azaltılabileceğini göstermiştir. Basınç ve zamana bağlı olarak pnömoperitonyumun, hem sistemik hem de lokal etkiler sonucunda splanknik kan akışında azalmaya neden olduğu oldukça açıktır. Kan akımındaki bu azalma ve CO₂ gazının kendisinin yol açtığı oksidatif stresin biyokimyasal bulguları ve doku hasarının histolojik bulguları ortaya çıkar. Bazı hayvan ve insan çalışmalarında pnömoperitonyumun neden olduğu oksidatif stresi azaltmak için bir takım önlemler önerilmiştir. Bu çalışmalardan bazıları da farmakolojik ajanların kullanımıyla ilgilidir.

Deneysel olarak klasik antioksidanlardan daha etkili olduğu kanıtlanmış olan melatonin düşük toksisite oranı ile güvenli bir ilaç haline gelmiştir. Deneysel çalışmalarda melatonin, cerrahi hasarları ve pnömoperitonyum ile ilişkili oksidatif stresi azaltmış ve morbidite ile mortaliteyi iyileştirmiştir.

Melatoninin, cerrahiye yönelik antioksidan etkisi ve cerrahi kaynaklı oksidatif stresi azalttığına dair insan çalışmaları yalnızca yenidoğanlarda yapılmıştır. Melatoninin bu yararlı etkileri yetişkin popülasyonda da belgelenmeyi beklemektedir. Birçok hayvan ve birkaç tane de infant çalışmasında melatoninin güçlü antioksidan özelliklerini destekleyen birçok kanıttan yararlanarak bu ilaç gelecekte yetişkin cerrahi popülasyonun üzerinde denenmelidir.

İnfertilite, endometriozis gibi benign ve jinekolojik kanserler gibi malign hastalıklar için yapılacak olan laparoskopik ameliyatlarda preoperatif ve postoperatif uygulanacak melatoninin periton ve overlerdeki oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltabileceği ve buna bağlı oluşabilecek komplikasyonları önleyebileceği sonucuna varıldı.

7. ÖZET

CO₂ İLE PNÖMOPERİTONYUM OLUŞTURULAN HAYVAN MODELİNDE MELATONİNİN PERİTON VE OVERLERDEKİ OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: Bu çalışmanın amacı CO₂ gazı ile pnömoperitonyum oluşturulan dişi ratlarda periton ve over dokusundaki serbest radikal düzeyleri ve hücresel değişiklikleri saptamak ve güçlü bir antioksidan olan melatoninin bu dokulardaki hasarı onarıcı etkisini araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Çalışmada 32 adet, ağırlığı 180-200 gram arasında değişen, Sprague-Dawley cinsi erişkin dişi rat kullanıldı. Deneye başlamadan önce toplam 32 rat, 4 gruba rastgele örnekleme yöntemi ile dağıtıldı.

Grup I. Kontrol grubu (n=8)

Grup II. Pnömoperitonyum grubu (Pp; n=8): 15 mmHg intraabdominal basınç sağlayacak şekilde 60 dk. boyunca CO₂ insuflasyonu yapılarak pnömoperitonyum uygulandı.

Grup III. Pnömoperitonyum + Melatonin grubu (Pp+MEL; n=8): 15 mmHg intraabdominal basınç sağlayacak şekilde 60 dk. boyunca CO₂ insuflasyonu yapılarak pnömoperitonyum uygulandı. CO₂ insuflasyonundan 10 dk. önce ve desuflasyondan hemen önce olmak üzere toplam 2 doz 20 mg/kg'dan intramusküler melatonin verildi.

Grup IV. Melatonin grubu (MEL; n=8): 70 dk. arayla toplam 2 doz 20 mg/kg'dan intramusküler melatonin verildi.

Grup II ve Grup III'teki ratlar abdominal desuflasyondan sonraki 30 dk. boyunca sol yanına yatırılarak dinlendirildi. Dinlenme periyodundan sonra periton ve overler eksize edildi.

Çıkarılan periton dokusu iki eşit parçaya bölündü. İki overden biri ve peritonun bir parçası lipid peroksidasyon (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) değerlerini araştırmak için kullanıldı. Diğer over ve peritonun diğer yarısı histopatolojik inceleme için kullanıldı.

Bulgular: Peritoneal ve ovarian dokudaki MDA düzeyleri ile mezotelyal, submezotelyal, kas ve over doku örneklerindeki inflamasyon seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla Pp grubunda önemli düzeyde arttığı ($p<0.001$), GSH ve GSH-Px düzeylerinin ise önemli düzeyde ($p<0.05$ ve $p<0.01$) azaldığı gözlemlendi. Bununla birlikte, peritoneal ve ovarian dokudaki MDA düzeyleri ile mezotelyal, submezotelyal, kas ve over doku örneklerindeki inflamasyon seviyelerinin Pp grubuna kıyasla MEL+Pp grubunda önemli düzeyde azaldığı ($p<0.001$), GSH ve GSH-Px düzeylerinin ise önemli düzeyde ($p<0.05$ ve $p<0.01$) arttığı gözlemlendi.

Sonuç: Melatoninin CO₂ gazı ile pnömoperitonyum oluşturulan ratlarda periton ve over dokularındaki histolojik değişikliklere ve oksidatif stres üzerine koruyucu etkisinin olduğunu gözlemledik.

Anahtar Kelimeler: Pnömoperitonyum, Oksidatif Stres, Melatonin, İnflamasyon.

8. SUMMARY

EFFECTS OF MELATONIN ON OXIDATIVE STRESS OF PERITONEUM AND OVARIAN IN PNEUMOPERITONEUM OF RAT INDUCED BY CARBONDIOXIDE

Objective: The aim of this study was to determine cellular changes and free radical levels within ovarian and peritoneum tissue in female rats with pneumoperitoneum induced by CO₂.

Materials and Methods: 32 adult female Sprague-Dawley rats weighing between 180 - 200 gr. were used in this study. 32 rats were divided into 4 groups using a random sampling method.

Group I. Control group (n=8)

Group II. Pneumoperitoneum group (Pp; n=8): pneumoperitoneum was developed by CO₂ insufflation for 60 minutes and intra-abdominal pressure was built up to 15 mmHg.

Group III. Pneumoperitoneum + Melatonin group (Pp + MEL; n=8): pneumoperitoneum was developed by insufflation for 60 minutes and intra-abdominal pressure was built up to 15 mmHg. Two doses of 20 mg/kg im melatonin were administered just before desufflation and 10 minutes before CO₂ insufflation.

Group IV. Melatonin group (MEL; n=8): Two doses of 20 mg/kg im melatonin were administered at 70 minute intervals.

Rats in Group II and Group III were rested lying on left side for 30 minutes after abdominal desufflation. Peritoneum and ovaries were excised after resting period. The excised peritoneal tissue was minced into two equal sections. One of the ovaries and a section of excised peritoneum were utilized to study lipid peroxidation (MDA), reduced glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GSH-Px) levels. The other ovary and other half of peritoneum were used for histological analysis.

Results: MDA levels in peritoneal and ovarian tissues, and inflammatory levels of mesothelial, submesothelial, muscle and ovarian tissue samples were found to be significantly higher in Pp group compared to the control group ($p < 0.001$), while GSH and GSH-Px levels were significantly decreased. However, MDA levels in peritoneal

and ovarian tissues and inflammatory levels in mesothelial, submesothelial, muscle and ovarian tissue samples were significantly lower in Pp group compared to the MEL + Pp group ($p < 0.001$), while GSH and GSH-Px levels were significantly higher ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively).

Conclusions: We observed that melatonin has a protective effect against oxidative stress and histological changes within ovarian and peritoneal tissues in rats with CO₂-induced pneumoperitoneum.

Keywords: Pneumoperitoneum, Oxidative Stress, Melatonin, Inflammation.

9. KAYNAKLAR

1. Güner H. Jinekolojik ve Obstetrikal Cerrahi. Güneş Kitabevi Ltd.Şti, Ankara, 2005.
2. Kişnişci HA, Göksin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara, 1996.
3. Sutton C, Diamond M. Endoscopic surgery of Gyneocologist. Springer Verlag, 1993, Berlin.
4. Cushieri A, Buess G, Perissat J. Operative Manual of Endoscopic Surgery. Springer Verlag, 1992, Berlin.
5. Mencaglia L, Waitiez A. Manuel of Gynecological Laparoscopic Surgery. World Medical Press, 2002, New York.
6. Jansen RPS. Failure of intraperitoneal adjuncts to improve the outcome of pelvic operation in young women. Am J Obstet Gynecol 1985; 153: 363.
7. Holtz G. Prevention and management of peritoneal adhesions. Fertil Steril 1984; 41: 497.
8. Stangel JJ, Nisbet JD, Settles H. Formation and prevention of postoperative abdominal adhesion. J Report Med 1984; 29: 145.
9. Diamond MP, Linsky CB, Cunningham T, et al. Synergistik effects of Interceed (TC7) and heparin in reducing adhesion formation in the rabbit horn model. Fertil Steril 1991; 55: 389.
10. Te Linde's. Operative Gynecology Türkçe. İzmir Güven Kitabevi, 2005.
11. Akkuş İ. Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
12. Champe PC, Harvey RA. Lippincott, Nobel tıp kitabevleri Ltd şti. İstanbul, 1997.
13. Burtis CA, Ashwood ER, Tietz. Textbook of clinical chemistry, third edition. WB Saunders Company, 1999; 549-593.
14. Biaglow JE, Manevich Y, Uckun F, Held KD. Quantitation of Hydroxyl Radicals Produced by Radiation and Copper-Linked Oxidation of Ascorbate by 2-Deoxy-d-Ribose Method. Free Radical Biology and Medicine. 1997; 22(7): 1129-1138.
15. Hong L, Chuan W, Xiangzhong L, Xiaoli X, Chengchun J, Hua'nan C. A Novel Electro-Fenton Process for Water Treatment: Reaction-controlled pH Adjustment and Performance Assessment Environ. Sci Technol 2007; 41(8): 2937-42.
16. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin Proc 1988; 63: 381-389.
17. Foote CS, Shook FC, Abakerli RB. Characterization of singlet oxygen. Methods Enzymol 1984; 105: 36-47.

18. Neudecker J, Sauerland S, Neugebauer E, Bergamaschi R, Bonjer HJ, Cuschieri A, Fuchs KH, Jacobi Ch, Jansen FW, Koivusalo AM, Lacy A, McMahon MJ, Millat B, Schwenk W. Surg The European Association for Endoscopic Surgery clinical practice guideline on the pneumoperitoneum for laparoscopic surgery. *Endosc* 2002; 16: 1121-43.
19. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman. Oxygene radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-45.
20. Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1996; 41: 1819-1828.
21. Halliwell B. Oxygen radicals: A commonsense look at their nature and medical importance. *Med Biol* 1984; 62: 71-77.
22. Jain SK. Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology* 2006; 13(3): 127-128.
23. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *J Carcin* 2006; 5: 14-22.
24. Anees B, Abdul BM, Fatima RF, Mustafa L. Mechanisms of Oxidative Stress-Induced Increase in Salt Sensitivity and Development of Hypertension in Sprague-Dawley Rats. *Hypertension* 2007; 49: 664.
25. Szasz T, Thakali K, Fink GD, Watts SW. A comparison of arteries and veins in oxidative stress: producers, destroyers, function, and disease. *Exp Biol Med (Maywood)* 2007; 232: 27-37.
26. Weinbrenner T, Cladellas M, Isabel Covas M, Fito M, Tomas M, Senti M, Bruguera J, Marrugat J. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2003; 68(1): 99-106.
27. Yim S, Malhotra A, Veves A. Antioxidants and CVD in diabetes: where do we stand now. *Curr Diab Rep* 2007; 7: 8-13.
28. Miquel J. Can antioxidant diet supplementation protect against age-related mitochondrial damage? *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 508-16.
29. Poeggeler B, Pappolla MA, Hardeland R, Rassoulpour A, Hodgkins S, Guidetti P, Schwarcz R. Indole-3-propionate: a potent hydroxyl radical scavenger in rat brain. *Brain Res* 1999; 815: 382-8.
30. Valko M, Rhodes C J, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
31. Varadarajan S, Yatin S, Aksenova M, Butterfield DA. Review: Alzheimer's amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *J Struct Biol* 2000; 130: 184-208.
32. Zhu X, Rottkamp CA. Activation of p38 kinase links tau phosphorylation, oxidative stress, and cell cycle-related events in Alzheimer disease. *Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59: 880-888.

33. Schapira AH. Mitochondrial involvement in Parkinson's disease, Huntington's disease, hereditary spastic paraplegia and Friedreich's ataxia. *Biochim Biophys Acta (Bba) / Bioenergetics* 1999; 1410: 159-70.
34. Kedar NP, William CC, Bipin K. Multiple Antioxidants in the Prevention and Treatment of Parkinson's Disease. *J Am Coll Nutr* 1999; 18: 413.
35. Geronikaki AA, Gavalas AM. Antioxidants and inflammatory disease: synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. *Comb Chem High Throughput Screen* 2006; 9(6): 425-442.
36. Remans PH, Van Oosterhout M, Smeets TJ, Sanders M, Frederiks WM, Reedquist KA, Tak PP, Breedveld FC, Van Laar JM. Intracellular free radical production in synovial T lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2003-9.
37. Surapaneni KM, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with osteoarthritis. *Indian J Med Sci* 2007; 61: 9-14.
38. Fernandez D, Bonilla E, Phillips P, Perl A. Signaling abnormalities in systemic lupus erythematosus as potential drug targets. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2006; 6: 305-11.
39. Militante J, Lombardini JB. Age-related retinal degeneration in animal models of aging: possible involvement of taurine deficiency and oxidative stress. *Neurochemical Research* 2004; 29(1): 151-160.
40. Yalçın As. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 342-46.
41. Bergendi L, Benes L, Durackova Z, Ferencik M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences* 1999; 65: 1865-74.
42. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action. *Am J Med* 1994; 26: 5-12.
43. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.
44. Kamal AA, Gomaa A, el Khafif M, Hammad AS. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dust. *Environ Res* 1989; 49: 173-180.
45. Banarjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem* 2003; 253: 307.
46. Meram Köylüoğlu O, Tarakçioğlu M. E vitamini ve klinik önemi. *İbni Sina Tıp Dergisi* 2001; 6: 66-71.
47. Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol Rev* 1998; 78(3): 687-721.
48. Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med* 1997; 336: 186-95.

49. Acuna CD, Reiter RJ, Menendez PA, Pablos MI, Burgos A. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver. *J Pineal Res* 1994; 16: 100-2.
50. Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. *Genel Tıp Derg* 2009; 19(3): 137-143.
51. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: A brief review. *Brazilian J Med Biol Res* 1993; 26: 1141-55.
52. Poeggeler B, Reiter RJ, Tan D-X, Chen L-D, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical mediated oxidative damage, and aging: A hypothesis. *J Pineal Res* 1993; 14: 151-168.
53. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 229-36.
54. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1265-72.
55. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444-58.
56. Tan DX, Manchester LC, Hardeland R, Lopez-Burillo S, Mayo JC, Sainz RM, Reiter RJ. Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J Pineal Res* 2003; 34: 75-78.
57. Reiter RJ. Functional diversity of the pineal hormone melatonin: its role as an antioxidant. *Exp clin endocrinol* 1996; 104: 10-6.
58. Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res* 1998; 24: 83-89.
59. Şahna E, Deniz E, Aksulu HE. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. *Anadolu Kardiyol Derg* 2006; 6: 163-8.
60. Vollrath L, Semm P, Gammel G. Sleep induction by intranasal application of melatonin. *Adv Biosci* 1981; 29: 327-9.
61. Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, et al. Effects of melatonin on human mood and performance. *Brain Res* 1984; 323: 201-7.
62. Maestroni GJ. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res* 1993; 14: 1-10.
63. Maestroni GJM, Conti A, Lissoni P. Colony-stimulating activity and hematopoietic rescue from cancer chemotherapy compounds are induced by melatonin via endogenous interleukin 4. *Cancer Res* 1994; 54: 4740-3.
64. Maestroni GJM, Covacci V, Conti AA. Hematopoietic rescue via T-cell-dependent, endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor induced by the pineal neurohormone melatonin in tumor-bearing mice. *Cancer Res* 1994; 54: 2429-32.
65. Gonzales-Haba MG, Garcia-Maurino S, Calvo JR, et al. High affinity binding of melatonin by human circulating T lymphocytes (CD4+). *Faser J* 1995; 9: 1331-5.

66. Rojansky N, Brzezinski A, Schenker JG. Seasonality in human reproduction: an update. *Hum Reprod* 1992; 7: 735-45.
67. Kauppila A, Kivela A, Pakarinen A, et al. Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 823-8.
68. Waldhauser F, Boepple PA, Schemper M, et al. Serum melatonin in central precocious puberty in lower than age-matched prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 793-6.
69. Puig-Domingo M, Webb SM, Serrano J, et al. Melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med* 1992; 327: 1356-9.
70. Brzezinski A, Lynch HJ, Seibel MM, et al. The circadian rhythm of plasma melatonin during the normal menstrual cycle and in amenorrhic women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 891-5.
71. Voordouw BCG, Euser R, Verdonk RBR, et al. Melatonin and melatonin progestin combinations alter pituitary ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 108-17.
72. Brzezinski A, Lynch HJ, Seibel MM, et al. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 865-7.
73. Yie SM, Niles LP, Younglai EV. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1747-9.
74. Tamarkin L, Cohen M, Roselle D, et al. Melatonin inhibition and pinealectomy enhancement of 7,12-demethyl-benz(a)anthracene-induced mammary tumors in the rat. *Cancer Res* 1981; 41: 4432-6.
75. Tamarkin L, Danforth D, Lichter A, et al. Decreased nocturnal plasma melatonin peak in patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Science* 1982; 216: 1003- 5.
76. Bartsch C, Bartsch H, Schmidt A, et al. Melatonin and 6-sulfatoxymelatonin circadian rhythms in serum and urine of primary prostate cancer patients evidence for reduced pineal activity and relevance of urinary determinations. *Clin Chim Acta* 1992; 209: 53-67.
77. Lissoni P, Barni S, Merigalli S, et al. Modulation of cancer endocrine therapy by melatonin: a phase II study of tamoxifen alone. *Br J Cancer* 1993; 71: 854-6.
78. Lissoni P, Barni S, Ardizzoia A, et al. A randomized study with the pineal hormone melatonin versus supportive care alone in patients with brain metastases due to solid neoplasms. *Cancer* 1994; 73: 699-701.
79. Özçelik B, Serin S, Başbuğ M, et al. Effect of melatonin in the prevention of postoperative adhesion formation in a rat uterine horn adhesion model. *Human reproduction* 2003; 18: 1703-6.
80. Hulka JF, Reich H. *Textbook of Laparoscopy* (3rd edn). Philadelphia: WB Saunders, 1998.

81. Richmond BK. Re: JSLs 2006; 10: 236–238 Intestinal ischemia after laparoscopic cholecystectomy. JSLs 2006; 10: 546.
82. Dwerryhouse SJ, Melsom DS, Burton PA, Thompson MH. Acute intestinal ischaemia after laparoscopic cholecystectomy. Br J Surg 1995; 82: 1413.
83. Bandyopadhyay D, Kapadia CR. Large bowel ischemia following laparoscopic inguinal hernioplasty. Surg Endosc 2003; 17: 520–521.
84. Paul A, Troidl H, Peters S, Stuttmann R. Fatal intestinal ischaemia following laparoscopic cholecystectomy. Br J Surg 1994; 81: 1207.
85. Talbot D, Miller IT, Miller IA. Fatal intestinal ischaemia following laparoscopic cholecystectomy. Br J Surg 1995; 82: 1143.
86. Wassenaar EB, Raymakers JT, Rakic S. Fatal intestinal ischemia after laparoscopic correction of incisional hernia. JSLs 2007; 11: 389–393.
87. Johnson PR. Re: JSLs 2007; 11: 389–393 Fatal intestinal ischemia after laparoscopic correction of incisional hernia. JSLs 2008; 12: 217.
88. Hasson HM, Galanopoulos C, Langerman A. Ischemic necrosis of small bowel following laparoscopic surgery. JSLs 2004; 8: 159–163.
89. Nickkholgh A, Barro-Bejarano M, Liang R, Zorn M, Mehrabi A, Gebhard MM et al. Signs of reperfusion injury following CO₂ pneumoperitoneum: an in vivo microscopy study. Surg Endosc 2008; 22: 122–128.
90. Yilmaz S, Polat C, Kahraman A, Koken T, Arıkan Y, Dilek ON et al. The comparison of the oxidative stress effects of different gases and intra-abdominal pressures in an experimental rat model. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2004; 14: 165–168.
91. Ben-Haim M, Rosenthal RJ. Causes of arterial hypertension and splanchnic ischemia during acute elevations in intra-abdominal pressure with CO₂ pneumoperitoneum: a complex central nervous system mediated response. Int J Colorectal Dis 1999; 14: 227–236.
92. Ishizaki Y, Bandai Y, Shimomura K, Abe H, Ohtomo Y, Idezuki Y. Changes in splanchnic blood flow and cardiovascular effects following peritoneal insufflation of carbon dioxide. Surg Endosc 1993; 7: 420–423.
93. Melville RJ, Frizis HI, Forsling ML, LeQuesne LP. The stimulus for vasopressin release during laparoscopy. Surg Gynecol Obstet 1985; 161: 253–256.
94. Eleftheriadis E, Kotzampassi K, Botsios D, Tzartinoglou E, Farmakis H, Dadoukis J. Splanchnic ischemia during laparoscopic cholecystectomy. Surg Endosc 1996; 10: 324–326.
95. Schilling MK, Redaelli C, Krahenbuhl L, Signer C, Büchler MW. Splanchnic microcirculatory changes during CO₂ laparoscopy. J Am Coll Surg 1997; 184: 378–382.

96. Sare M, Hamamcı D, Yılmaz I, Birincioğlu M, Menteş BB, Özmen M et al. Effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on free radical formation in lung and liver tissues. *Surg Endosc* 2002; 16: 188–192.
97. Kaya Y, Coşkun T, Demir MA, Var A, Özsoy Y, Aydemir EO. Abdominal insufflation–deflation injury in small intestine in rabbits. *Eur J Surg* 2002; 168: 410–417.
98. Akbulut G, Serteser M, Polat C, Köken T, Aktepe F, Yılmaz S et al. Changes in tissue-oxidative stress markers in an experimental model of laparoscopic donor nephrectomy. *Transplantation* 2002; 74: 1768–1772.
99. Bentes de Souza AM, Rogers MS, Wang CC, Yuen PM, Ng PS. Comparison of peritoneal oxidative stress during laparoscopy and laparotomy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2003; 10: 65–74.
100. Ishizaki Y, Bandai Y, Shimomura K, Abe H, Ohtomo Y, Idezuki Y. Safe intraabdominal pressure of carbon dioxide pneumoperitoneum during laparoscopic surgery. *Surgery* 1993; 114: 549–554.
101. Neuhaus SJ, Gupta A, Watson DI. Helium and other alternative insufflation gases for laparoscopy. *Surg Endosc* 2001; 15: 553–560.
102. Ivankovich AD, Miletich DJ, Albrecht RF, Heyman HJ, Bonnet RF. Cardiovascular effects of intraperitoneal insufflation with carbon dioxide and nitrous oxide in the dog. *Anesthesiology* 1975; 42: 281–287.
103. Wong YT, Shah PC, Birkett DH, Brams DM. Peritoneal pH during laparoscopy is dependent on ambient gas environment: helium and nitrous oxide do not cause peritoneal acidosis. *Surg Endosc* 2005; 19: 60–64.
104. Rosario MT, Ribeiro U Jr, Corbett CE, Ozaki AC, Bresciani CC, Zilberstein B et al. Does CO₂ pneumoperitoneum alter the ultra-structure of the mesothelium? *J Surg Res* 2006; 133: 84–88.
105. Suematsu T, Hirabayashi Y, Shiraishi N, Adachi Y, Kitamura H, Kitano S. Morphology of the murine peritoneum after pneumoperitoneum vs laparotomy. *Surg Endosc* 2001; 15: 954–958.
106. Neuhaus SJ, Watson DI. Pneumoperitoneum and peritoneal surface changes. *Surg Endosc* 2004; 18: 1316–1322.
107. Sammour T, Kahokehr A, Hill AG. Meta-analysis of the effect of warm humidified insufflation on pain after laparoscopy. *Br J Surg* 2008; 95: 950–956.
108. Slater NJ, Raftery AT, Cope GH. The ultrastructure of human abdominal mesothelium. *J Anat* 1989; 167: 47–56.
109. Schaeff B, Paolucci V, Henze A, Encke A. Electron microscopical changes to pneumoperitoneum after laparoscopic operations. *Surg Endosc* 1998; 12: O36.
110. Puttick MI, Scott-Coombes DM, Dye J, Nduka CC, Menzies-Gow NM, Mansfield AO, Darzi A. Comparison of immunologic and physiologic effects of CO₂ pneumoperitoneum at room and body temperatures. *Surg Endosc* 1999; 13: 572–575.

111. Mouton WG, Bessell JR, Pfitzner J, Dymock RB, Brealey J, Maddern GJ. A randomized controlled trial to determine the effects of humidified carbon dioxide insufflation during thoracoscopy. *Surg Endosc* 1999; 13: 382–385.
112. Volz J, Koster S, Weiss M, Schmidt R, Urbaschek R, Melchert F, Albrecht M. Pathophysiologic features of a pneumoperitoneum at laparoscopy: a swine model. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 132–140.
113. McDermott JP, Regan MC, Page R, Stokes MA, Barry K, Moriarty DC, Caushaj PF, Fitzpatrick JM, Gorey TF. Cardiorespiratory effects of laparoscopy with and without gas insufflation. *Arch Surg* 1995; 130: 984–988.
114. Neuberger TJ, Andrus CH, Wittgen CM, Wade TP, Kaminski DL. Prospective comparison of helium versus carbon dioxide pneumoperitoneum. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 38–41.
115. Bongard FS, Pianim N, Lui SY. Using helium for insufflation during laparoscopy. *JAMA* 1991; 266: 3131.
116. West MA, Hackam DJ, Baker J, Rodriguez JL, Bellingham J, Rotstein OD. Mechanism of decreased in vitro murine macrophage cytokine release after exposure to carbon dioxide: relevance to laparoscopic surgery. *Ann Surg* 1997; 226: 179–190.
117. Neuhaus SJ, Watson DI, Ellis T, Rofe AM, Mathew G, Jamieson GG. The influence of different gases on intraperitoneal immunity in tumour-bearing rats. *World J Surg* 2000; 24: 1227–1231.
118. Heel KA, Hall JC. Peritoneal defenses and peritoneum associated lymphoid tissue. *Br J Surg* 1996; 83: 1031–1036.
119. Redmond HP, Hofmann K, Shou J, Leon P, Kelly CJ, Daly JM. Effects of laparotomy on systemic macrophage function. *Surgery* 1992; 111: 647–655.
120. Mathew G, Watson DI, Ellis T, Jamieson GG, Rofe AM. The role of peritoneal immunity and the tumour-bearing state on the development of wound and peritoneal metastases after laparoscopy. *Aust N Z J Surg* 1999; 69: 14–18.
121. Cuschieri A. Adverse cardiovascular changes induced by positive pressure pneumoperitoneum. Possible solutions to a problem. *Surg Endosc* 1998; 12: 93–94.
122. Gudmundsson FF, Viste A, Myking OL, Grong K, Svanes K. Effects of the aldosterone receptor antagonist potassium canrenoate on renal blood flow and urinary output during prolonged increased intraabdominal pressure (IAP) in pigs. *Surg Endosc* 2004; 18: 1528–1534.
123. Kim ZG, Sanli E, Brinkmann L, Lorenz M, Gutt CN. Impact of dopamine and endothelin-1 antagonism on portal venous blood flow during laparoscopic surgery. *Surg Endosc* 2002; 16: 1292–1296.
124. Güler C, Samlı M, Aksoy Y, Demirbaş M, Kılınç A, Ellidokuz E et al. Effects of carbon dioxide pneumoperitoneum on free radical formation in remote organs and use of verapamil as an antioxidant. *J Endourol* 2004; 18: 245–249.

125. Döşlüoğlu HH, Aktan AO, Yeğen C, Okboy N, Yalçın AS, Yahn R et al. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. *Transpl Int* 1993; 6: 138–142.
126. Karwinski W, Garcia R, Helton WS. Protective effects of the calcium channel blocker verapamil on hepatic function following warm ischemia. *J Surg Res* 1996; 64: 150–155.
127. Ateş E, Yılmaz S, Ihtiyar E, Yaşar B, Karahüseyinoğlu E. Preconditioning-like amelioration of erythropoietin against laparoscopy-induced oxidative injury. *Surg Endosc* 2006; 20: 815–819.
128. Çay A, Imamoğlu M, Ünsal MA, Aydın S, Alver A, Akyol A et al. Does anti-oxidant prophylaxis with melatonin prevent adverse outcomes related to increased oxidative stress caused by laparoscopy in experimental rat model? *J Surg Res* 2006; 135: 2–8.
129. Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S, et al. Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns: Reduction by melatonin. *J Pineal Res* 2001; 31: 343.
130. Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ, et al. Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Pediatr Res* 2001; 50: 756.
131. Gitto E, Reiter RJ, Sabatino G, et al. Correlation among cytokines, bronchopulmonary dysplasia, and modality of ventilation in preterm newborns: Improvement with melatonin treatment. *J Pineal Res* 2005; 39: 287.
132. Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS. Ochratoxicosis: Prevention of developmental toxicity by L-Methionine in rats. *J Applied Toxicol* 1999; 19: 7-12.
133. Gitto E, Reiter RJ, Cordaro SP, et al. Oxidative and inflammatory parameters in respiratory distress syndrome of preterm newborns: Beneficial effects of melatonin. *Am J Perinatol* 2004; 21: 209.
134. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, et al. Ischemia/reperfusion induced arrhythmias in the isolated rat heart: Prevention by melatonin. *J Pineal Res* 1998; 25: 184.
135. Şahna E, Parlakpınar H, Türköz Y, et al. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion induced infarct size and oxidative changes. *Physiol Res* 2005; 54: 491.
136. Szarszoi O, Asemu G, Vanecek J, et al. Effects of melatonin on ischemia and reperfusion injury of the rat heart. *Cardiovasc Drugs Ther* 2001; 15: 251.
137. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 10.
138. Lee YM, Chen HR, Hsiao G, et al. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo. *J Pineal Res* 2002; 33: 72.
139. Reiter RJ, Tan DX, Leon J, et al. When melatonin gets on your nerves: Its beneficial actions in experimental models of stroke. *Exp Biol Med* 2005; 230: 104.

140. Gürlek A, Çelik M, Parlakpınar H, et al. The protective effect of melatonin on ischemia-reperfusion injury in the groin (inferior epigastric) flap model in rats. *J Pineal Res* 2006; 40: 312.
141. Gitto E, Romeo C, Reiter RJ, et al. Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonates. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 184.
142. Glantzounis GK, Tselepis AD, Tambaki AP, et al. Laparoscopic surgery-induced changes in oxidative stress markers in human plasma. *Surg Endosc* 2001; 15: 1315.
143. Emir H, Akman M, Belce A, Gümüştaş K, Söylet Y. Is intestinal ischemia a risk of laparoscopy? An experimental study in rabbits. *Eur J Pediatr Surg* 2001; 11: 158–162.
144. Demirbaş M, Samlı M, Aksoy Y, Güler C, Kılınç A, Dinçel C. Comparison of changes in tissue oxidative-stress markers in experimental model of open, laparoscopic, and retroperitoneoscopic donor nephrectomy. *J Endourol* 2004; 18: 105–108.
145. Pross M, Schulz HU, Flechsig A, Manger T, Halangk W, Augustin W et al. Oxidative stress in lung tissue induced by CO₂ pneumoperitoneum in the rat. *Surg Endosc* 2000; 14: 1180–1184.
146. Bukan MH, Bukan N, Kaymakçioğlu N, et al. Effects of open versus laparoscopic cholecystectomy on oxidative stress. *Tohoku J Exp Med* 2004; 202: 51.
147. Polat C, Kahraman A, Yılmaz S, et al. A comparison of the oxidative stress response and antioxidant capacity of open and laparoscopic hernia repairs. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2003; 13: 167.
148. Polat C, Yılmaz S, Serteser M, Koken T, Kahraman A, Dilek ON. The effect of different intraabdominal pressures on lipid peroxidation and protein oxidation status during laparoscopic cholecystectomy. *Surg Endosc* 2003; 17: 1719–1722.
149. Wolf JS Jr, Carrier S, Stoller ML. Gas embolism: helium is more lethal than carbon dioxide. *J Laparoendosc Surg* 1994; 4: 173–177.
150. Volz J, Koster S, Spacek Z, Paweletz N. Characteristic alterations of the peritoneum after carbon dioxide pneumoperitoneum. *Surg Endosc* 1999; 13: 611–614.
151. Akbulut G, Polat C, Aktepe F, Yılmaz S, Kahraman A, Serteser M et al. The oxidative effect of prolonged CO₂ pneumoperitoneum on renal tissue of rats. *Surg Endosc* 2004; 18: 1384–1388.
152. Sirito R, Puppo A, Centurioni MG, Gustavino C. Incisional hernia on the 5-mm trocar port site and subsequent wall endometriosis on the same site: a case report. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 878-80.
153. Ramirez PT, Frumovitz M, Wolf JK, Levenback C. Laparoscopic port-site metastases in patients with gynecological malignancies. *Int J Gynecol cancer* 2004; 14(6): 1070-7.
154. Ramirez PT, Wolf JK, Levenback C. Laparoscopic port-site metastases: etiology and prevention. *Gynecol Oncol* 2003; 91(1): 179-89.

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI
T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Başkanlığı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17/ 02/ 2010

Tez Danışmanı: **Prof. Dr. M. Tamer MUNGAN**
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Üye: **Prof. Dr. Mahmut BÜLBÜL**
Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Üye: **Prof. Dr. Gökhan BAYHAN**
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Üye: **Prof. Dr. H. Baha ORAL**
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

Üye: **Yrd. Doç. Dr. Evrim ERDEMOĞLU**
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ONAY: Bu uzmanlık tezi, Fakülte Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulu Kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR

Dekan