



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MELATONİN VE FOSFOLİPİDİN RATLARDA  
DENEYSEL PERİTONEAL ADEZYON OLUŞUMU  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN VASCULAR ENDOTHELIAL  
GROWTH FACTOR EKSPRESYONU İLE  
KORELASYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. ALİ RIZA ERDOĞAN

KAYSERİ -2005



T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**MELATONİN VE FOSFOLİPİDİN RATLARDA  
DENEYSEL PERİTONEAL ADEZYON OLUŞUMU  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN VASCULAR ENDOTHELIAL  
GROWTH FACTOR EKSPRESYONU İLE  
KORELASYONU**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DR. ALİ RIZA ERDOĞAN**

**Danışman**

**Prof. Dr. YÜCEL ARITAŞ**

**KAYSERİ –2005**

# İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
<b>YARA İYİLEŞMESİ</b> .....	3
<i>Eksudasyon (Enflamasyon) Fazı</i> .....	4
<i>Proliferasyon Fazı</i> .....	5
<i>Yeniden Şekillenme (Maturasyon ) Fazı</i> .....	7
<i>Yara İyileşmesinin Tipleri</i> .....	8
Primer Yara İyileşmesi.....	8
Sekonder Yara İyileşmesi.....	8
<b>PERİTONEAL ADEZYONLAR</b> .....	9
<b>MELATONİN</b> .....	13
<i>Fizyoloji ve Farmakoloji</i> .....	13
<i>Uyku ve Sirkadiyan Ritim</i> .....	15
<i>Serbest Radikal Süpürücülüğü (Antioksidan Etkisi)</i> .....	15
<i>İmmun Sisteme Etkisi</i> .....	15
<i>Seksüel Matürasyon ve Üreme</i> .....	16
<i>Yaşlanma</i> .....	17
<i>Kanser</i> .....	17
<b>FOSFOLİPİDLER</b> .....	17
<i>Fosfoliseridler</i> .....	18
<i>Sfingomyelin</i> .....	19
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor).....	20
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	24
<b>BULGULAR</b> .....	28
<b>TARTIŞMA</b> .....	34
<b>SONUÇLAR</b> .....	42
<b>KAYNAKLAR</b> .....	44
<b>TEZ ONAY SAYFASI</b> .....	55

## KISALTMALAR

<b>a.a.</b>	: aminoasit
<b>CAPD</b>	: Sürekli ambulatuvar periton diyalizi
<b>COX-2</b>	: Siklooksijenaz enzimi-2
<b>CSF</b>	: Koloni stimulan faktör
<b>DAG</b>	: Diaçil gliserol
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>EGF</b>	: Epidermal büyüme faktörü
<b>FGF</b>	: Fibroblast büyüme faktörü
<b>5-FU</b>	: 5-Florourasil
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin serbestleştirici hormon
<b>IGF</b>	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>INF</b>	: İnterferon
<b>LH</b>	: Luteinizan hormon
<b>MAP Kinaz</b>	: Mitojen aktive protein kinaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>mRNA</b>	: Mitokondriyal ribonükleik asit
<b>PAF</b>	: Platelet aktive edici faktör
<b>PCR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>PDGF</b>	: Platelet derived büyüme faktörü
<b>PID</b>	: Pelvik inflamatuvar hastalık
<b>PIGF</b>	: Plasenta kaynaklı büyüme faktörü
<b>PGE2</b>	: Prostaglandin E2
<b>SOD</b>	: Süperoksitdismutaz
<b>TGF</b>	: Transforming büyüme faktörü
<b>TNF</b>	: Tümör nekroze edici faktör
<b>tPA</b>	: Doku tipi plazminojen aktivatörü
<b>UPA</b>	: Ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelyal growth faktör

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1</b>	: Gruplardaki Toplam Adezyon Skoru Değerleri.....	29
<b>Tablo 2</b>	: Gruplardaki Adezyon Şiddet Skoru Değerleri.....	30
<b>Tablo 3</b>	: Gruplardaki Adezyon Yaygınlık Skoru Değerleri.....	30
<b>Tablo 4</b>	: Gruplardaki VEGF Boyanma Değerleri.....	30

## RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

<b>Resim 1</b>	: Çekumda Serozanın Soyulması.....	25
<b>Resim 2</b>	: Pariyetal Peritonun Abrazyonu.....	25
<b>Resim 3</b>	: Karın Duvarı-Organlar Arası Adezyon Gelişimi.....	33
<b>Resim 4</b>	: VEGF ile boyanma (Kontrol grubu denek:8).....	33
<b>Grafik 1</b>	: Gruplardaki Ortalama Toplam Adezyon Skorları.....	31
<b>Grafik 2</b>	:Gruplardaki Ortalama Adezyon Şiddet Skorları.....	31
<b>Grafik 3</b>	: Gruplardaki Ortalama Adezyon Yaygınlık Skorları.....	32
<b>Grafik 4</b>	: Gruplardaki Ortalama VEGF Boyanma Sonuçları.....	32

## ÖZET

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Haziran-Temmuz 2005 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

**Amaç:** Deneysel adezyon formasyonu oluşturulan ratlarda melatonin ve fosfolipidin adezyon gelişimine etkilerinin VEGF ekspresyonu ile korelasyonunu araştırmak.

**Materyal ve Metod:** Çalışmada ağırlığı 190-230 gram arasında değişen, dişi 60 adet Wistar-Albino tipi rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak 15'er ratlık sham, kontrol ve iki adet çalışma gruplarına ayrıldı. Sham grubuna sadece laparotomi yapıldı. Kontrol grubu ve çalışma gruplarında sağ alt kadranda pariyetal peritonda abrazyon yapıldı, çekum, ileum ve uterusun sağ boynuzunda serozal defekt oluşturuldu. Bu işlem sonrası periton boşluğuna kontrol grubunda ringer laktat verildi, çalışma gruplarından birine melatonin solüsyonu, diğerine fosfolipid süspansiyonu verildi. Bütün gruplarda 15 gün sonra relaparotomi yapılarak adezyon gelişimi değerlendirilip skorlama yapıldı. VEGF boyaması için kontrol grubunda normal alanlardan örnek alındı, ayrıca dört gruptan yapışıklık gelişen alanlardan doku örnekleri alındı. Alınan doku örneklerinde VEGF boyaması yapıldı.

**Bulgular :** Kontrol grubuna göre sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubunda adezyon gelişimi belirgin olarak düşüktü ( $p<0,05$ ). Kontrol grubunda yapışıklık olan alanlarda VEGF boyanması diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksekti( $p<0,05$ ). Melatonin ve fosfolipid grubunda VEGF boyanması ile normal alanlardaki VEGF boyanması arasında anlamlı fark yoktu. Melatonin ve fosfolipid grupları arasında hem adezyon gelişiminde hem VEGF boyanması sonuçlarında anlamlı fark bulunmadı.

**Sonuç:** Deneysel adezyon formasyonu oluşturulan ratlarda melatonin ve fosfolipid adezyon gelişimini azaltmaktadır. Gelişen adezyonun şiddeti ile VEGF ekspresyonu arasında paralellik vardı. Şiddetli adezyon gelişen alanlarda VEGF ekspresyonu artmıştı.

**Anahtar kelimeler:** Melatonin, Fosfolipid, VEGF ekspresyonu, Peritoneal adezyon, Adezyon şiddeti.



**EFFECTS OF MELATONIN AND PHOSPHOLIPID ON  
ADHESION FORMATION AND CORRELATION WITH  
VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR EXPRESSION  
IN RATS**

**ABSTRACT**

This experimental study has been performed in Hakan Çetinsaya Experimental and Clinical Research Center (DEKAM) at Erciyes University Medical Faculty between June-July 2005.

**Aim:** The aim of this experimental study is to investigate the effects of melatonin and phospholipid on adhesion formation and correlation with VEGF expression in rats.

**Materials and Methods:** Sixty female Wistar-Albino rats weighting between 190 and 230 g were used in this study. Rats were divided into four groups as sham, control and two study groups each included 15 rats. In the sham group only laparotomy was performed. In the study and control groups, after laparotomy left lower parietal periton abraded and serosal defects formed on caecum, ileum and right corn of uterus. After this step ringer lactate to control group, melatonin solution to one of the study groups and phospholipid suspension to the other study group applied. Relaparotomy performed to all of the rat groups at the 15<sup>th</sup> day to score and evaluate the adhesion formation. Samples had been taken from normal areas of

control group and also from adhesion areas of all four groups for VEGF staining and these tissues stained with VEGF staining.

**Results:** Adhesion formation was significantly lower at sham, melatonin and phospholipid groups than control group ( $p < 0,05$ ). VEGF staining was significantly higher at control group adhesion areas than other groups ( $p < 0,05$ ). When VEGF staining compared, there was no significant difference between VEGF stained and normal areas of melatonin and phospholipid groups. Either adhesion formation or VEGF staining results were not statistically different at melatonin and phospholipid groups.

**Conclusion:** Melatonin and phospholipid decreases the adhesion formation in experimentally adhesion formatted rats. There is a correlation between adhesion severity and VEGF expression. VEGF expression was higher at severe adhesion areas.

**Key Words:** Melatonin, Phospholipid, VEGF expression, Peritoneal adhesion, Adhesion severity.

## GİRİŞ VE AMAÇ

Abdominal ve pelvik cerrahi sonrası gelişen peritoneal adezyonlar modern cerrahinin başlangıcından bu yana ciddi bir problem olmuştur ve halen ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Peritoneal adezyonlar; intestinal obstrüksiyon, kronik karın ağrısı, infertilite, kronik pelvik ağrı gibi klinik problemlere neden olmaktadır. Tekrar abdominal cerrahi gerektiğinde peritoneal adezyonlar nedeniyle organ yaralanmaları oluşabilmekte ve bu da morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır. Uzun süreden beri bu problemi çözmek ve adezyon gelişiminin patofizyolojisini anlamak için çalışılmış, bu bilgiler ışığında adezyon gelişimini engellemek için bir çok çalışma yapılmıştır (1).

Postoperatif adezyonlar cerrahi sırasında travmatize olan serozal yüzeyler arasında olmaktadır. Doku yaralanması sonrası enflamasyon gelişmekte ve yara iyileşmesi süreci başlamaktadır. Yara iyileşmesi sırasında gelişen fibrin jel yapısı fibrinolitik aktivite ile parçalanamadığında kalıcı fibröz doku oluşmakta ve adezyonlar gelişmektedir (1).

Melatonin pineal bezden salınan bir nörohormondur. İmmun sistemi düzenleyici, uyku, mizaç, üreme fonksiyonları ve tümör gelişimi üzerine etkilidir. Ayrıca yaşlanma karşıtı işlevi olup, radyoprotektiftir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda melatonin'in serbest hidroksil ve peroksil radikallerini tutarak antioksidan etkili olduğu gösterilmiştir

(2,3). Serbest radikaller inflamasyon sırasında rol alan önemli moleküllerdir. Melatonin'in bu özelliğinden esinlenilerek peritoneal adezyonları engelleyici etkisi olabileceği düşünülerek bugüne kadar sadece bir çalışma yapılmış ve bu çalışmada melatonin'in pelvik adezyonları engelleyici rolünün olduğu gösterilmiştir (4).

Fosfolipid surfaktan benzeri bir madde olup, mezotel hücreleri tarafından salınmaktadır. Fosfolipid salgısı pariyetal periton ve abdominal organlar üzerinde kaygan oligolameller bir tabaka oluşturmaktadır. Cerrahi sırasında oluşan doku travması bu tabakayı hasara uğrattığı gibi mezotel hücreleri tarafından fosfolipid salınımı da azalmakta böylece serozal yüzeyler üzerindeki koruyucu tabaka kaybolmaktadır. Bu bilgilerden hareketle cerrahi sonrası peritoneal boşluğa fosfolipid uygulamasının adezyonları azaltabileceği düşünülmüştür (5). Bu çalışmada adezyon oluşumunda etkinliği kabul edilen fosfolipidle bu alanda yeni bir ajan olan melatonin'in etkileri karşılaştırılmıştır.

Vasküler endotelial growth faktör (VEGF) tanımlanmış en etkili angiogenesis faktörüdür. VEGF'nin en önemli özelliği diğer anjiogenik faktörlerden farklı olarak hedef hücrelerinin sadece endotel hücreleri olmasıdır. VEGF'nin erken yara iyileşmesi ve fibrozis gelişiminde etkisi olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada Crohn hastalığı olan olgularda striktür gelişen alanlarda VEGF ekspresyonunun arttığı ve striktür gelişmesinde major rol alabileceği belirtilmiştir (6).

Melatonin'in pelvik cerrahi sonrası adezyon önleyici etkisi sadece bir kez çalışılmıştır. Bu çalışmada abdominal adezyon önleyici etkisi çalışılarak etkinliği ikinci kez tekrar değerlendirilmiştir. Daha önce adezyon engelleyici etkisi birden çok çalışma ile gösterilmiş olan fosfolipid'in etkinliği, melatonin ile ilk kez karşılaştırılarak, melatoninin bu alanda yaygın kullanım için elverişli olup olmadığı anlaşılmaya çalışılmıştır. Daha önce deneysel adezyon modellerinde VEGF ekspresyonunu değerlendiren bir çalışma vardır. Bu çalışma ile yapışıklık olan alanlarla, normal alanlar arasındaki VEGF ekspresyonu karşılaştırılmıştır. Yine bütün gruplarda adezyon gelişen alanlarda VEGF ekspresyonu değerlendirilerek, adezyon şiddeti ile VEGF ekspresyonu arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

## GENEL BİLGİLER

### YARA İYİLEŞMESİ

Yara iyileşmesi, yaralı dokunun yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesidir. Travmaya organizmanın normal cevabı ya yaralı yerin tam düzeltilmesiyle yani rejenerasyonu ile olur ya da üzeri yaralı bölgede üretilen epitelle örtülü skar dokusu oluşumu şeklinde olur. Organizmanın doğal tepkisi yaraları mümkün olduğunca kısa sürede kapatmak ve dokuların normal sürekliliğini geri getirmek yönündedir. Yaralanma olayı, travmanın tipine bağlı olmaksızın yaralı dokunun morfolojik ve fonksiyonel özelliklerini yeniden kazanmasını sağlayacak dinamik ve oldukça karmaşık olaylar dizisini başlatır. Bu olaylar dizisine yara iyileşmesinin fazları denilir. Bu fazlar hem katabolik hem anabolik süreçleri içerir. Bu süreçlerin pek çoğu aynı anda meydana gelebilir hatta içiçe geçebilir, fakat bütün bunlara rağmen iyileşme sürecinde sabit bir düzen vardır.

Yara iyileşmesi fazları üç bölüm halinde incelenebilir.

- 1- Eksüdasyon (enflamasyon) fazı
- 2- Proliferasyon fazı
- 3- Matürasyon ve yeniden şekillenme (Reperatif) fazı (7)

### **1-Eksüdasyon (enflamasyon) fazı (1.-5. günler)**

Enflamasyon normal bir dokunun travmaya karşı verdiği akut cevaptır. İlk olay yaralı damarların sinirsel kontraksiyonudur. Küçük damarlarda vazokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonu sonucu kesilen damar ağzında primer hemostatik tıkaç meydana gelir. Yaralanma sonrası yaralı yüzey kanla örtülür. Buradaki trombositler yaralı damar subendotelinde bulunan kollajene yapışır ve kümeleşirler. Açığa çıkan çeşitli vazoaktif maddeler kesik damar ucunun bu primer tıkaç etrafında daha fazla kontraksiyonunu sağlarlar. Böylece kanama durur ve hemostaz sağlanmış olur. Ancak bu primer tıkaç koagülasyon mekanizmasının bir parçası olmayıp, damar ve trombositler arasındaki bir etkileşimin sonucudur. Kan subendotelyal kollajenle bir araya gelince Hageman faktörü aktive olur, trombositler granül depolarını boşaltarak degranüle olur, serotonin gibi maddeleri açığa çıkarır ve daha fazla trombositleri bir araya toplar. Trombositler ayrıca trombosit kökenli büyüme faktörü, serotonin, PAF (Platelet activating factor), adenozin difosfat, tromboxan A2 açığa çıkarırlar. Özellikle PDGF (Platelet derived growth factor) fibroblastlar için kemoatraktan olup, yeni damarlanma için uyarıcılık yapar. Trombositler böylece onarımı başlatacak mekanizmayı da harekete geçirirler.

Primer hemostatik tıkaç içinde trombositlerin kümelenmesiyle koagülasyon sistemi aktive edilmiş olur. Çünkü bu geçici tıkaç her zaman kanamayı kontrol edemeyebilir. Pıhtılaşma faktörleri protrombini trombine, fibrinojeni fibrine çevirirler. Stabil pıhtı meydana gelir, hemostaz sağlanmış olur.

Enflamasyon fazı yara iyileşmesinin temel fazıdır. Yüksek vasküler permeabilite, kan hücrelerinin yara ortamına kemotaksisi, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin lokal serbestleşmesi ile karakterizedir. Birkaç dakika içinde trombosit faktörlerinin meydana getirdiği vazokonstrüksiyon ortadan kalkar, küçük damarlarda vazodilatasyon başlar. Hageman faktörü, bradikinin, C3a ve C5a anaflatoksinlerinin ortaya çıkmasına öncülük eder. Bunların vazodilatatör etkileri lokal kan damarı permeabilitesini artırarak plazma proteinlerinin sızıntısına ve ekstrasvasküler pıhtı oluşumuna neden olurlar. Bu kompleman bileşikleri ayrıca mast hücrelerinden C4 ve D4 lökotrienleri ve histamini serbestleştirirler. Histamin, serotonin ve sitokinler gibi vazoaktif maddeler damar

permeabilitesini artırarak kan plazmasının eksüdasyonuna sebep olurlar. Vazoaktif maddelerin etkisiyle yara çevresinde lokal asidoz ve ödem gelişir. Doku sıvısının birikmesiyle oluşan akışkan ortamda fibrositler fibroblastlara dönüşür. Oksijen azlığı ve yüksek karbondioksit basıncıyla meydana gelen lokal asidoz katabolizmayı artırır. Ödem ortamında ayrıca toksik maddelerin dilüsyonu sağlanır.

Nötrofiller kemotaktik uyarıların etkisiyle yaralanma bölgesine gelen ilk hücrelerdir ve travmayı takiben 6 saat sonra yarada görülürler. İlk 3 gün boyunca yarada hakim olan nötrofillerin, nonspesifik savunma sistemi elemanı olarak yara yüzeyindeki ana görevleri bakterilerin fagositozu yoluyla yaranın sterilizasyonudur. Bu nötrofiller salgıladıkları proteazlar ile travmadan zarar görmüş hücre kalıntılarını, fagositozla yabancı cisimleri ve bakterileri temizlerler. Yarada enfeksiyon olması halinde nötrofil göçü ve fagositoz artar. Nötrofiller fagositoz yaptıktan sonra ölürler, makrofajlar tarafından fagosite edilirler ve yara eksudasının bir parçası olurlar. 2-3. günlerde yara yüzeyinde monosit hakimiyeti başlar. 3-5. günlerde makrofajlar yarada hakim hücreler olup, doku artıklarını temizler. Granülasyon dokusu oluşmaya başlar. Makrofajlar fagositik hücreler olup, yara temizliği yanında proliferatif fazda granülasyon dokusunun oluşumu ve yayılması için çok sayıda aktif biyolojik madde de salgırlar. Bu biyolojik maddeler şunlardır: kollajenaz, TNF, IL-1, IL-6, CSF, PAF, INF-alfa, TGF-alfa ve beta, araşidonik asit metabolitleri, PDGF. Bu maddeler daha sonraki doku gelişimi ve farklılaşması safhalarında uzun süre etki göstereceklerdir. Monosit ve makrofajların azlığı veya kaybı fibroblast fonksiyonunda gecikme ve yetersiz anjiogenezis sebebiyle yara iyileşmesinde şiddetli değişikliğe yol açar. Enflamatuvar faz boyunca yara gerilme gücüne dayanıklı değildir (7,8).

## **2-Proliferasyon fazı (5-14. günler)**

Bu faz fibroplazi, granülasyon, yara kontraksiyonu ve epitelizasyon ile karakterizedir. Fibroplazi safhasında kollajen sentezi ve anjiogenezis meydana gelir. Bu safhada etkin hücreler fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleridir. Büyüme faktörleri sahnededir ve kolajen birikimi başlamıştır. Bu safhada yaranın gerilme gücünde belirgin bir artış söz konusudur.

Proliferatif faz, fibrin ve fibrinojen matriksinin çöküntüsü sonrası fibroblastların artıp aktifleşmeleriyle (fibroplazi) başlar. Fibroblastların ana foksionu kollajen sentezidir ve bu sentez daima yaralanmanın 2. günü başlar. Bu aktivite en fazla 5-7. günlerde belirgindir. Fibroblastlar aynı zamanda proteoglikan üretirler. Bu safhada granülasyon dokusu oluşumu şeklinde oldukça fazla miktarda hücre ve hücreler arası madde artışı görülür. Bu doku makrofajlardan, perisitlerden, fibroblastlardan, mast hücrelerinden ve kapiller damarların içini döşeyen endotel hücrelerinden meydana gelen oldukça vasküler bir yapı olup fibronektin, hyaluronik asitten zengin, proteoglikanlardan ve başlangıçta çoğunluğu tip 3 iken tip 1'e dönüşen kollajenden oluşan bir dokudur. Granülasyon dokusunun tek damar tipi kapillerlerdir. Granülasyon dokusu terimi yumuşak, pembe, granüllü gros görünümünden türetilmiştir. Granülasyon dokusu aynı zamanda rejenere olan epiderminin yer değiştirerek skar dokusunun üzerinde yavaş yavaş karşı tarafa doğru göç ettiği besleyici bir madde özelliğindedir.

Anjiogenezis proliferatif fazın önemli bir parçasıdır ve yara iyileşmesinin sonuna kadar devam eder. Anjiogenezis olmadığında oksijen ve besin olmayacağı için yara yatağının makrofaj ve fibroblastlarla invazyonu olmayacaktır. Çeşitli faktörler anjiogenezisi uyarır fakat en önemlileri temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörüdür (VEGF). Her iki faktör de çeşitli stromal hücrelerden salgınır fakat reseptörleri büyük ölçüde endotel hücrelerinde bulunur, özellikle VEGF'nin reseptörleri sadece endotel hücrelerinde bulunur (7,8).

Zamanla açık yaralar, kasılabilen modifiye fibroblastlar olan miyofibroblastların kasılmasıyla kendini kapatmaya çalışır. Granülasyon dokusu oluşuktan sonra yaranın kenarları merkeze doğru çekilmeye başlar. Yara yüzeyinin büzülerek küçülmesine yara kontraksiyonu denir. Yara kontraksiyonu, yeni doku eklenmeksizin yara boyutlarını oldukça küçültür. Bu kapanma epitelizeasyondan daha hızlıdır. Bu sayede skar alanı da küçülmüş olur.

Yara kontraksiyonundan fibroblastların ürettiği miyofibroblastlar sorumludur. Bunlar fibroblast benzeri hücreler olup, düz kaslarda bulunan aktin ve mikrofamentleri ihtiva ederler. Miyofibroblastlar yaraya TGF-beta aracılığıyla çekim gücü uygulayarak yara alanının %45'ine kadar yara boyutlarını küçültürler. Yara kontraksiyonu genişliğine, derinliğine ve uzunluğuna meydana gelerek



defekti her yönde küçültür. Yara kontraksiyonu epitelizasyon tamamlanıncaya kadar devam eder.

Epitelizasyon; keratinositlerin derinin alt katmanlarında bölünerek çoğalması ve granülasyon dokusunun üzerini örtmesidir. Yara kenarlarında ve deri eklerinde yaralanmadan 24 saat sonra reepitelizasyon başlar. Yüzeysel yanık veya abrazyonlar gibi yaralarda epitel hücreleri ter bezleri ve saç foliküllerinden daha hızlı yayılır ve 10-14 gün arasında tüm yara yüzeyini kapatır. Derinin tam tabaka kaybolduğu yaralarda epitel hücreleri ancak yara kenarlarında çoğalarak göç edeceğinden bu epitelizasyon yavaş olur (7,8).

### **3-Yeniden şekillenme (matürasyon) fazı**

Başlangıçtaki skar oluşumu sırasında proliferasyon ve neovaskularizasyonun sona ermesiyle yeniden şekillenme fazı başlar. Yara iyileşmesinde inflamatuvar ve proliferatif fazlarının iç içe geçip örtüştüğü gibi matürasyon ve proliferasyon fazlarında da birçok olay içi içe geçer. Bu faz sırasında hücreden yoğun yüksek vaskülaritesi olan granülasyon dokusu, daha az hücre ve damardan oluşan skar dokusu ile yer değiştirir. Fibroblastlar ve makrofajlar kaybolur. Fazla kollajen yok olur. Primer iyileşen bir deri yarasında 21. günde kollajen sentezi durur ve fazla kollajen kaybı başlar. Erken dönemde görülen amorf kollajenler giderek yara kenarlarında yer alan küçük fibrilli kollajen ağlarına dönüşür. Yeniden şekillenme kollajen değişimi, fibroblast, fibrin çekilmesi ve intermoleküler bağların artması gibi safhalardan oluşur. Bağ dokusu temel maddesindeki fibronektinler azalır ve skar dokusunun gerilme kuvvetini artıran Tip 1 kollajen liflerinin birikimi ve aralarında oluşan ara bağlar artar. Yara yatağındaki granülasyon dokusunda randomize şekilde oluşan kollajen fibrilleri yavaş yavaş fibriler yapı oluşmadan büyük düzensiz kitleler halini alır. Sonraları fibrillerin yönü daha belirginleşir ve güçleri artar. Birkaç ay sonra matür skar dokusu oluşur. Skar dokusu normal dokudan daha zayıf ve daha az elastiktir. Epitel hiçbir zaman normale dönmez ve daha incedir. Kıl folikülleri ve salgı bezleri gibi deri eklerine sahip değildir. Yaranın yeniden şekillenmesi aylarca hatta yıllarca sürebilir. Yarada zamanla meydana gelen değişiklikler yaranın gerilim kuvvetini artırmaktadır. Deri ve fasyaların 2. haftada %5 olan yara gerilim kuvveti matüre skar oluşunca %80'e kadar çıkabilir. Fakat elastikiyet ve absorpsiyon gibi özellikler normale dönmez.

Bütün bu safhaların sonunda yaralarda morfolojik olarak üç ana özellik sağlanarak yara iyileşmesi tamamlanmış olur: Yara kontraksiyonu, epitelizasyon ve bağ dokusu birikimi. Yaralanmayla dokuda meydana gelen doku hasarının durumuna bağlı olarak iyileşme mekanizmalarında değişiklik olmaksızın bu üç sonuç karakterlerinden bir tanesi daha fazla ön plana geçebilir: parmak amputasyonunda kontraksiyonun, intraabdominal bölgede serozal yüzeylerin hasarlanması sonrası fibrozisin, yüzeysel doku kaybında epitelizasyonun, primer sütürle kapatılan cerrahi yaralarda bağ dokusu birikiminin daha fazla olması gibi (7).

### **Yara iyileşmesinin tipleri**

- 1- Primer yara iyileşmesi
- 2- Sekonder yara iyileşmesi

#### **1-Primer yara iyileşmesi**

Temiz ve düzgün kesilmiş yara kenarlarının cerrahi dikişlerle yara dudaklarının karşılıklı getirilerek en az skar dokusuyla komplikasyonsuz iyileşmesidir. Yara kapatıldığı için sınırlı boşluk fibrin ile dolar. Fibrinöz yapışma 24 saatte olur. 24-48 saatte epitel dokusu altta oluşan skar dokusunu örter. Yara kontraksiyon fenomeni ön planda değildir.

#### **2-Sekonder yara iyileşmesi**

İnfarktüs, iltihabi reaksiyon, apse oluşumu, sütür konulmadan açık bırakılmış kirli yaralar ya da enfeksiyon, nekroz gibi nedenlerle sütürleri alınarak kenarları birbirlerinden ayrılmış cerrahi yaraların iyileşmesi bu gruba girer. Yara iyileşmesi fazları aynı olmakla birlikte proliferasyon fazı fazla sürer. Sekonder iyileşmede hücre ve doku kaybı daha şiddetli olduğu için onarım olayı daha karmaşıktır. Bu yaraların iyileşme süreleri yaranın derinliğine ve kenarların birbirine uzaklığına bağlıdır. Bu durumlarda parankim hücre rejenerasyonu tek başına orijinal yapıyı restore edemez ve aşırı granülasyon dokusu gelişimi olur. Granülasyon dokusu 2-3 hafta sonra yara kenarları hizasına gelince üzeri epitelize olur ve skar epiteli ile örtülür. Bu yaraların gerilme kuvveti daha düşüktür ve travmaya daha az dayanıklı olurlar.

Sekonder iyileşme çeşitli yönleriyle primer iyileşmeden farklıdır. Sekonder iyileşen yaralarda doku defekti büyüktür ve ortamdaki uzaklaştırılması gereken büyük miktarda nekrotik artık, eksuda ve fibrin bulunur. Sonuçta iltihabi

reaksiyon daha yoğundur, iltihap bağımlı sekonder zedelenme potansiyeli yüksektir. Granülasyon dokusu volümü yüksektir ve daha fazla skar dokusu oluşur. Sekonder iyileşme yara kontraksiyonu fenomeni ile sonuçlanır. Örneğin büyük deri defektlerinde 6 hafta içinde kontraksiyonla yara orijinal boyutlarının %5-10 kadarı küçülür.

Üçüncü tip olarak kabul edilebilecek bir yara iyileşmesi şeklide geciktirilmiş primer kapatmadır, bazen bu tip iyileşmeye *tersiyer yara iyileşmesi* de denir. Kirli, nekrotik, enfekte yaralar belli bir süre açık bırakılır. Nekroz temizlenip, enfeksiyon kontrol altına alındıktan ve bir miktar granülasyon dokusu geliştikten sonra tekrar suture edilerek yara kapatılır.

Yara iyileşmesinde çeşitli etkilerle normal hücre büyümesi ve fibrozis değişikliğe uğrayarak sıklıkla onarım olayında kalite ve yeterliliğinde azalmayla sonuçlanır ve istenmeyen sonuçlara neden olabilir. Bu faktörler zedelenen dokunun kendi özelliklerine (intrensek) veya enfeksiyon gibi ekstrensek faktörlere bağlı olabilir.

Zedelenmenin yerleşimi veya zedelenmenin olduğu dokunun karakteri önemlidir. Örneğin; serozal boşluklardaki iltihaplarda (plevra, periton, sinovyal aralık) aşırı eksuda birikir. Sonuçta onarım lökositlerin proteolitik enzimleri ile başlayan eksudanın eritilmesi ve likefiye eksudanın rezorbsiyonu ile sağlanır. Bu rezolüsyon olarak adlandırılır ve hücre nekrozu yoksa normal doku yapısı genelde yeniden oluşur. Buna karşın büyük birikimlerde eksuda organizasyona uğrar, granülasyon dokusu eksuda içine ilerler ve fibröz skarlarla sonuçlanır. Bu da adezyon denen yapışıklıklara ve brid denilen fibröz bantlara neden olarak klinik problemler oluşturur (1,7,8).

## **PERİTONEAL ADEZYONLAR**

Peritoneal adezyonlar karın içi organlar arasında veya karın içi organlarla karın duvarı arasındaki fibröz bantlardır. Adeziv bantlar ince bir film şeklinde olabileceği gibi damar içeren kalın fibröz bağlar da olabilir. Adezyonlar mezotelyumu hasarlanmış iki yüzey arasında olabileceği gibi, hasarlı bir yüzeyle normal bir yüzey arasında da olabilir (1).

Peritoneal adezyonlar birçok klinik sorunlara neden olmaktadır. İncebarsak obstrüksiyonları, kronik pelvik ağrı, infertilite, karın ağrısı, sonraki cerrahi

girişimlerde intraoperatif komplikasyonlara yol açabilmektedir. İncebarsak obstrüksiyonunun ilk sırada gelen nedeni adezyonlar olup, geliştiğinde klasik ileus semptomları ve bulguları ortaya çıkar, abdominal distansiyon, bulantı-kusma, kramp tarzında karın ağrısı, gaz-gaita çıkaramama, dehidratasyon bulguları ve elektrolit imbalansı gelişir. Adezyon gelişen kişilerin bir kısmında parsiyel ileus bulguları olur, kramp tarzında ağrı, şişkinlik, gaz gaita alışkanlığında değişiklikler, zaman zaman konstipasyon zaman zaman diyare olur. Pelvik cerrahi sonrası gelişen adezyonlar uterusu, overleri, tuba uterinaları ve mesaneyi tutabilir. PID (Pelvic Inflammatory Disease) adezyon gelişmesine neden olabilir. Bu yapışıklıklar infertilite ve ektopik gebeliğe neden olabilir. Kadınlarda görülen kronik pelvik ağrının 1/3'ü adezyonlara bağlıdır. Overler ve tüplerin adezyonla tutulmasına bağlı olarak %15-20 oranında infertilite görülür. Bununla birlikte peritoneal adezyon gelişen hastaların çok azında klinik problemler ortaya çıkar, çoğunlukla sessiz seyredeler (9,10).

İntraabdominal adezyonlar çoğunlukla peritoneal hasarlar sonrası gelişir. Ya öncesinde geçirilmiş abdominal bir cerrahi ya da intraabdominal enfeksiyon vardır. Postmortem çalışmalarda intraabdominal adezyonu olan kişilerin %67'sinde daha önce geçirilmiş abdominal cerrahi, %28'inde intraabdominal enfeksiyon olduğu görülmüştür. Bir başka çalışmada otopsi sonuçları şu şekilde bulunmuştur: Multipl cerrahi geçirenlerde yapışıklık %90, bir jinekolojik cerrahi geçirenlerde %70, apendektomi geçirenlerde %50, cerrahi öyküsü olmayanlarda yapışıklık oranının % 20'den fazla olduğu görülmüştür. İntraabdominal adezyonlar özellikle incebarsaklarda obstrüksiyona neden olabilirler, özellikle ileumu etkilerler. İncebarsak obstrüksiyonları özellikle alt abdomen cerrahisi sonrası görülür. Rektal cerrahi, sağ hemikolektomi, total kolektomi sonrasında 1 yıl içinde incebarsak obstrüksiyonu gelişme riski %11'dir, bu risk 10 yıl içinde %30'a çıkar. Adezyonlar kadında kronik karın ağrısı ve pelvik ağrıya, infertiliteye neden olabilirler (1).

İncebarsak obstrüksiyonunun etyolojisinde, %75'in üzerinde daha önce geçirilmiş abdominal cerrahi sonrası gelişen adezyonlar vardır. Bir kez laparotomi geçirmiş olanlarda hayat boyunca incebarsak obstrüksiyonu gelişme insidansı %5'den fazladır. Adezyona bağlı incebarsak obstrüksiyonlarında adezyolizis sonrası tekrar obstrüksiyon gelişme riski %25-49 arasındadır (11). Geçirilen cerrahi

sayısı arttıkça adezyonlar da artar. Strangülasjonsuz obstrüksiyonlarda perioperatif mortalite oranı %5'den azdır, ölümlerin çoğu komorbidite faktörleri belirgin olan yaşlı hasta grubundadır. Adezyona bağlı incebarsak obstrüksiyonu gelişen kişilerin %10'unda sıkı fibröz bağlar barsaklara bası yaparak beslenmeyi bozar, bu durumda barsakta nekroz gelişir. Bu durum acil cerrahi gerektiren bir problemdir. Strangülasyonlu obstrüksiyonlarda perioperatif mortalite %8-25 arasındadır. Geçirilmiş abdominal cerrahi sonrası insizyon hattı boyunca gelişen yapışıklıklar tekrar cerrahi gerektiğinde karına girerken organ yaralanmalarına sebep olabilir. Orta hat insizyonlarda yapışıklık daha fazla olmaktadır. Adezyon gelişen bir karında herhangi bir nedenle yapılan cerrahi sırasında dikkatsizlik sonrası yanlışlıkla enterotomi yapma oranı %19'lara kadar yükselebilir (12).

Adezyon formasyonu, cerrahi sonrası, termal veya iskemik hasar sonrası, enflamasyon, endometriozis, künt karın travmaları, abdomene uygulanan radyoterapi, intraabdominal kemoterapi, CAPD uygulamaları ve yabancı cisimlere bağlı peritoneal yüzeylerde hasar olduğunda ortaya çıkar. Bu hasarlar mezotelyal örtüde ve altındaki destek dokuda bozulmaya neden olurlar. Hasara cevap olarak enflamasyon gelişir. Enflamasyonla birlikte hiperemi, sıvı eksüdasyonu, lökositlerde ve trombositlerde aktivasyon, sitokinlerin salınımı, koagülasyonun başlaması ve kompleman kaskadının aktivasyonu söz konusudur.

Peritoneal iyileşme deri iyileşmesinden farklıdır. Deride epitelizasyonun süresi yaranın genişliğine göre değişir. Oysa peritonda defektin genişliğine bağlı olmaksızın mezotelyum defektif alanı pariyetal peritonda 5-6 günde, viseral peritonda 5-8 günde kapatır (13). Normalde peritoneal kavitede az miktarda bulunan peritoneal sıvı makrofajları ve fibrinojenden zengin plazma proteinlerini içerir (14).

Adezyon gelişiminde anahtar rolü oynayan peritonun yüzeyel tabakasıdır. Serozadaki mezotel hücreleri hasarlanıp alttaki bağ doku ortaya çıkınca eksudasyon başlar. Hasarlanmış yüzeyler arasında fibrin birikimi olur. Bu birikimler sıklıkla geçicidir, proteazlar ve fibrinolitik sistem bu fibrinleri ortadan kaldırır. Fibrinler genellikle 72 saat içinde fibrinolitik aktivite ile parçalanmakta ve 5. günde büyük oranda fibrin parçalanması tamamlanmaktadır (15). Mezotelyal hücreler normalde plazminojen aktivatör aktivitesine sahiptirler, yani fibrinolitik etkisi vardır. Eğer ilk 72 saat içinde gelişen yumuşak adezyonlar parçalanamazsa

ilk hafta sonunda gelişen adezyon mature olmaya başlar ve 2 hafta içinde dens ve vasküler adezyonlar gelişir. Fibrin oluşumu normal yara iyileşmesi için gerekli bir basamaktır, fakat bu fibrinin zamanı gelince parçalanması gerekir (1).

Peritoneal kavitede, cerrahi ve peritonitin fibrinolitik ve inflamatuvar kaskad üzerine etkilerini anlamak için birçok araştırma yapılmıştır. Peritoneal sıvı ve sağlıklı mezotelyal hücreler fibrinolitik aktiviteye sahiptirler. Normal onarım sırasında öncelikle fibrin, fibrinolitik bir proteaz olan plazminle parçalanmaktadır. Plazmin; plazminojen aktivatörleri olan t-PA ve UPA ile plazminojenin aktif hale dönüştürülmesiyle oluşur. Normal mezotel hücreleri t-PA salgılama yeteneğine sahiptirler (1).

Abdominal cerrahi sonrası başlangıçta t-PA düzeyleri düşmekte daha sonra da plazminojen aktivatör inhibitörleri artmakta böylelikle peritoneal sıvıda fibrinolitik aktivite azalmaktadır. Mezotelyum hasarlanınca ortaya çıkan enflamatuvar hücreler plazminojen aktivatör inhibitörleri imal ederler. Plazminojen aktivatör inhibitörleri arasında çeşitli sitokinler yer alır: TNF-alfa, IL-1, IL-6 gibi (1).

Mezotelyal defektlerin iyileşmesi sırasında ilk 48 saat boyunca mezotel hücrelerindeki fibrinolitik aktivite azalmakta fakat daha sonra normalden daha fazla aktivasyon göstermektedir (16). Mezotelyal defekt ilk 48 saat içinde iyileşmeye başlayınca fibrinolitik aktivite geri döner. Fibrinolitik aktivite normal düzeye ulaşsa bile ortamdaki fibrin depozitleri fazla ise denge fibrinolitik sistem aleyhine olduğu için adezyonların gelişmesine mani olunamaz. Fibrinolitik aktivite yetersiz kaldığında adezyonlar gelişir. Adezyonlar matur fibroz bantlardır, kollajen, elastin fiberler ve kan damarları içerir, mezotelyal hücrelerle kaplıdır.

Adezyonu önlemek ya da azaltmak için iki önemli strateji vardır. Cerrahi travmayı minimize etmek bunlardan birincisidir. Dikkatli ve özenli cerrahi yapılmalıdır. Gereksiz diseksiyonlardan kaçınılmalı ve organlar mümkün olduğunca az ellenmelidir, cerrahi sırasında dokuların kurumaması engellenmelidir, koter, lazer kullanımını sınırlı tutulmalı, ekartörler kaba kullanılmamalıdır, pudrasız eldiven kullanılmalı, kavite içinde yabancı cisim kalmamasına dikkat edilmelidir. Laparoskopik cerrahi alternatifi değerlendirilmelidir, bu teknikle doku travması azaldığı ve dokular ellenmediği için adezyonlar azalır. Bir çok çalışma

ile laparoskopik cerrahi sonrası adezyon gelişiminin laparotomiye göre daha az olduğu gösterilmiştir. Buna rağmen laparoskopik cerrahi sonrasında dahi adezyon gelişimi önemli bir problem teşkil edebilir. Bir çalışmada laparoskopik pelvik cerrahi geçiren kadınlarda periaadneksiyal yapışıklıkların %72 oranında görüldüğü saptanmıştır (17). İkinci seçenek adezyon oluşmasına neden olan inflamatuvar kaskadı kırarak farmakolojik ajanların kullanımı veya bariyer membranların ve jellerin kullanımı olabilir.

## MELATONİN

Melatonin veya N-asetil-5-metoksitriptamine pineal glandın sekrete ettiği esas maddedir. Melatonin 1958’de Aaron B Lerner tarafından tanımlanmıştır (18). Günümüzde melatonin’in sirkadiyan ritmin biyolojik regülasyonunda, uyku, mizaç, üreme, tümör büyümesi ve yaşlanma sürecinde etkili olduğu bilinmektedir.

### **FİZYOLOJİ VE FARMAKOLOJİ**

İnsanlarda pineal gland beynin merkezinin altında, 3. ventrikülün arkasındadır. Bu bez iki tip hücreden oluşur; pinealositler ve nörolojik hücreler. Pinealositler baskın olan hücrelerdir, bunlar indolaminleri (çoğunlukla melatonin) ve peptidleri (arginin gibi) salgılar.

Pineal beze nöronal bilgiler norepinefrin ile gelir, melatonin ile çıkar. Melatonin salınımında egemen olan kontrol sistemi çevresel aydınlık-karanlık siklusudur. Melatonin sentezi karanlıkta stimüle olurken aydınlıkta inhibe olur. Gündüz saatlerinde az miktarda sentezlenir, karanlıkla birlikte salınımı ve sentezi artmaya başlar (19). Işık ile retinadaki reseptörler uyarılmakta buradan kalkan uyarılar hipotalamusta suprakiazmatik nukleuslara ulaşmakta, uyarı buradan spinal kordta üst torasik segmentlere ulaşmakta, buradan superior servikal sempatik ganglionlara ulaşmakta ve buradan da pineal glanda ulaşarak melatonin sekresyonunu düzenlemektedir. Sempatik inervasyonun intakt olması melatonin ritminde önemlidir. Nöropati sonrası sempatik inervasyonun bozulduğu diyabetik hastalarda 24 saatlik melatonin değerleri düşüktür ve gece görülen pik değer belirgin olarak düşüktür (20). Pinealositlerde sempatik sinir uçları sonlanır, bu uçlardan noradrenalin salgılanır, beta adrenerjik reseptörler uyarılır, bu uyarı triptofan alımına neden olur, triptofandan serotonin oluşur, serotoninden de melatonin sentezlenir. Bu sentez basamaklarında bir çok enzim rol alır (21). Sempatik inervasyon yanında pineal gland santral sinir sisteminin farklı bölgelerinden de sinir

uçları alır. Bu sinir uçları aracılığıyla beyin muhtemelen pineal gland üzerinde düzenleyici rol oynamaktadır (22). Melatonin pasif difüzyonla kan dolaşımına geçer. Hidrofilik ve lipofilik yapısından dolayı bütün membranları kolayca geçebilir. Plazmada yaklaşık %70 dolayında albumine bağlanır. Sekresyon artışı gecenin başlangıcında başlar ve gece yarısı saat 1-2 arası pik değerine ulaşır, gecenin kalan saatlerinde yavaş yavaş azalır ve gündüz saatlerinde sentez ve salınımı daha da düşer. Serum melatonin değerleri yaşla uyumlu olarak değişiklikler gösterir. 3 aydan küçük çocuklarda çok az salınır. Melatonin'in sekresyon artışı sirkadiyan ritmin başladığı 2-3 yaş arasında pik değere ulaşır (325 pg/ml- 400pmol/l), sonra tedricen azalmaya başlar. Genç erişkinlerde gün içi ve gece değerleri 10-60 pg/ml veya 40-260 pmol/l'tir (23).

Melatonin'in sirkadiyan ritimde sekresyonunun endojen orijini suprakiazmatik nükleustan kaynaklanan sinyallerdir (24). Gün boyunca retinal fotoreseptörler hiperpolarizedir ve bu durum norepinefrin salınımını engeller. Karanlıkla beraber fotoreseptörler norepinefrin salgılar böylece sistem aktive olur ve melatonin salınımı başlar (20).

Melatonin hızla metabolize olur. Esas olarak karaciğerde hidroksilasyon ile metabolize olur, sülfürik asit (%60-70) veya glukuronik asitle (%20-30) konjuge olduktan sonra idrarla atılır. Melatonin'in esas metaboliti idrarla atılan sülfoksimelatoninidir (25). Melatonin intravenöz olarak hızla dolaşımda dağılır ve elimine olur ( $t_{1/2}$ : 0,5-5,6 dk) (26). Oral alındığı zaman yarılanma süresi 45 dakikadır. Genel olarak endokrin aktivasyonlar üzerinde bariz bir etkisi olmamakla birlikte, farmakolojik dozlarda LH konsantrasyonunda azalma, prolaktin konsantrasyonunda artış yaptığı rapor edilmiştir (27,28).

Membranlara bağlı iki ayrı grup melatonin reseptörü bulunmuştur. ML1 (yüksek afiniteli-pikomolar) ve ML2 (düşük afiniteli-nanomolar). ML1 reseptör aktivasyonu ile G-protein uyarılır, sonuçta hedef hücrede adenilat siklaz aktivasyonu inhibe olur. ML2 reseptör aktivasyonu fosfoinozidid hidroliz stimülasyonu yapmaktadır. PCR yöntemi ile memelilerde ve insanlarda ML1 reseptörünün ML1a ve ML1b adı verilen iki alt formunun olduğu gösterilmiştir (29,30). Melatonin intrasellüler alanda sitozolik kalmodulin yoluyla direkt kalsiyuma bağlı sinyalleri etkilemekte ve adenilat siklaz-fosfodiesteraz gibi hedef enzimleri ve yapısal proteinleri etkilemektedir (31).

Otoradyografik ve radyoreseptör çalışmaları ile melatonin reseptörlerinin farklı organlarda olduğu gösterilmiştir. Beynin değişik bölgelerinde (32), overlerde (33),



barsaklarda (34), ve kan damarlarında (35) olduğu gösterilmiştir. Non-nöronal melatonin reseptörleri (pitüiter bezin pars tuberalisi gibi) muhtemelen üreme fonksiyonları, periferel dokulardaki reseptörler (örneğin arterler) kardiyovasküler regülasyon ve vucut ısısının ayarlanması üzerinde etkili olabilir.

### **UYKU VE SİRKADİYAN RİTİM**

İnsanlarda melatonin salgılanmasının alışılmış 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 (36,37). İnsanlarda 24 saatlik melatonin sekresyonu karanlık saatlerin daha fazla olduğu kış aylarında yaz aylarına göre daha yüksektir. Melatonin'in mevsimsel değişikliklerle sekresyonunun değişmesi mevsimsel depresyonların (kış depresyonu gibi) patofizyolojisinde rol alabilir (38).

### **SERBEST RADİKAL SÜPÜRÜCÜLÜĞÜ (ANTIOKSİDAN ETKİSİ)**

İnvitro (39) ve invivo (40) çalışmalarda melatonin'in yüksek toksik hidroksil radikali ve oksijen kaynaklı diğer radikalleri temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu etkiye aracılık eden reseptörler bilinmemektedir. Bir çalışmada melatonin'in bilinen antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, vit E, vit C gibi) daha etkili olduğu gösterilmiştir (41). Antioksidan etkinin görülebilmesi için melatonin konsantrasyonunun gece yarısı görülen pik değerinden çok daha yüksek olması gerekmektedir. Bundan dolayı insanda antioksidan etkinin görülebilmesi muhtemelen sadece farmakolojik dozlarda olmaktadır.

### **İMMUN SİSTEME ETKİSİ**

Melatonin'in tümör büyümesini inhibe edici, strese bağlı immunodepresyonu giderici etkisi vardır (42). Fare çalışmalarında gösterilmiştir ki melatonin kemik iliğinde T-helper hücrelerinde IL-2, IL-4 yapımını artırmakta ve stromal hücrelerde granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör yapımını artırmaktadır (43), bunun yanında kemik iliği hücrelerini apoptozise karşı korumaktadır (44). T lenfositlerde (CD-4), yüksek afiniteli melatonin reseptörü bulunmuştur fakat B lenfositlerde melatonin reseptörü yoktur (45).

## SEKSÜEL MATÜRASYON VE ÜREME

Değişik türlerde üreme performansını melatonin'in etkilediğini gösteren çok sayıda delil vardır. Bazı türlerde melatonin antigonadotropik etki göstermekte ve sonuçta mevsimsel değişiklikler gonadal fonksiyonları etkileyerek mevsimsel üreme periyotları ortaya çıkarmaktadır. Günlerdeki karanlık saatlerin sayısının değişmesi melatonin sekresyonunu etkilemekte bu da üreme aktivitesini etkilemektedir. Örneğin hamsterlerde üreme sistemi uzun karanlık periyotlarda inhibe olmaktadır (46). İnsanlarda mevsimsel değişim yoktur. Bununla birlikte epidemiyolojik çalışmalarda değişik coğrafi alanlarda dölleme ve doğum oranlarında mevsimsel dağılım gözlenmiştir (47). Kuzey kutbunda hayat boyunca yaşayanlarda hipofizer-gonadal fonksiyon ve dölleme oranları karanlık kış aylarında yaz aylarından daha düşüktür (47,48).

Melatonin eksikliği hipofizer-gonadal fonksiyonu aktive edebilir. Pubertenin başlamasında, çocuğun büyümesiyle puberte dönemine doğru melatonin salınımının daha da düşmesi rol alıyor olabilir. Adolesan dönemde geceyarısı serum melatonin değerleri çocukluk dönemine göre progressif olarak düşmektedir. Puberte prekoks olan bazı çocuklarda, aynı yaştaki çocuklara göre melatonin seviyeleri daha düşüktür (49). 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 (50). Bu bulgular melatonin'in pubertenin zamanlaması üzerinde etkisi olduğu hipotezini desteklemektedir.

Serum melatonin konsantrasyonu hipotalamik amenorede atmaktadır (51). Bu ve benzeri bulgular melatonin sekresyonundaki değişikliklerin seks steroidlerinin yapımını etkileyebileceği fikrini desteklemektedir. Bir çalışmada sağlıklı genç kadınlarda oral melatonin verilmiş ve siklus ortasında LH sekresyonunda ve ovulasyonda inhibisyon görülmüştür (52). Melatonin sentetik progesteron ve norothesterone ile birlikte kontraseptif olarak verilmiş ve sinerjik etkisinin olduğu görülmüştür. Melatonin hipotalamo-hipofizer-ovaryan aksı suprese etmekte, hipotalamik pulsatil GnRH salınımını değiştirmekte, muhtemelen LH'in hipofizer salınımını ve sentezini etkilemekte ve ovaryuma direkt etki ile kontraseptif etki göstermektedir (53).

Melatonin overlerin fonksiyonlarının modülasyonunda direkt etki ediyor olabilir. Ovaryan foliküler sıvı melatonin içerir ve granülosa hücrelerinin membranları melatonin reseptörü taşır (33).

## **YAŞLANMA**

Yaşlanmayla birlikte geceyarısı serum melatonin seviyesi düşmektedir, bu beraberinde birçok biyolojik etkileri getirmektedir (54). Melatonin antioksidan etkisi ve immun sistemi detekleyici etkisi ile hücreleri hasarlanmadan koruyarak yaşlanmaya karşı koruyucu etki gösteriyor olabilir. Bununla birlikte yaşlanmaya sekonder melatonin seviyesini düşüyor, yoksa melatonin seviyesinin düşmesi sonrası yaşlanma sürecimi başlıyor sorusunun cevabı henüz yoktur. İnsanlarda yaşlanmaya karşı koruyucu etkisinin olduğuna dair çok net bulgular yoktur.

## **KANSER**

Deneysel çalışmalarda melatonin'in hayvanlarda tümör büyümesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Pinealektomi sonrası tümör büyümesi artmış, aynı hayvanlara melatonin verilmesi sonrası tümör büyümesinde inhibisyon görülmüştür (55). Bu etki antimitotik aktiviteye bağlı olabilir. Yine immunomodülatör etkisi ile kansere karşı koruyucu etkisi olabilir. T-helper kaynaklı IL-2 ve IL-4 yapımını artırır, kemik iliğinde apoptozisi engelleyerek kök hücrelerini korumaktadır ve granülosit-makrofaj koloni stimülan faktörlerinin yapımını artırmaktadır. Yine antioksidan etkisi onkostatik etkiye katkıda bulunabilir fakat bu etki farmakolojik dozlarda olur. Östrojen reseptörü pozitif olan meme kanserli kadınlarda ve prostat kanserli erkeklerde düşük serum melatonin konsantrasyonları ve düşük üriner ekskresyon tespit edilmiştir (56-58). Bir çalışmada glioblastomalı 30 hastanın 16'sına radyoterapi, melatonin kombinasyonu uygulanmış, 14'üne sadece radyoterapi uygulanmış ve ilk grupta daha uzun süreli sağ kalım elde edilmiştir (59). Bir başka çalışmada östrojen reseptörü pozitif meme kanserli 14 kadında tamoksifen tedavisine melatonin eklendiğinde hastalığın progresyonunun yavaşladığı görülmüştür (60). Yine bir çalışmada melatonin'in kemoterapi ve radyoterapiye bağlı kan hücrelerindeki hasarı azalttığı ve böylelikle tedaviye bağlı yan etkilere karşı tolerabiliteyi artırdığı gösterilmiştir (61).

Ratlarda yapılan bir deneysel çalışmada subkutan ve intraperitoneal verilen melatonin'in pelvik adezyonları azalttığı görülmüştür (4).

## **FOSFOLİPİDLER**

Fosfolipidler, fosfodiester köprüsü ile ya diasilgliserol ya da sfingozine bağlanmış bir alkolden oluşan polar ve iyonik bileşiklerdir. Membranların temel lipid yapıtaşları

fosfolipidlerdir. Yağ asitleri gibi fosfolipidlerde amfipatikler. Yani her biri hidrofilik bir başa (fosfat grubu ve ona bağlı serin, etanolamin, kolin v.s.) ve uzun hidrofilik bir kuyruğa (iki yağ asiti zinciri içerir) sahiptir. Molekülün hidrofobik bölümü membranların diğer polar olmayan bileşikleri (glkolipidler, protein ve kolesterol) ile birlikte bulunur. Fosfolipidin hidrofilik (polar) başı membranın dışına doğru uzanır. Membranlara bağlı olarak bulunmayan (membran dışı) fosfolipidlerin vücutta başka rolleri de bulunmaktadır (örneğin; safrada, akciğer surfaktanının yapısında, peritoneal sıvıda, plazmada lipoprotein partiküllerinde olduğu gibi).

İki sınıf fosfolipid vardır: molekülün omurgası olarak gliserolün yer aldığı fosfogliseridler ve sfingozin içeren sfingomyelin. Her iki sınıfta membranın bir bileşeni olarak bulunur, ancak gliserol içeren fosfolipidlerin vücutta ek olarak başka rolleri de vardır. Örneğin kolesterolün çözünebilmesinde yardımcı olan deterjan özellikleri bulunan safranin esansiyel bileşenidirler. Bazı proteinlerin hücre membranına tutunmasını sağlarlar, membran boyunca yayılan sinyal geçişinde yer alırlar ve akciğer surfaktanının bir bileşenidir (62).

### **FOSFOGLİSERİDLER**

Gliserol içeren fosfolipidler fosfogliserid olarak adlandırılırlar. Fosfogliseridler fosfolipidlerin ana sınıfını oluştururlar. Hepsinde fosfatidik asit (üçüncü karbonuna fosfat grubu bağlı diasilgliserol) içerirler. Fosfatidik asit en basit fosfogliseridtir ve bu grubun diğer üyelerinin öncül maddesidir. Bu grubun üyeleri şunlardır.

Fosfatidik asit (PA)

Fosfatidiletanolamin (PE)

Fosfatidilkolin (PC)

Fosfatidilserin (PS)

Fosfatidilinositol (PI)

Fosfatidilgliserol (PG)

Kardiyolipin

Plazmolojenler

PE ve PC ökaryotik hücrelerin çoğunda en çok bulunan fosfolipidlerdir. Dipalmitoilfosfatidilkolin akciğerde alveol yüzey gerilimini azaltan surfaktanın lipid kısmını oluşturur, surfaktan yetersizliğinde ölümcül seyreden hyalen membran hastalığı görülür. PI membranlarda araşidonik asit deposu olarak işlev görür ve böylece gerekli olduğu zaman prostoglandin sentezi için substrat sağlar. Membrana bağlı

polifosfoinositidlerin yıkımı hücre içi kalsiyum mobilizasyonu ve protein C kinaz aktivasyonuna neden olarak hücre içi sinyal iletiminde rol alır. Alkalen fosfataz, asetilkolin esterase, lipoprotein lipaz gibi proteinler membrana bağlı PI' ye bir karbonhidrat köprüsü aracılığıyla kovalen olarak bağlanabilir. PG mitokondri membranlarında göreceli olarak büyük miktarlarda oluşur ve kardiyolipinin bir öncül maddesidir. Kardiyolipin iç mitokondri membranının önemli bir bileşenidir ve antijenik olan tek insan fosfolipididir. Trombosit aktive edici faktör (PAF) yada 1-alfakenil-2-asetil-fosfatidilkolin bir plazmolojendir (62).

### **SFİNGOMYELİN**

Sfingomyelinin omurgası gliserol değil, aminoalkol olan sfingozindir. Sfingomyelin sinir liflerindeki myelinin önemli bir bileşenidir. Sfingomyelinler beyin ve sinir dokusunda büyük miktarda bulunurlar (62).

Fosfolipidler, peritoneal kavitede normalde bir miktar bulunan peritoneal sıvının komponentlerindedir. Peritondaki mezotelyal hücreler fosfolipid sentez ederler. Fosfolipidler periton yüzeyinde kaygan bir tabaka oluştururlar (63). Fosfolipidlerin ayrıca integrin fonksiyonu vardır, hücrelerin ekstrasellüler matriks elemanları ile bağlanması üzerinde etkileri vardır, özellikle eksojen verilen fosfolipidler hücre motilitesi üzerinde etkilidir (64,65). Fosfolipidlerin intraperitoneal kullanımı sonrası özellikle peritoneal yaralanmaların olduğu yüzeylerde peritoneal adezyonları belirgin olarak azalttığı görülmüştür (66,67).

İnsan gastrik tümör hücreleri ile yapılan in-vitro bir çalışmada tümör hücrelerinin peritoneal yayılımını belirleyen tip 4 kollajene, fibronektin ve laminine bağlanmasını belirgin olarak azalttığı görülmüş ve operasyon sırasında ve sonrasında intraperitoneal fosfolipid kullanımının dökülen hücrelerce oluşabilecek peritoneal yayılımı engelleyebileceği öne sürülmüştür (68). Yine ratlarda yapılan bir çalışmada peritoneal boşluğa kolonik tümör hücreleri enjekte edilmiş, sonrasında çalışma grubunda peritoneal boşluğa 75mg/kg dozundan fosfolipid verilmiş, 30 gün sonra tümör yayılımı ve tümör volümü değerlendirilmiştir. Sonuçta kontrol grubuna göre fosfolipid grubunda tümör yayılımının ve tümör volümünün belirgin derecede daha az olduğu görülmüştür (69).

## VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)

VEGF endotele özgü bilinen en güçlü angiogenik faktördür. Heparine bağlı homodimerik bir glikoproteindir, 45.000 dalton ağırlığındadır. Son yıllarda varlığı anlaşılan ve her geçen gün yapılan çalışmalarla moleküler yapısı, genetik haritası, fonksiyonları, rol aldığı süreçler daha iyi anlaşılan ve aktivitesi uyarılarak veya inhibe edilerek bazı hastalıkların tedavisinde yeni ufuklar açan bir büyüme faktörüdür.

Ferrara ve Henzel 1989'da sığır hipofizinde foliküler hücrelerden VEGF'yi ayırtmışlardır. 1989'da Ferrara ve Henzel sığırdaki buldukları VEGF'nin adrenal korteks endotelyal hücrelerde ve değişik endotelyal hücrelerde mitojenik olduğu fakat diğer hücrelerde mitojenik olmadığını göstermişlerdir (70). Leung ve arkadaşları 1989'da insan lökosit hücre grubunda VEGF'yi tesbit etmişlerdir. Leung ve arkadaşları 1989'da insan embriyonik böbrek hücrelerinde VEGF'yi ekspres etmişler ve hem insan hem sığır kaynaklı VEGF'nin kapiller endotelyal hücrelerde proliferasyonu başlattığını gösterilmişlerdir (71). 1991'de Tischer ve arkadaşları vasküler düz kas hücrelerinde VEGF'yi göstermişler ve vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak adlandırmışlardır (72). 1996'da, başkanlığını Ferrara'nın yaptığı araştırma grupları, VEGF'nin damar oluşumunda oynadığı hayati rolü açıkladılar. Yaptıkları deneylerde, iki VEGF geninden biri alınan farelerin kısa bir süre sonra yetersiz ve anormal kan damarı gelişimi nedeniyle öldüğünü belirlemişlerdir.

VEGF glikoprotein yapıdadır. VEGF ailesinin a.a.(aminoasit) sayıları farklı iyi bilinen 5 üyesi vardır; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve PlGF (placenta growth factor). Bu grubun prototipi olan VEGF-A'da 165 a.a.(aminoasit) vardır. B,C,ve D tiplerinde sırayla 121, 189, 206 a.a. vardır. Mattei ve ark. radyoaktif in-situ hibridizasyon ile VEGF'nin gen haritasını çıkarmışlardır: 6p21-12p (73).

VEGF fibroblastlar, osteoblastlar, makrofajlar ve tümör hücreleri gibi çok farklı hücrelerden salgılanmaktadır. FGF, PDGF gibi birçok polipeptid mitojenler farklı hücre tiplerini aktive ederler. Fakat VEGF sadece vasküler endotelyal hücreler için mitojendir. VEGF ve plasental büyüme faktörü endotel hücrelerinde biyolojik fonksiyonlarını iki tirozin kinaz reseptör aracılığıyla yapar; FLT-1 ve KDR/FLK-1. Ayrıca lefatik damarlarda FLT-4 adlı bir reseptör tesbit edilmiştir.

Bu faktör dokulardaki iskemi ve enflamasyona cevap olarak sekrete edilir. Helminger ve ark. VEGF'nin nonproliferatif endotel hücrelerinde oksijen ve besin yokluğunda endotel hücrelerinde uzamayı, dallanmayı ve yeniden yapılanmayı uyardığını

göstermişlerdir. Benzer olarak tümör hücrelerinde kronik ve aralıklı iskemi durumlarında anjiogenezisi stimüle ettiği gösterilmiştir (74).

VEGF mRNA ekspresyonu için hipoksi en önemli uyarandır. Tümörlerde hipoksik alan sınırındaki hücrelerde VEGF ekspresyonu artmakta ve neovaskülarizasyonu uyarmaktadır. Koroner iskemide iskemik miyokarda ekspresyonu artarak revaskülarizasyonu stimüle etmektedir. EGF, TGF-beta, IL-1, IL-6, PGE2, IGF-1 ve FGF; VEGF mRNA ekspresyonunu artıran mediatörlerdir (75,76).

Anjiogenezis embriyolojik gelişim, hemopoez, normal büyüme ve gelişme, yara iyileşmesi, üreme fonksiyonları gibi bir çok fizyolojik süreçte rolü olan bir mekanizmadır. Hasara uğramış dokularda yara iyileşmesi için revaskülarizasyon gereklidir. Damar gelişimindeki yetersizlik veya regülasyon bozukluğunda yara iyileşmesinde gecikme olur. Anjiogenezis birçok büyüme faktörü tarafından düzenlenmektedir, bunlar içinde en yaygın olanı ve kritik rolü olan VEGF'dir. Bu protein dokulardaki iskemi ve enflamasyona cevap olarak sekrete edilir, sonuçta endotel hücrelerinde migrasyon, proliferasyon ve damar geçirkenliğinde artışa neden olur.

Anjiogenezis yara iyileşmesinde zorunlu ve esas basamaktır. VEGF yara iyileşmesinin erken aşamasında ekspresse olur ve etkilerini gösterir.

VEGF 3 mekanizma ile yara bölgesinde etkili olur;

- 1- Vazodilatasyon: Asetilkoline göre 1000 kat daha güçlü, hızlı ve geçici bir vazodilatasyon yaparak yaraya oksijen ve glukoz gibi moleküllerin girdisini artırırken, CO<sub>2</sub>, H, Laktat gibi moleküllerin bölgeden uzaklaşmasını sağlar. Bu etkisini flt-1/KDR reseptörü aracılığıyla yapar. İntrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırarak fosfolipaz C aktivasyonunu sağlar bu da diaçilgliserol (DAG) ve fosfotidilinozitol yapımını artırır. Hücre içi kalsiyum artışı ile kalsiyum/kalmodulin yolağı aktive olur ve nitrik oksit sentezlenerek vazodiltasyon olur (77).
- 2- Anjiogenezis: Bu etkisini yine flt-1 reseptörü ile yapar, bu reseptör aracılığıyla tirozin kinaz fosforilasyonu ve çok sayıda aksesuar (Grb-2, shc gibi) protein birikimi olur. Bu proteinler MAP kinaz sinyal aktivasyonunu uyararak gen ekspresyonunda değişikliklere neden olur. Bu değişiklikler sonrası anjiogenezis kuvvetli bir şekilde indüklenir (78).
- 3- Vasküler permeabilitede artış: Damar duvarındaki porların sayısında değişiklik ve çapında artışa neden olur. Bu etkisini flt-1 reseptörü ile yapar. Fosfolipaz C

aktivasyonu ile diaçilgliserol ve fosfotidilinozitol yapımı artar. DAG geçici olarak kalsiyum girişini artırır. Artan kalsiyum endotel hücrelerinde kontraksiyona neden olarak geçirgenliği artırır (79).

VEGF'nin yara iyileşmesindeki rolü dışında birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol aldığı görülmüştür.

Diabetik hastalarda VEGF yapımı azalmakta dolayısıyla anjiogenezis azalmakta sonuçta yara iyileşmesi bozulmaktadır. Diabetik farelerde topikal VEGF kullanımı sonrası yara iyileşmesinde belirgin iyileşme görülmüştür. Topikal kullanım sonrası lokal büyüme faktörlerinde artış ve kemik iliği kaynaklı hücrelerde artış olmuştur (80).

Kolorektal karsinomlarda postoperatif erken dönemde 5-FU ile kombine bevacizumab (monoklonal anti-VEGF antikör) kullanıldığında uzun dönem survey artmakta buna karşın yara iyileşmesi komplikasyonları artmaktadır (81).

VEGF'nin değişik östrojen hedef dokularında anjiogenezise aracılık ettiği gösterilmiştir. İnsan korpus luteum regulasyonunda parakrin mekanizmalarla başlangıçtaki anjiogenez fazında ve luteal devamlılıkta önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (82). Otörler VEGF'nin plasental biyoloji ve koryonik villuslarda damar gelişiminde ve şekillenmesinde otokrin ve parakrin yolla önemli bir rol oynayabileceği kanaatini taşımaktadırlar. VEGF hemopoezis süresince hemopoetik kök hücrelere etki etmektedir (83). VEGF'nin nörotropik ve nöroprotektif etkisi de vardır (84). Akut hipoglisemi durumlarında VEGF'nin kan beyin bariyerine etkileyerek beyne glukoz sunumunu artırabileceği bildirilmiştir. VEGF beyinde akut glikonöropeni durumlarında hızlı adaptasyona aracılık edebilir (85). Gerber ve ark. ratlarda yaptıkları çalışmada VEGF'nin kondrosit ölümünde, kondroblast fonksiyonunda, ECM (ekstrasellüler matriks) yapılanmasında, anjiogenezis ve kemik formasyonunda esas düzenleyici koordinatör olduğunu ortaya koymuşlardır (86).

VEGF'nin birçok tümör modelinde anjiogeneziste rol aldığı gösterilmiştir (87). Diabetik maküler ödem gelişiminde VEGF'nin rol aldığı gösterilmiştir (88). VEGF yine diabetik retinopati gelişiminde rol almaktadır (89). VEGF'nin tiroid karsinomlarında tümör büyümesinde güçlü stimülatör rol oynadığı gösterilmiştir (90).

Bu bilgiler ışığında VEGF'nin kendisinin veya etkisini bloke edici antikörlerin kullanımının bazı patolojik süreçler üzerine etki yaparak klinik kullanımının mümkün olabileceği düşünülmektedir. VEGF'nin serum ve doku düzeyleri hastalığın şiddetini ve seyrini gösteren bir marker olarak kullanılabilir. Sone ve ark. 2001'de farelerde



yaptıkları bir çalışmada anti-VEGF antikor kullanımının artrit gelişimini geciktirdiğini ve klinik skoru düşürdüğünü göstermişlerdir. Bu da insanlarda artrit tedavisinde Anti-VEGF tedavisinin muhtemel bir tedavi modalitesi olabileceği kanaatini uyandırmıştır (91). Giardino ve arkadaşları VEGF geninde delesyon olan farelerde yaptıkları çalışmada koroner mikrodamarlanmanın azaldığını, bazal kontraktıl fonksiyonun ve hipoksiye cevap olarak enerji metabolizmasının düzenlenmesinin bozulduğunu ve beta adrenerjik stimülasyona anormal cevap geliştiğini göstermişlerdir (92). VEGF yapımının stimülasyonu ile koroner kollateral gelişiminin artırılarak MI riskinin azaltılabileceği düşünülmektedir. Epidermal keratonositlerde ekspresse ve sekrete edilen VEGF, psoriazisli hastalarda lezyonlu deride ve serumda yüksek oranda saptanmaktadır. Serum VEGF düzeyleri psoriazisli hastalarda, sağlıklı kişilere oranla yüksek bulunmakta ve özellikle bu yükseklik hastalığın şiddetiyle korelasyon göstermektedir. VEGF sistemine müdahale edecek bir ilaçla hastalığın gelişmesinin durdurulabileceği düşünülmektedir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM), Haziran-Temmuz 2005 tarihleri arasında yapıldı. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındı (Etik Kurul Karar Tarihi: 04.05.2005, Karar No: 04/137).

### **Deneysel model**

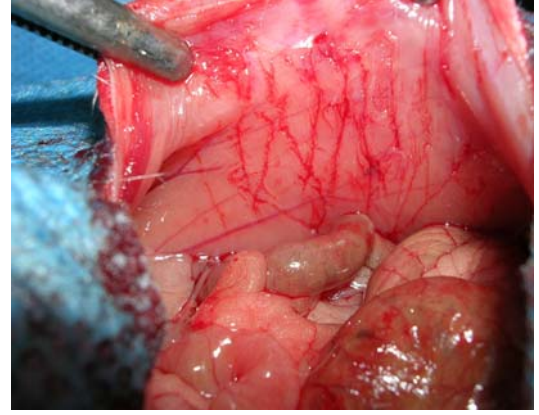
Çalışmada ağırlığı 190-230 gram arasında değişen, dişi ve DEKAM laboratuvarlarında üretilerek standart rat diyetiyle beslenen 60 adet Wistar-Albino tipi rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak 15'er ratlık sham, kontrol ve iki adet çalışma gruplarına ayrılarak toplam 4 grup oluşturuldu.

### **Cerrahi işlem**

Ameliyat öncesi ratlar 12 saat aç bırakıldı. Anestezik ajan olarak ketamin-HCL (10mg/kg) intraperitoneal uygulandı. Anestezik madde verildikten sonra ratların karnı traş makinası ile traş edildi ve povidon iodinle boyandı. Steril şartlarda standart orta hat insizyonla laparotomi yapıldı.

## 1. Serozal hasar oluřturulması

Laparotomi sonrası çekum bulunarak çekum serozasından ve ileum serozasından toplam 4 cm<sup>2</sup> alan soyuldu, sağ uterin boynuzda orta kısımda seroza 2 cm<sup>2</sup> soyuldu, sağ alt kadranda ve alt orta kadranda pariyetal peritonda yaklaşık 6 cm<sup>2</sup> lik alanda noktasal kanamalar olacak kadar abrazyon yapıldı (Resim 1, 2).



**Resim 1: Çekumda serozanın soyulması**      **Resim 2: Pariyetal peritonun abrazyonu**

## 2. Doku örneklerinin alınması

Bütün gruplarda adezyon gelişen serozal yüzeylerden doku örnekleri alındı (iki viseral periton arasında olan ve veya viseral periton ile pariyetal periton arasında yapışıklık gelişen alanlardan serozal yüzeyleri içerecek şekilde), ayrıca kontrol grubunda karşılaştırma yapılmak için yapışıklık olmayan normal serozal yüzeylerden de örnek alındı.

Ratlara uygulanan cerrahi işlemler sonrası fasya peritonla birlikte 4/0 katgütle, cilt 4/0 ipekle kapatıldı ve povidon iyotla insizyon bölgesi temizlendi. Ameliyat sonrası erken dönemde ağızdan su ve gıda alımına izin verildi.

**Grup I. Sham grubu (n=15):** Bu grupta 15 rat kullanıldı. Laparotomi yapıldıktan sonra ,sağ alt kadrandaki organlar, periadneksiyal bölge ve pariyetal periton palpe edildi. Sonrasında ratların karınları usulüne uygun olarak kapatıldı.

**Grup II. Kontrol grubu (n=15):** Bu gruptaki ratlara operasyonda adezyon formasyonu oluşturmak için yukarıda tariflenen deneysel model uygulandı. Karın kapatılmadan önce peritoneal boşluğa 2 cc ringer laktat verildi.

**Grup III. Çalışma grubu (Melatonin grubu) (n=15):** Bu gruptaki ratlara adezyon formasyonu oluşturmak için tariflenen deneysel model uygulandıktan sonra peritoneal boşluğa hazırlanan melatonin solüsyonu verildi. Kuru toz halindeki melatonin (Sigma, St Louis, MO, USA) %99 etanol ile çözüldü, 1cc serum fizyolojikte 1 mg melatonin olacak şekilde 2 cc serum fizyolojik ile dilüe edildi (10 mg/kg, rat başına yaklaşık 2 mg/2cc melatonin), sonuçta solüsyonda etanol konsantrasyonu %5 olacak şekilde ayarlandı (4).

**Grup IV. Çalışma grubu (Fosfolipid grubu) (n=15):** Bu gruptaki ratlara adezyon formasyonu oluşturmak için tariflenen deneysel model uygulandıktan sonra peritoneal boşluğa fosfolipid emülsiyonu (75 mg/5ml/kg, her rata yaklaşık 2 ml fosfolipid emülsiyonu ) verildi (5).

Kontrol grubunda 2 rat, melatonin grubunda 2 rat ve fosfolipid grubunda 3 rat çalışma esnasında öldü. Bunların yerine, aynı sayıda rat çalışmaya dahil edildi. 15 gün yaşatılan ratlar letal doz pentobarbital ile öldürüldükten sonra sol paramedian insizyonla laparotomi yapıp adezyon gelişimi değerlendirildi. Çıkarılan adezyon gelişmiş dokular patolojik inceleme için formol içinde saklandı. Kontrol grubundan ayrıca normal alanlardanda doku örnekleri alındı.

## Değerlendirilen parametreler

### A. Adezyon skoru

Adezyon skorunu tariflemek için Linsky ve ark.'nın (93) tariflediği skorlama sistemi kullanıldı. Bu sistemde adezyonun yaygınlığı ve şiddeti ayrı ayrı değerlendirilip, her iki değer toplanarak toplam adezyon skorları hesaplandı. Bu sisteme göre puanlama şu şekilde yapıldı, Yaygınlık skoru: adezyon yoksa 0, travmatize alanın %25'inde yapışıklık 1, travmatize alanın %50'sinde yapışıklık 2, travmatize alanın tamamında yapışıklık 3. Şiddet skorlaması: direnç göstermeksizin ayrılan yapışıklıklar 0, orta derecede güç harcanarak ayrılan yapışıklıklar 0.5, keskin diseksiyonla ayrılan yapışıklıklar 1. Her bir ratta hem yaygınlık hem şiddet skorlaması yapılarak her iki değer toplandı ve toplam puan hesaplandı, toplam puan 0 ile 4 arasında değişti.

## **B. Histopatolojik parametre**

**VEGF:** VEGF antikoru için, yapışıklık olan dokularda ve normal dokularda boyanan hücrelerin en fazla olduğu alanda boyanma yoğunluğu ve şiddeti değerlendirildi. Sonuçlar, 0 boyanma yok, 1 şüpheli, 2 hafif, 3 orta, 4 kuvvetli pozitif olarak değerlendirildi (94).

**İmmunohistokimyasal boyama yöntemi:** %10'luk formol içinde saklanan dokulara parafin emdirildikten sonra spesmenlerden 5 µm kalınlığında kesitler, poli-L-lizine kaplı lamlara alındı. VEGF ile boyanacak preparatlar 60 °C'de bir saat bekletildikten sonra ksilol ve azalan alkol serilerinden geçirilerek distile su ile yıkandı. Preparatlar EDTA (Ph:10) ile mikrodalga fırında 20 dakika kaynatılarak soğumaya bırakıldı. Distile su ile yıkandıktan sonra 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit uygulandı, sonrasında yine distile su ile yıkandı. Dokular fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) ile 10 dakika yıkandı. Ardından dokulara 1/10 oranında sulandırılmış VEGF (Neomarkers®, kullanıma hazır) antikoru uygulandı. Dokular 10 dakika PBS ile yıkandı. Preparatlara biyotin damlatılıp 10 dakika bekletildi, 10 dakika PBS ile yıkandı, streptavidin damlatılıp 10 dakika bekletildi, 10 dakika PBS ile yıkandı, kromojen damlatılıp 10 dakika bekletildi, sonra 10 dakika distile su ile yıkandı. Meyer-hemotoksilende 3 dakika bekletildi, sonra 5 dakika distile su ile yıkandı, artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilolde 15 dakika bekletildikten sonra kapatılma solüsyonu ile preparatlar kapatıldı (94).

## **İstatistiksel Analiz**

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma ( $X \pm SD$ ) ve median (min–max) olarak gösterildi. Grupların ve histopatolojik değerlerin karşılaştırılmasında Post-Hoc Scheffe (ANOVA) testi kullanıldı. İstatistik, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (11.0 version) programında yapıldı.  $P < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **BULGULAR**

### **Adezyon Skoru Sonuçları**

Sham grubunda 2 ratta (%13) hiç yapışıklık yoktu. Sham grubunda yapışıklık gelişen 13 ratın 11'inde omentum ile insizyon hattı arasında yapışıklık vardı. Kontrol grubunda bütün ratlarda yapışıklık vardı. Kontrol grubunda 15 ratın 12'sinde omentum veya organlar ile insizyon hattı arasında yapışıklık vardı. Melatonin ve fosfolipid gruplarında 6'şar ratta (%40) hiç yapışıklık yoktu.

Sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubunda toplam adezyon skoru, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ( $P<0.05$ ). Sham grubu ile melatonin grubu arasında anlamlı fark yoktu ( $P>0,05$ ). Sham grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu ( $P>0,05$ ). Melatonin ve fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu ( $P>0,05$ ) (Tablo 1, Grafik 1).

Adezyon şiddet skoru gruplar arasında karşılaştırıldı. Sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubunda adezyon şiddet skoru kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ( $P<0.05$ ). Sham grubu ile melatonin grubu arasında anlamlı fark yoktu. Sham

grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu. Melatonin grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 2, Grafik 2).

Adezyon yaygınlık skoru gruplar arasında karşılaştırıldı. Sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubunda yaygınlık skoru kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ( $P<0.05$ ). Sham grubu ile melatonin grubu arasında anlamlı fark yoktu. Sham grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu. Melatonin grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 3, Grafik 3).

### **VEGF Boyama Sonuçları**

Sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubunda yapışıklık olmayan ratlardan VEGF boyaması için örnek alınmadı ve bu ratlar istatistiki karşılaştırma dışında bırakıldı. Sham grubunda 13, melatonin grubunda 9, fosfolipid grubunda 9, kontrol grubunda 15 rat istatistiki karşılaştırmada kullanıldı. Kontrol grubunda normal alanlarda VEGF ile boyanma, yapışıklık olan alanlara göre anlamlı derecede düşüktü ( $P<0.05$ ). Kontrol grubunda normal alanlardaki VEGF ile boyanma, sham grubunda yapışıklık olan alanlardaki VEGF ile boyanmaya göre anlamlı derecede düşüktü ( $P<0.05$ ). Kontrol grubunda normal alanlardaki VEGF boyanma sonuçları ile melatonin ve fosfolipid gruplarındaki yapışıklık gelişen alanlardaki VEGF boyanma sonuçları arasında anlamlı fark yoktu. Kontrol grubunda yapışıklık olan alanlardaki VEGF boyanma sonuçları diğer dört gruba göre anlamlı derecede daha yüksekti ( $P<0.05$ ). Melatonin grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu. Sham grubu ile melatonin grubu ve Sham grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 4, Grafik 4).

**Tablo 1. Gruplardaki Toplam Adezyon Skoru Değerleri**

<b>Grup</b>	<b>Median</b>	<b>Min-Max</b>	<b>P<sup>1</sup></b>	<b>P<sup>2</sup></b>	<b>P<sup>3</sup></b>	<b>P<sup>4</sup></b>
<b>Sham</b>	1.76	0.00-3.00	–	<b>&lt; 0.05</b>	>0.05	>0.05
<b>Kontrol</b>	3.40	2.50-4.00	<b>&lt; 0.05</b>	–	<b>&lt; 0.05</b>	<b>&lt; 0.05</b>
<b>Melatonin</b>	0.93	0.00-2.50	>0.05	<b>&lt; 0.05</b>	–	>0.05
<b>Fosfolipid</b>	0.90	0.00-2.50	>0.05	<b>&lt; 0.05</b>	>0.05	–

**P<sup>1</sup>** : Sham grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

**P<sup>2</sup>** : Kontrol grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

**P<sup>3</sup>** : Melatonin grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

**P<sup>4</sup>** : Fosfolipid grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

**Tablo 2. Gruplardaki Adezyon Şiddet Skoru Değerleri**

Grup	Median	Min-Max	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>
Sham	0.43	0.00-1.00	–	< 0.05	>0.05	>0.05
Kontrol	0.86	0.50-1.00	< 0.05	–	< 0.05	< 0.05
Melatonin	0.20	0.00-0.50	>0.05	< 0.05	–	>0.05
Fosfolipid	0.20	0.00-0.50	>0.05	< 0.05	>0.05	–

P<sup>1</sup> : Sham grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>2</sup> : Kontrol grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>3</sup> : Melatonin grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>4</sup> : Fosfolipid grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

**Tablo 3. Gruplardaki Adezyon Yaygınlık Skoru Değerleri**

Grup	Median	Min-Max	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>
Sham	1.33	0.00-2.00	–	< 0.05	>0.05	>0.05
Kontrol	2.53	2.00-3.00	< 0.05	–	< 0.05	< 0.05
Melatonin	0.73	0.00-2.00	>0.05	< 0.05	–	>0.05
Fosfolipid	0.75	0.00-2.00	>0.05	< 0.05	>0.05	–

P<sup>1</sup> : Sham grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>2</sup> : Kontrol grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>3</sup> : Melatonin grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>4</sup> : Fosfolipid grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

**Tablo 4 . Gruplardaki VEGF Boyanma Değerleri**

Grup	Median	Min-Max	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>	P <sup>3</sup>	P <sup>4</sup>	P <sup>5</sup>
Sham	1.53	1.00-4.00	–	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05
Kontrol (N)	0.53	0.00-1.00	<0.05	–	<0.05	>0.05	>0.05
Kontrol (Y)	3.00	2.00-4.00	<0.05	<0.05	–	<0.05	<0.05
Melatonin	1.22	1.00-2.00	>0.05	>0.05	<0.05	–	>0.05
Fosfolipid	1.20	1.00-2.00	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	–

N: Normal Alanlar Y: Yapışık Alanlar

P<sup>1</sup> : Sham grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

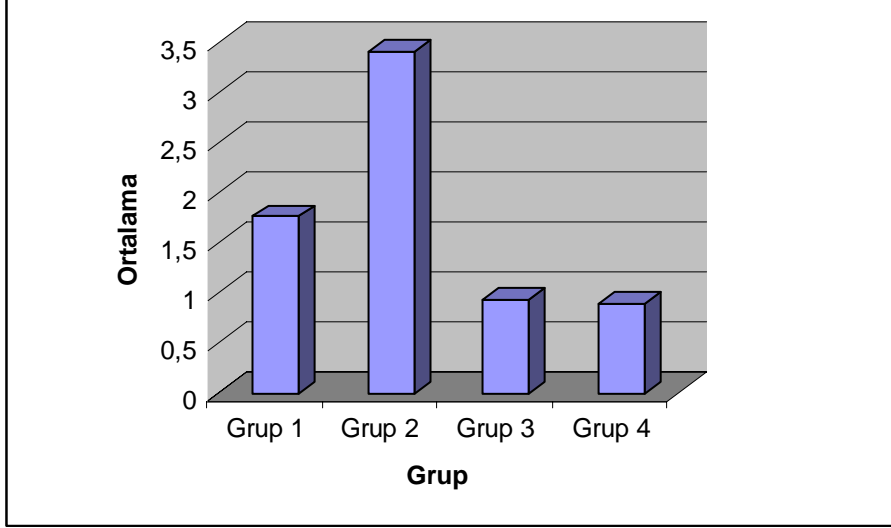
P<sup>2</sup> : Kontrol (N) grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>3</sup> : Kontrol (Y) grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

P<sup>4</sup> : Melatonin grubu ile diğer grupların karşılaştırılması

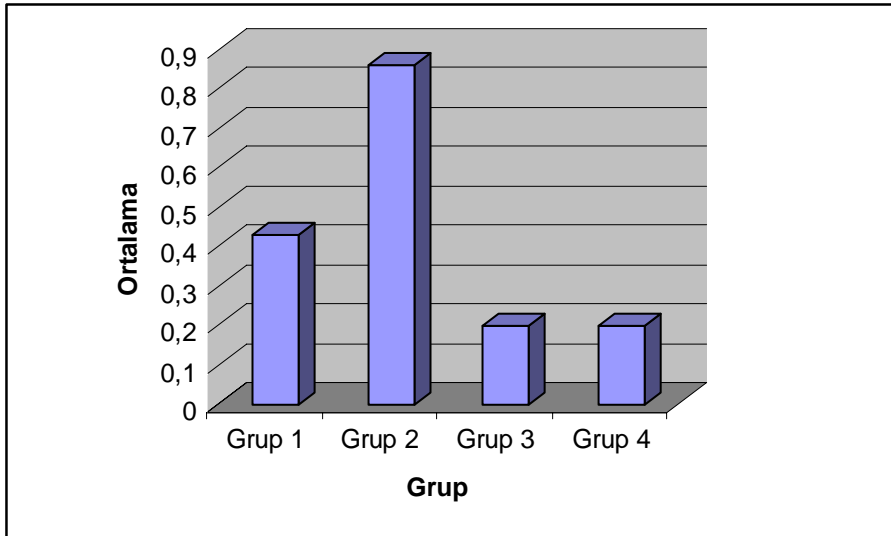
P<sup>5</sup> : Fosfolipid grubu ile diğer grupların karşılaştırılması





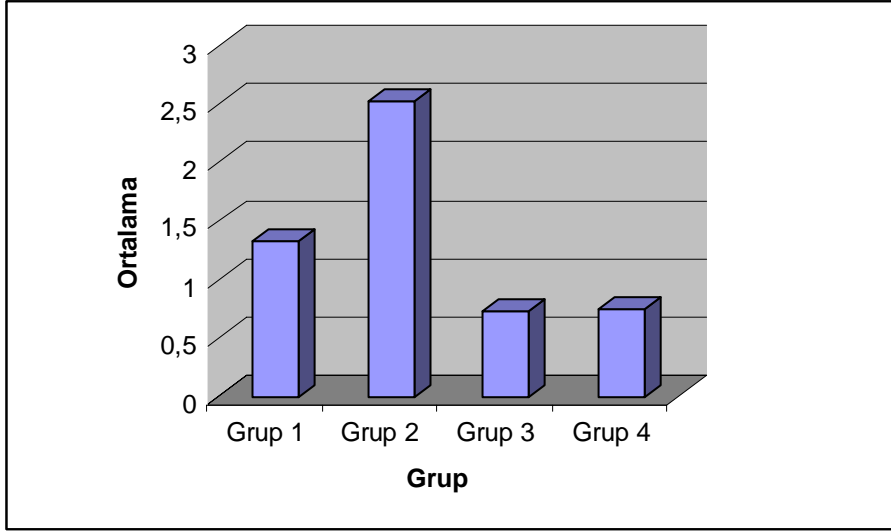
Grup1: Sham Grup 2: Kontrol Grup 3: Melatonin Grup 4: Fosfolipid

**Grafik 1. Gruplardaki Ortalama Toplam Adezyon Skorları**



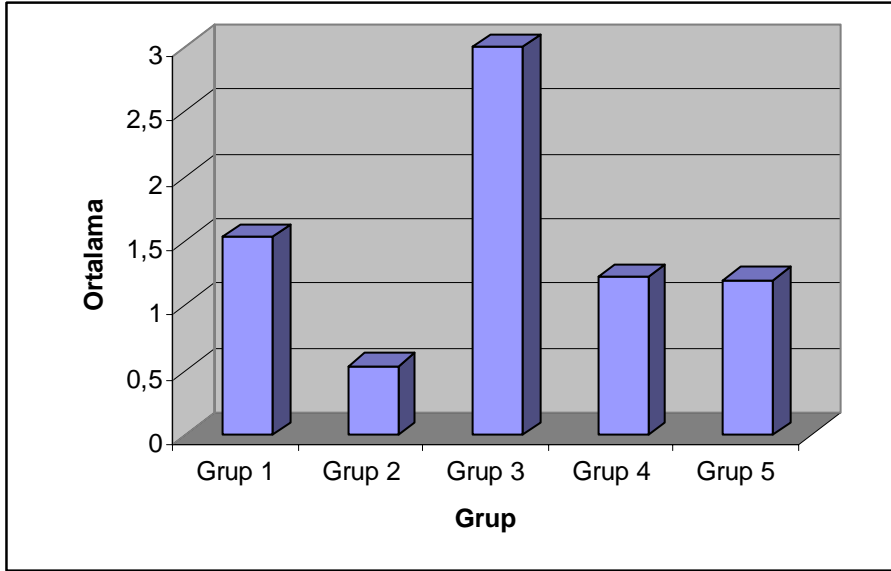
Grup1: Sham Grup 2: Kontrol Grup 3: Melatonin Grup 4: Fosfolipid

**Grafik 2. Gruplardaki Ortalama Adezyon Şiddet Skorları**



**Grup1: Sham Grup 2: Kontrol Grup 3: Melatonin Grup 4: Fosfolipid**

**Grafik 3. Gruplardaki Ortalama Adezyon Yaygınlık Skorları**

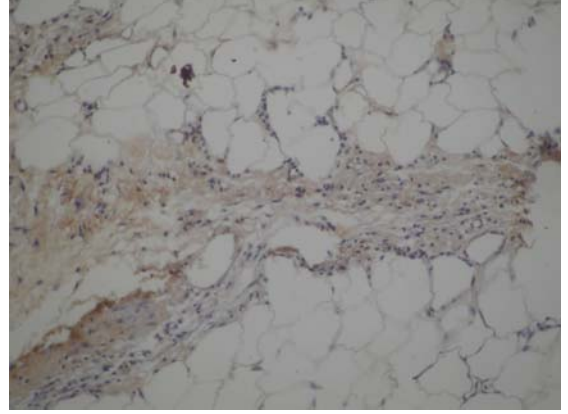


**Grup 1: Sham Grup 2: Kontrol (N) Grup 3: Kontrol (Y) Grup 4: Melatonin Grup 5: Fosfolipid**  
**N: Normal Alanlar Y: Yapışık Alanlar**

**Grafik 4. Gruplardaki Ortalama VEGF Boyanma Sonuçları**



**Resim 3: Karın Duvarı-Organ Arası  
Adezyon  
( Kontrol Grubu: Denek 8)**



**Resim 4: VEGF ile Boyanma  
(Kontrol Grubu: Denek 8)**

## TARTIŞMA

Peritoneal adezyonlar, kronik karın ağrısı, pelvik ağrı, intestinal obstrüksiyon, infertilite gibi klinik problemlere neden olmaktadır. Modern cerrahinin başlangıcından bir süre sonra bu problemin ciddiyeti fark edilmiştir. Bu problemi çözebilmek için 100 yılı aşkın süredir deneysel ve klinik çalışmalar yapılmaktadır (95).

Peritoneal adezyon gelişimi aslında normal yara iyileşmesinin sonucudur. Fakat bu iyileşme serozal yüzeylerde olduğu için klasik yara iyileşmesinden farklılıklar içermektedir. Peritoneal adezyonu başlatan anahtar basamak serozal yüzeylerdeki mezotelyal hücrelerin hasarlanmasıdır. Subserozal bağ dokunun açığa çıkmasıyla seroanjinöz eksuda ortaya çıkmakta ve bu eksuda 72 saat içinde yumuşak fibrin jel matriksi oluşturmaktadır, bu fibrin jel matriks normalde mezotel hücrelerinde bulunan fibrinolitik aktivite ile parçalanmakta ve ortadan kaldırılmaktadır. Fakat fibrinolitik aktivitede azalma olduğunda veya oluşan fibrin jel formasyonu fibrinolitik aktivite ile ortadan kaldırılamayacak kadar fazla olduğunda 15 gün içinde dens ve vasküler yapışıklıklar gelişmektedir (1). Çalışmamızda yapışıklıkları değerlendirmek için relaparotomi zamanı bu nedenle postoperatif 15. gün olarak seçilmiştir.

Adezyon gelişiminin patofizyolojisi anlaşıldıktan sonra adezyon gelişimine neden olan kaskadı kırmak için, bu kaskadın değişik basamaklarına etkili ajanlar kullanılmıştır. Fibrinolitik ajanlar (96), Kristalloid solüsyonları (97), kortikosteroidler (98), heparin (99,100), hyaluronik asit (101,102), non-steroidal antiinflamatuvar ajanlar (103-105), kalsiyum kanal blokerleri (106), progesteron (107), nonspesifik immunostimülan beta-glucan (108) ve bariyer metodları (109) uygulanmıştır. Bu ajanlarla etkili sonuçlara ulaşılma ile birlikte istenmeyen bazı etkilerinin önemli klinik problemlere neden olmaları kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Fibrinolitik ajanlar, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ve kortikosteroidler, kanamaya, peptik ülser gelişimine, gastrointestinal kanamaya, yara iyileşmesinde bozulmaya, immunosupresyona neden olmuşlardır. Kristalloid solüsyonları postoperatif dönemde saatler içinde çok hızlı emildikleri için adezyon gelişimi için kritik günler olan 5-8. günler arasında etkilerini gösterememektedirler. Hyaluronik asit gibi makromoleküller yaygın asit, karaciğer fonksiyonlarında bozulma, nadiren de olsa dissemine intravasküler koagülopatiyeye (DIC) ve anafilaktik şoka neden olmaktadır. Koruyucu bariyerlerin kullanımı jinekolojik cerrahi sonrası pelviste sınırlı alanlarda faydalı olmakla birlikte abdominal boşlukta kullanımı teknik ve ekonomik açıdan zorlukları içermektedir (110).

Tıbbın her alanında olduğu gibi bu konuda da koruyucu hekimlik ilkeleri önemlidir. Cerrahi sırasında bazı tedbirlerin alınması ve temel prensiplere uyulması oldukça önemlidir. Dokulara nazik davranılmalı, gereksiz ve geniş diseksiyonlardan mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Organlar gereksiz yere palpe edilmemeli, eksplorasyonda organlar olabildiğince nazik değerlendirilmelidir. Ekartasyonda nazik davranılmalı, gereksiz koter kullanımından kaçınılmalıdır. Peritoneal defektler suturele kapatılmamalıdır, peritoneal sutureler suture hattında iskekiye neden olmaktadır, ayrıca suture materyali yabancı cisim reaksiyonuna neden olabilir, iskeki ve yabancı cisim reaksiyonu ise yapışıklığı artırmaktadır (111). Karın kapatılırken pariyetal peritonun kapatılmasının iskekiye neden olarak yapışıklığı artırdığı gösterilmiştir. Özellikle kontaminasyon ve enfeksiyon varlığında yapışıklık daha da artmaktadır. Literatür bilgileri pariyetal peritonun kapatılmaması yönündedir (112-116). Suture materyalinin seçimi önemlidir. Poliflaman örgülü suture materyalleri bakterilere sığınak teşkil ettiği için monoflaman suture materyalleri seçilmelidir. Katgüt hızlı absorbe olan bir suture materyali olmasına rağmen fazla doku reaksiyonuna neden olduğu için poliglikolik asit

derivelere seçilmesi daha uygundur. Yabancı cisimlerden kaçınılmalıdır. Pudralı eldivenler, tüylü cerrahi örtüler (spanç, havlu), sütürler, intestinal içeriğin karına sızması inflamasyonu artırır. Pudralı eldivenler yıkandığında granüller oluşmakta ve bu granüller şiddetli doku reaksiyonuna neden olmaktadır (117). Peritoneal boşluktaki kan debrislerinin adezyona sebep olup olmadığı halen tartışmalıdır. Hayvan deneylerinde fazla miktardaki pıhtıların yapışıklık yaptığı fakat küçük pıhtıların peritoneal hasar olmadığında yapışıklık yapmadığı görülmüştür (118). Hemostazın sağlanması ve kavitedeki kanın yıkanarak aspire edilmesi esastır. Hemostaz sağlanırken koterle noktasal kontrol sağlanamıyorsa ve geniş yanıklar oluşacaksa koterizasyondan kaçınarak, dokuda aşırı gerginliğe neden olmaksızın ince sentetik sütürlerin kullanılması daha uygundur (119). Cerrahi sırasındaki nemli kompreslerle dokuların kurumaması engellenmelidir, dokuların kurumaması fibrinolitik aktiviteyi baskılamaktadır (120).

Çalışmamızda sham grubunda sadece laparotomi yapıp sağ alt kadranda organlar ve pariyetal periton palpe edilip 3-4 dakika içinde cerrahi sonlandırılıp karın kapatılmasına rağmen 15 ratın 13'ünde (%86) yapışıklık gelişmiştir, bu yapışıklıklar 8 ratta (%53) sadece omentumla insizyon hattı arasında gelişmiştir. 3 ratta omentumla insizyon hattı arasındaki yapışıklıkla birlikte sağ alt kadrandaki organlar arasında da yapışıklık vardı. Toplam 11 ratta omentum ile insizyon hattı arasında yapışıklık vardı (%73). 2 ratta sadece sağ alt kadrandaki organlar arasında yapışıklık vardı. Pariyetal peritona koyduğumuz sütürler iskemiye ve buna sekonder VEGF ekspresyonunu artırarak insizyon hattında gelişen yapışıklıklara katkıda bulunmuş olabilir. Bu sonuçlar pariyetal peritonun kapatılmamasını öneren çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir. Yine çalışmamızda pariyetal periton katgüt ile kapatılmıştır, katgüt de yaptığı doku reaksiyonuna bağlı olarak insizyon hattındaki yapışıklıklara katkıda bulunmuş olabilir. Serozal defektlerin ve kanamanın olmaması gelişen adezyonların şiddetinin düşük (ortalama şiddet skoru  $0,43 \pm 0,31$ ) olmasına neden olmuştur. Yine bu sonuçlar organların sadece ellenmesinin ve atmosfer ile karın boşluğunun temasının bile yapışıklıklara neden olabileceğini göstermektedir. Kontrol grubunda 15 ratın 12'sinde omentum ile insizyon hattı arasında yapışıklık gelişmiş (%80), hepsinde (%100) sağ alt kadranda organlar arasında ve karın duvarı arasında yapışıklık gelişmiştir. Bu sonuçlar

serozal defektlerin ve eşlik eden pıhtıların yapışıklığın hem genişliğini hem de şiddetini (ortalama şiddet skoru  $0.86\pm 0.22$ ) artırdığı yönündeki bilgilerle uyumludur.

Melatonin sirkadiyan ritmin biyolojik regülasyonunda, uyku, mizaç, üreme, tümör büyümesi ve yaşlanma sürecinde etkili olduğu bilinen bir nörohormondur. Melatonin'in yaklaşık 25 yıldır bilinen önemli bir etkisi de antioksidan etkinliğidir. İnvitro (39) ve invivo (40) çalışmalarda melatoninin yüksek toksik hidroksil radikali ve oksijen kaynaklı diğer radikalleri temizleyici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada, melatonin'in bilinen antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, vit C, vit E gibi) daha etkili olduğu gösterilmiştir (41). Antioksidan etkinin görülebilmesi için melatonin konsantrasyonunun gece yarısı görülen pik değerinden çok daha yüksek olması gerekmektedir. Bundan dolayı insanda antioksidan etkinin görülebilmesi muhtemelen sadece farmakolojik dozlarda olmaktadır. Yapılan bir deneysel çalışmada, ratlarda ana hepatik kanal ligate edilmiş ve bilirubinemiye bağlı olarak serbest radikallerle böbrekte gelişen hasar değerlendirilmiştir. Bu çalışmada görülmüştür ki, melatonin verilen ratlarda serbest radikallere bağlı gelişen böbrek hasarı anlamlı derecede azalmış, serum MDA düzeyleri düşmüş ve serumda total antioksidan etkinlik artmıştır (121). Melatonin antioksidan etkisinin yanında bir çok antioksidan enzimi de stimüle etmekte, prooksidan enzimlerin ve nitrik oksidin sentezini inhibe etmektedir. Bir başka çalışmada, hamsterlerde yanak keselerinde iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulmuş ve hem sistemik melatonin verilen hem de lokal melatonin uygulanan hayvanlarda serbest radikallere bağlı reperfüzyon hasarının anlamlı derecede azaldığı görülmüştür (122). Melatonin ayrıca antiadeziv etki göstererek lökosit aracılıklı endotel hasarını da azaltmaktadır.

Serbest oksijen radikalleri nötrofillerden ve makrofajlardan salınan ve inflamasyonun erken evresinde etkisini gösteren moleküllerdir. Serbest radikaller DNA, proteinler ve lipidleri hedef seçerler. Membran lipidlerine saldırarak peroksidasyona neden olup membranlarda hasara yol açmakta bu da mikrovasküler ödem oluşumunu artırmaktadır. Son yıllarda lökosit bağımlı inflamatuvar reaksiyonlarda artmış hücre ve doku hasarında oksijen derivesi serbest radikallerin ve metabolitlerinin rol aldığı gösterilmiştir. Bir çok dokuda bu radikallerin sekonder hasarlara neden oldukları gösterilmiştir (123). Yapılan bir çalışmada, ratlarda deneysel endometriozis modeli oluşturulmuş ve endometrioziste meydana gelen doku reaksiyonu ve adezyon gelişiminde serbest oksijen radikallerinin

önemli rolü olduğu görülmüştür (124). Bu bilgi ışığında yapılan bir başka çalışmada, deneysel endometriozis oluşturulan ratlara antioksidan etkili olan süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz intraperitoneal olarak uygulandığında adezyon gelişiminde anlamlı derecede azalma olduğu görülmüştür (125).

Özçelik ve arkadaşları (4) bu bilgiler ışığında antioksidan etkisi olan melatonin'in adezyon gelişiminde azalmaya neden olabileceğini düşünmüşler ve ratlarda deneysel pelvik adezyon modelinde etkinliğini araştırmışlardır. Dört çalışma grubu yapmışlar ve 1. gruba cerrahiden 30 dakika önce s.c. (subkutan) melatonin verilmiş, 2. gruba cerrahiden sonra i.p. (intraperitoneal) melatonin uygulanmış, 3. gruba cerrahiden önce 5 gün boyunca s.c. ve cerrahi sonrası i.p. melatonin verilmiş, 4. gruba cerrahi sonrası i.p. melatonin verilmiş ve cerrahiye takip eden 5 gün boyunca s.c. melatonin verilmiştir. Her dört grupta da adezyon gelişiminin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Fakat bu dört grupta kendi aralarında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bizim çalışmamızda melatonin grubunda 6 ratta (%40) hiç yapışıklık gelişmediği görülmüştür. Adezyon gelişen ratların 3'ünde şiddet skoru 0, kalan 6'sında ise 0,5 olarak tespit edilmiş ve keskin diseksiyon gerektiren adezyon hiç gelişmemiştir. Melatonin'in kontrol grubuna göre yapışıklık gelişmesini anlamlı derecede azalttığı görülmüştür ( $P<0.05$ ). Melatonin grubu ile sham grubu arasında anlamlı fark görülmemiştir. Melatonin grubunda gelişen adezyonlarda ortalama şiddet skorunun  $0.2\pm 0.25$  olması, melatonin'in enflamatuvar kaskadı önemli oranda bloke ettiğini düşündürmektedir. Melatonin ile yapılan deneysel ve klinik çalışmalar doz aralığının geniş olduğunu göstermektedir ve bilinen önemli bir yan etkisi yoktur. Özçelik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada görülmüştür ki hem lokal uygulama hem sistemik uygulama (s.c.) ile adezyon gelişimi engellenmiştir. Bu gibi avantajlarından dolayı melatonin'in antiadeziv bir ajan olarak klinik kullanıma aday olması muhtemeldir.

Fosfolipidler peritoneal kavitede normalde bir miktar bulunan peritoneal sıvının komponentlerindedir. Fosfolipidler akciğerdeki surfaktan benzeri maddelerdir. Peritondaki mezotelyal hücreler fosfolipid sentez ederler. Fosfolipidler polar fosforik asit diesterleridir. İnsan mezotelyal hücreleri fosfolipidleri hızlı bir şekilde sentezler ve sekrete ederler. Surfaktan benzeri bu maddeler pozitif yüklü kuaterner amonyum iyonları taşırlar ve negatif yüklü epitelyal yüzeylere bağlanırlar. Böylece fosfolipidler peritoneal yüzeylerde kaygan bir tabaka oluştururlar (61,126). Travmayı takiben



peritoneal yüzeylerde fosfolipid tabakası azalmakta ve inflamasyonla salınımı da azalmaktadır. Oysa fosfolipid serozal defektlerin olduğu yüzeyleri ince bir film tabaka şeklinde örtmekte ve hasarlı yüzeylerin karşılıklı gelmesini engelleyerek adezyon gelişimine mani olmaktadır. Fosfolipidlerin adezyonu engelleyici etkileri bir çok çalışma ile gösterilmiş ve önemli bir yan etki tespit edilmemiştir (127-131). Bizim çalışmamızda fosfolipid grubunda 6 ratta (%40) hiç yapışıklık gelişmemiştir. Yapışıklık gelişen 9 ratın 4'ünde adezyon şiddet skoru 0, diğer 5 ratta ise 0.5 olarak tespit edilmiştir (ortalama şiddet skoru  $0.2 \pm 0.25$ ). Bu grupta keskin diseksiyon gerektiren yapışıklık gelişmemiştir. Kontrol grubuna göre fosfolipid grubunda yapışıklıklarda anlamlı derecede ( $P < 0.05$ ) azalma görülmüştür. Sham grubu ile fosfolipid grubu arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir. Bilinen bir yan etkisinin olmaması ve fizyolojik olması, uygulanım kolaylığı gibi nedenlerden dolayı fosfolipidlerde klinik uygulamalarda kullanılabilirlik vaat etmektedir.

Melatonin grubu ile fosfolipid grubu karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark yoktu. Her iki grupta da 6'şar ratta yapışıklık gelişmediği görüldü, yapışıklık olan ratlarda da adezyon şiddet skoru birbirlerine yakındı (her iki grupta ortalama şiddet skoru:  $0.2 \pm 0.25$ ) ve her iki grupta da keskin diseksiyon gerektiren dens yapışıklık gelişmedi. Bu çalışmada her iki ajanın etkinliğinin birbirine çok yakın olduğu görüldü. Fosfolipidlerin bugüne kadar yapılan bir çok çalışma ile bu alanda etkin oldukları gösterilmiştir. Çalışmamızda görülmüştür ki melatonin'in etkinliği fosfolipidle çok yakındır. Hem çalışmamızın sonuçları, hem de Özçelik ve ark.'nın sonuçları melatonin'in de bu alanda etkili ajanlar sınıfından sayılabileceğini göstermektedir.

VEGF bilinen en güçlü anjiogenetik faktördür. Bu faktörün anjiogenezi uyaran diğer faktörlerden en önemli farkı sadece endotele özgü bir büyüme faktörü olmasıdır (70). Yara iyileşmesi için anjiogenezi zorunlu bir basamaktır. Yara iyileşmesi sırasında VEGF ekspresyonu artmaktadır (8). Adezyon gelişimi aslında yara iyileşmesinin bir sonucu olduğu için adezyon gelişimi içinde anjiogenezi gereklidir. Yapılan bir çalışmada pelvik adezyonlarda VEGF ekspresyonunda artış olduğu görülmüştür (132). Crohn hastalarında yapılan bir çalışmada, Crohn hastalığına bağlı striktür gelişen segmentlerdeki serozal fibroblastalarda VEGF ekspresyonunun, normal serozal alanlardaki fibroblastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada VEGF düzeyleri ile hastalığın şiddeti arasında korelasyon olduğu

görülmüştür (6). Bundan dolayı araştırmacılar anjiogenezis engellendiği takdirde adezyon gelişiminin önüne geçilebileceğini düşünmüşler ve bu amaçla bazı antiangiogenik ajanlar kullanmışlardır. Bir çalışmada deneysel antiangiogenik ajan olan TNP-470 kullanılmış ve ratlarda adezyon gelişiminin azaldığı görülmüştür, fakat bu ajanın nörotoksisite ve yara iyileşmesini geciktirmesi gibi yan etkilerinin olması kullanımını sınırlamaktadır (133). Yine selektif COX-2 inhibitörlerinin anjiogenezisi baskılayarak deneysel modellerde adezyon gelişimini azalttığı görülmüştür (134).

Çalışmamızda normal serozal yüzeylerde VEGF ile boyanma skoru oldukça düşük bulunmuştur (ortalama  $0.53 \pm 0.51$ ), buna karşın kontrol grubunda adezyon gelişen yüzeylerde belirgin boyanma görülmüştür (ortalama  $3.00 \pm 0.75$ ). Kontrol grubunda adezyon gelişen yüzeylerde VEGF boyanması normal alanlara göre anlamlı derecede ( $P < 0.05$ ) yüksekti. Bu sonuç, daha önceki bir çalışmada (132) belirtildiği gibi adezyon gelişimi sırasında VEGF ekspresyonunun arttığını ve adezyon gelişimine önemli katkısının olduğunu göstermektedir. Kontrol grubunda adezyon gelişen alanlardaki VEGF ile boyanma, sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubuna göre anlamlı derecede ( $P < 0.05$ ) yüksekti. Sham grubu, melatonin grubu ve fosfolipid grubunda adezyon şiddeti kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ( $P < 0.05$ ). Keskin diseksiyon gerektiren ve şiddet skoru 1 olan adezyonlar matür, kalın, damar içeren ve mezotel hücreleri ile kaplı fibröz dokulardır. Bu bantlar yoğun enflamasyonun olduğu, fibrinolitik aktivitenin yetersiz kaldığı durumlarda ortaya çıkmaktadır. Adezyon şiddet skoru 0 olan yapışıklıklar ince bir film tabakası şeklinde olup damar içermezler. Şiddet skoru 0.5 olan bantlar da ince olup ya damar içermezler ya da çok az damar içerirler. Bu sonuçlar VEGF ekspresyonu arttıkça adezyon şiddetinin arttığını göstermektedir. Normal alanlarda VEGF boyanması, sham grubuna göre daha düşüktü ( $P < 0.05$ ). İlginç olarak normal alanlar ile melatonin ve fosfolipid gruplarında yapışıklık gelişen alanlardaki VEGF boyanması arasında anlamlı fark yoktu. Bu sonuç, melatonin ve fosfolipidin enflamatuvar kaskadı bloke ederek hasarlanan alanda fibroblast ve makrofaj birikimini azaltmalarına ve VEGF ekspresyonu için gerekli mediatörlerin salınımını azaltmaları veya engellemeleri sonucu damardan zengin şiddetli adezyon gelişimini engellemelerine bağlı olabilir. Melatonin ve fosfolipid gruplarında ortalama şiddet skoru  $0.2 \pm 0.25$  idi ve gelişen adezyonlar damardan fakir ince bantlar şeklindeydi ve bu bantlarda VEGF boyanması ya yoktu ya da zayıftı. Melatonin ve fosfolipidin bilinen

mekanizmalarla VEGF ekspresyonu üzerine direkt etki etmeleri beklenmez, bu iki grupta VEGF ile boyanmanın düşük olmasının yukarıda belirtildiği gibi sekonder bir sonuç olduğu düşünölmektedir.

## SONUÇLAR

Haziran-Temmuz 2005 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yapılan, ratlarda oluşturulan deneysel adezyon formasyon modelinde melatonin ve fosfolipidin adezyon formasyonu gelişimi üzerine etkilerinin VEGF ekspresyonu ile korelasyonunun araştırıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar şu şekilde sıralanabilir:

1. Melatonin grubunda adezyon gelişimi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Melatonin'in adezyon gelişimini azalttığı görüldü.
2. Fosfolipid grubunda adezyon gelişimi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü.
3. Melatonin ile fosfolipidin etkinliği karşılaştırıldığında etkilerinin birbirlerine çok yakın olduğu görüldü. Melatonin'in de fosfolipid kadar etkili bir antiadeziv olduğu görüldü.
4. VEGF ile boyanmanın kontrol grubunda yapışıklık olan alanlarda, normal alanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. VEGF ekspresyonunun adezyon formasyonu gelişimi sırasında arttığı ve VEGF ekspresyonu arttıkça adezyon şiddetinde artış olduğu görüldü.

5. Melatonin ve fosfolipid grubunda adezyon gelişen dokularda VEGF boyanması ile normal dokulardaki VEGF boyanması arasında anlamlı fark yoktu. Bu sonuç melatonin ve fosfolipidin adezyon formasyonu gelişimi sırasında inflamatuvar kaskadı belli noktalarda kırarak damardan zengin şiddetli adeziv bantların gelişimini engelledikleri dolayısıyla VEGF ekspresyonunu azalttıkları şeklinde yorumlandı.

## KAYNAKLAR

1. Barbul A. Wound Healing. Brunnicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE(eds), In Schwartz's Principles of Surgery 8 th. ed. McGraw-Hill, Philadelphia 2005; pp. 223-248.
2. Kazez A, Demirba M, Üstündağ B, et al. The role of melatonin in prevention of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. J Pediatr Surg 2000; 35: 1444-1448.
3. Hara M, Yoshida M, Nishijima H, et al. Melatonin a pineal secretory product with antioksidant properties, protects againts cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. J Pineal Res 2001; 30: 129-138.
4. Özçelik B, Serin S, Başbuğ M, et al. Effect of melatonin in the prevention of post-operative adhesion formation in a rat uterine horn adhesion model. Human reproduction 2003; 18: 1703-6.
5. Müller SA, Treutner KH, Anurov M, et al. Experimental evaluation of phospholipids and icodextrin in re-formation of peritoneal adhesions. Br J Surg 2003; 90: 1604-1607.
6. Beddy D, Watson RWG, Fitzpatrick JM, et al. Increased vascular endothelial growth factor production in fibroblasts isolated from strictures in patients with Crohn's disease. Br J Surg 2004; 91: 72-77.
7. Arslan MK. Yara iyileşmesi ve iyileşmeyi engelleyen faktörler. Kurt N. Akut ve Kronik Yara Bakımı 1. Baskı. Nobel, İstanbul 2003; s. 9-34.
8. Mitchell RN. Wound Healing. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL(eds), In Robbins Basic Pathology 7 th ed. Philadelphia, W.B.S.C. 2003; pp: 61-78.
9. Khaitan E, Scholz S, Richards WO: Laparoscopic adhesiolysis and placement of Seprafilm: a new technique and novel approach to patients with intractable abdominal pain. J Lap Adv Surg Tec 2002; 12: 241-247.
10. Kavic SM: Adhesions and adhesiolysis: the role of laparoscopy. J Soc Lap Surg 2002; 6: 99-109.
11. Miller G, Boman J, Shrier I, et al. Natural history of patients with adhesive small bowel obstruction. Br J Surg 2000; 87:1240-1247.
12. Van Der Krabben AA, Dijkstra FR, Nieuwenhuijzen M, et al. Morbidity and mortality of inadvertent enterotomy during adhesiotomy. Br J Surg 2000; 87: 467-471.

13. De Cherney AH, Di Zerega GS. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. *Surg Clin North Am* 1997; 77: 671-688.
14. Di Zerega GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg Suppl* 1997; 577: 10-16.
15. Gutmann J, Penzias AS, Diamond MP. Adhesions in reproductive surgery. Wallack EE And Zacur HA(eds). In *Reproductive Medicine and Surgery*. Mosby, St. Louis, Missouri 1995; pp. 681-693.
16. Thompson JN, Paterson-Brown S, Harbourne T, et al. Reduced human peritoneal plasminogen activating activity: Possible mechanism of adhesion formation. *Br J Surg* 1989; 76: 382-4.
17. Musich J, Behrman S. Infertility laparoscopy in perspective: review of five hundred cases. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 143: 293-296.
18. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, et al. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958; 80: 2587-90.
19. Pangerl B, Pangerl A, Reiter RJ. Circadian variation of adrenergic receptors in the mammalian gland: a review. *J Neural Transm Gen Sect* 1990; 81: 17-29.
20. O'Brien IAD, Lewin IG, O'Hare JP, et al. Abnormal circadian rhythm of melatonin in diabetic autonomic neuropathy. *Clinical Endocrinology* 1986; 24: 359-364.
21. Klein DC, Sugden D, Weller JL. Postsynaptic alpha adrenergic receptors potentiate the beta adrenergic stimulation of pineal serotonin N-acetyltransferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences(USA)* 1983; 80: 599-603.
22. Moller M, Mikkelsen JD, Hoist JJ, et al. Somatostatin and prosomatostatin immunoreactive nerve fibres in the bovine pineal gland. *Neuroendocrinology* 1992; 56: 278-283.
23. Waldhauser F, Weiszenbacher G, Frisch H, et al. Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. *Lancet* 1984; 1: 362-5.
24. Reppert SM, Weaver DR, Rivkees SA, et al. Putative melatonin receptors in a human biological clock. *Science* 1988; 242: 78-81.

25. Lynch HC, Wurtman RJ, Moskowitz MA, et al. Daily rhythm in human urinary melatonin. *Science* 1975; 187: 169-71.
26. Iguchi H, Kato KI, Ibayashi Y. Melatonin serum levels and metabolic clearance rate in patients with liver cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1025-7.
27. Nordlund H, Lerner AB. The effect of oral melatonin on skin color and on the release of pituitary hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45: 768-74.
28. Wright JM, Aldhous M, Franey C, et al. The effect of exogenous melatonin on endocrine function in man. *Clin Endocrinol(Oxf)* 1986; 24: 375-82.
29. Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T. Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron* 1994; 13: 1177-85
30. Reppert SM, Godson C, Mahle CD, et al. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor. *Proc Natl Acad Sci(USA)* 1995; 92: 8734-8.
31. Benitez-King G, Anton-Tay F. Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia* 1993; 49: 633-41.
32. Stankov B, Fraschim F, Reiter RJ. Melatonin binding sites in the central nervous system. *Brain Res Brain Rev* 1991; 16: 245-56.
33. Yie SM, Niles LP, Younglai EV. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 1747-9.
34. Lee PPN, Pang SF. Melatonin and its receptors in the gastrointestinal tract. *Biol Signals* 1993; 2: 181-93.
35. Wiswanathan M, Laitinen JT, Saavedra JM. Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1990; 87: 6200-4.
36. Vollrath L, Semm P, Gammel G. Sleep induction by intranasal application of melatonin. *Adv Biosci* 1981; 29: 327-9.
37. Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, et al. Effects of melatonin on human mood and performance. *Brain Res* 1984; 323: 201-7.
38. Lewis AJ, Kerényi NA, Feuer G. Neuropharmacology of pineal secretions. *Drug Metabolism and Interactions* 1990; 8: 247-312.
39. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, et al. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1: 57-60.



40. Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ, et al. The pineal hormone melatonin inhibits DNA adduct formation induced by the chemical carcinogen role in vivo. *Cancer Lett* 1993; 70: 63-71.
41. Reiter RJ. The role of the neurohormone melatonin as a buffer against macromolecular oxidative damage. *Neurochem Int* 1995; 27: 453-60.
42. Maestroni GJ. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res* 1993; 14: 1-10.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. Reiter RJ. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocr Rev* 1980; 1: 109-21.
47. Rojansky N, Brzezinski A, Schenker JG. Seasonality in human reproduction: an update. *Hum Reprod* 1992; 7: 735-45.
48. 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
49. 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.
50. Puig-Domingo M, Webb SM, Serrano J, et al. Melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med* 1992; 327: 1356-9.
51. 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.

52. 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.
53. Brzezinski A, Lynch HJ, Seibel MM, et al. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 865-7.
54. Van Coevorden A, Mockel J, Laurent E, et al. Neuroendocrine rhythms and sleep in aging men. *Am J Physiol* 1991; 260: 651-61
55. 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.
56. 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.
57. Bartsch C, Bartsch H, Fuchs U, et al. Stage-dependent depression of melatonin in patients with primary breast cancer: correlation with prolactin, thyroid stimulating hormone, and steroid receptors. *Cancer* 1989; 64: 426-33.
58. 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.
59. Lissoni P, Meregalli S, Nosetto L, et al. Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology* 1996; 53: 43-6.
60. Lissoni P, Barni S, Meregalli S, et al. Modulation of cancer endocrine therapy by melatonin: a phase II study of tamoxifen alone. *Br J Cancer* 1993; 71: 854-6.
61. 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.
62. Pamela C. Champe. Phospholipids metabolism. Pamela C. Champe, Richard A. Harvey(eds), In Lippincot's Biochemistry 2 nd ed. Lippincott's illustrated review, 1994; 43: pp.191-199.

63. Beavis J, Harwood JL, Coles GA, et al. Synthesis of phospholipids by human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 1994; 14: 348-355
64. Hakomori S. Structure, organization, and function of glycosphingolipids in membrane. *Curr Opin Hematol* 2003; 10: 16-24.
65. Chailley-Heu B, Rubio S, Rougier JP, et al. Expression of hydrophilic surfactant proteins by mesentery cells in rat and man. *Biochem J* 1997; 328: 251-256.
66. Muller SA, Treutner KH, Tietze L, et al. Influence of intraperitoneal phospholipid dosage on adhesion formation and wound healing at different intervals after surgery. *Langenbecks Arch Surg* 2001; 386: 278-284.
67. Muller SA, Treutner KH, Tietze L, et al. Efficacy of adhesion prevention and impact on wound healing of intraperitoneal phospholipids. *J Surg Res* 2001; 96: 68-74.
68. Jansen M, Treutner KH, Schmitz B, et al. Phospholipids reduce gastric cancer cell adhesion to extracellular matrix in vitro. *BMC Gastroenterology* 2004; 4: 33-36
69. Jansen M, Treutner KH, Jansen PL, et al. Phospholipids reduce the intraperitoneal adhesion of colonic tumor cells in rats and adhesion on extracellular matrix in vitro. *International of Colorectal Disease* 2004; 19: 525-532.
70. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 851-858.
71. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246:1306-1309.
72. Tischer E, Mitchell R, Hartman T, et al. The human gene for vascular endothelial growth factor: multiple protein forms are encoded through alternative exon splicing. *J. Biol. Chem* 1991; 266: 11947-11954.
73. Mattei MG, Borg JP, Rosnet O, et al. Assignment of vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PIGF) genes to human chromosome 6p12-p21 and 14q24-q31 regions, respectively. *Genomics* 1996; 32: 168-169.
74. Helmlinger G, Endo M, Ferrara N, et al. Formation of endothelial cell networks. *Nature* 2000; 405: 139-141.
75. Frank S, Hubner G, Breier G, et al. Regulation of VEGF expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 1995; 270: 12607-12613.

76. Ben-Av P, Crofford LJ, Wilder RL, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression in synovial fibroblasts by prostaglandin E and interleukin-1: a potential mechanism for inflammatory angiogenesis. *FEBS Lett* 1995; 372: 83–87.
77. Bates DO, Lodwick D, Williams B. Vascular endothelial growth factor and microvascular permeability. *Microcirculation* 1999; 6: 83-96.
78. Brogley MA, Cruz M, Cheung HS. Basic calcium phosphate crystal induction of collagenase 1 and stromelysin expression is dependent on a p42/44 mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway. *J Cell Physiol* 1999; 180: 215-24.
79. Feng D, Nagy JA, Hipp J, et al. Vesiculovacuolar organelles and the regulation of venule permeability to macromolecules by vascular permeability factor, histamine, and serotonin. *J Exp Med* 1996; 183: 1981-6.
80. Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, et al. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am J Pathol* 2004; 164: 1935-47.
81. Scappaticci FA, Fehrenbacher L, Cartwright T, et al. Surgical wound healing complications in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *J Surg Oncol* 2005; 91: 173-180.
82. Wulff C, Wilson H, Largue P, et al. Angiogenesis in the human corpus luteum: localization and changes in angiopoietins, Tie-2, and vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid. *J Clin Endocr Metab* 2000; 85: 4302-4309.
83. Geva E, Ginzinger DG, Zaloudek F, et al. Human placental vascular development: vasculogenic and angiogenic (branching and nonbranching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor-A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. *J Clin Endocr Metab* 2002; 87: 4213-4224.
84. Gerber HP, Malik AK, Solar GP, et al. VEGF regulates haematopoietic stem cell survival by an internal autocrine loop mechanism. *Nature* 2002; 417: 954-958.
85. Dantz D, Bewersdorf J, Fruehwald-Schultes B, et al. Vascular endothelial growth factor: a novel endocrine defensive response to hypoglycemia. *J Clin Endocr Metab* 2002; 87: 835-840.
86. Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, et al. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nature Med* 1999; 5: 623-628.

87. Holash J, Maisonpierre PC, Compton D, et al. Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science* 1999;284:1994-1998,
88. Funatsu H, Yamashita H, Noma H,; et al. Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *Am J Ophthal* 2002; 133: 70-77.
89. Watanabe O, Maruyama I, Arimura K, et al. Overproduction of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is causative in Crow-Fukase (POEMS) syndrome. *Muscle Nerve* 1998; 21: 1390-1397.
90. Klein M, Vignaud JM, Hennequin V, et al. Increased expression of the vascular endothelial growth factor is a pejorative prognosis marker in papillary thyroid carcinoma. *J Clin Endocr Metab* 2001; 86: 656-658.
91. Sone H, Kawakami Y, Sakauchi M, et al. Neutralization of vascular endothelial growth factor prevents collagen-induced arthritis and ameliorates established disease in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 281: 562-568.
92. Giordano FJ, Gerber HP, Williams SP, et al. A cardiac myocyte vascular endothelial growth factor paracrine pathway is required to maintain cardiac function. *Proc Nat Acad Sci* 2001; 98: 5780-5785.
93. Linsky CB, Diamond MP, Cunningham T, et al. Adhesion reduction in a rabbit uterine horn model using an absorbable barrier TC-7. *J Reprod Med* 1987; 32: 17-20.
94. Goldman CK, Bharara S, Palmar CA, et al. Brain edema in meningiomas is associated with increased VEGF expression. *Neurosurgery* 1997; 40: 1269-77.
95. Gelhorn G. Experimental studies on post-operative adhesions. *Surg Gynecol Obstet* 1909; 8: 505-13.
96. Hellebrekers BWJ, Trimbos-Kemper TCM, Trimbos JBMZ, et al. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril* 2000;74:203-212.
97. Holtz G. Current use of ancillary modalities for adhesion prevention. *Fertil Steril* 1985; 44: 174-176.
98. San Filippo JS, Cox JG, Nealon NA, et al. Comparison of corticosteroid therapy in the prevention of pelvic tissue reaction and adhesion formation. *Int J Fertil* 1986; 30: 57-61.

99. Al-Chalabi HA, Ottuba JA. Value of a single intraperitoneal dose of heparin in prevention of adhesion formation: an experimental evaluation in rats. *Int J Fertil* 1987; 32: 332-335.
100. Şahin Y, Sağlam A. Synergistic effects of carboxymethylcellulose and low molecular weight heparin in reducing adhesion formation in the rat uterine horn model. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994; 73: 70-73.
101. Urman B, Gomel V, Jetha N. Effect of hyaluronic acid on postoperative intraperitoneal adhesion formation in the rat model. *Fertil Steril* 1991; 56: 563-7.
102. Başbuğ M, Aygen E, Tayyar M, et al. Hyaluronic acid plus heparin for improved efficacy in prevent of adhesion formation in rat uterine horn model. *Eur J Obst Gynecol* 1998; 78: 109-112.
103. Golan A, Maymon R, Winograd I, et al. Prevention of post-surgical adhesion formation using aspirin in a rodent model: a preliminary report. *Hum Reprod* 1995; 10: 1797-1800.
104. Kaya E, Sağlam A, Şahin Y. Postoperatif yapışıklıkların azaltılmasında sodyum diklofenak'ın rolü. *Kadın Doğum Dergisi* 1992; 7: 264-266.
105. Guvenal T, Cetin A, Ozdemir H, et al. Prevention of postoperative adhesion formation in rat uterine horn model by nimesulide: a selective COX-2 inhibitor. *Hum Reprod* 2001; 16: 1732-35.
106. Steinleitner A, Lambert H, Montoro L, et al. The use of calcium channel blockade for the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril* 1988; 50: 818-21.
107. Blauer KL, Collins RL. The effect of intraperitoneal progesterone on postoperative adhesion formation in rabbits. *Fertil Steril* 1988; 49: 144-149.
108. Bedirli A, Gokahmetoğlu S, Şakrak O, et al. Prevention of intraperitoneal adhesion formation using beta-glucan after ileocolic anastomosis in a rat bacterial peritonitis model. *The Am J Surg* 2003; 185: 339-343.
109. Keckstein J, Ulrich U, Sasse V, et al. Reduction of postoperative adhesion formation after laparoscopic ovarian cystectomy. *Hum Reprod* 1996; 11: 579-582.
110. Ellis H. The magnitude of adhesion related problems. *Ann Chir Gynaecol* 1998; 87: 9-11.
111. Duffy DM, Di Zerega GS. Is peritoneal closure necessary? *Obstet Gynecol Surv* 1994; 49: 817-822.

112. Stricker B, Blanco J, Fox HE. The gynecologic contribution to intestinal obstruction in females. *J Am Coll Surg* 1994; 178: 617–620.
113. O’Leary DP, Coakley JB. The influence of suturing and sepsis on the development of postoperative peritoneal adhesions. *Ann R Coll Surg Engl* 1992; 74: 134–137.
114. Griffin A, Malinak L. Peritoneal closure. *Prog Clin Biol Res* 1993; 381: 97–100.
115. Nygaard IE, Squatrito RC. Abdominal incisions from creation to closure. *Obstet Gynecol Surv* 1996; 51: 429–436.
116. Malinak LR, Young AE. Peritoneal closure: When and why. *Contemp Obstet Gynecol* 1997; 42: 102–112.
117. Luijendijk RW, De Lange DCD, Wauters CCAP, et al. Foreign material in postoperative adhesions. *Ann Surg* 1996; 223: 242–248.
118. Diamond MP, De Cherney AH. Pathogenesis of adhesion formation/reformation: Application to reproductive pelvic surgery. *Microsurgery* 1987; 8: 103–107.
119. Frankfurter D, De Cherney AH. Pelvic adhesive disease. *Postgrade Obstet Gynecol* 1996; 16: 1–5.
120. Buckman R J, Buckman P, Hufnagel H, et al. A physiologic basis for the adhesion free healing of deperitonealized surfaces. *J Surg Res* 1976; 21: 67–76.
121. Chung-Yu C, Shu-Chu S, Hui-Chen T, et al. Protective effect of melatonin on renal injury of rats induced by bile duct ligation. *Digestive Dis and Sci* 2001; 46: 927-931.
122. Bertuglia S, Marchiafava P.L, Colantuoni A. Melatonin prevents ischemia reperfusion injury in hamster cheek pouch microcirculation. *Cardiovascular Research* 1996; 31: 947-752.
123. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Path* 1982; 107: 397-399.
124. Zeller JM, Henig I, Radwanska E, et al. Enhancement of human monocyte and peritoneal macrophage chemiluminescence activities in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1987; 13: 78-81.
125. Douglas MP, Thomas EE, Russel W, et al. Oxygen free radicals and pelvic adhesion formation: I. Blocking oxygen free radical toxicity to prevent adhesion formation in an endometriosis model. *Int J Fertil* 1991; 36: 39-42.
126. Hills BA. Role of surfactant in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 200; 20: 503-15.

127. Treutner KH, Bertram P, Lerch MM, et al. Prevention of postoperative adhesions by single intraperitoneal medication. *J Surg Res* 1995; 59: 764-771.
128. Ar'Rajab A, Ahren B, Rozga J, et al. Phosphatidylcholine prevents postoperative peritoneal adhesions: an experimental study in rat. *J Surg Res* 1991; 50: 212-5.
129. Ar'Rajab A, Snoj M, Larsson K, et al. Exogenous phospholipid reduces postoperative peritoneal adhesions in rats. *Eur J Surg* 1995; 161: 341-44.
130. Müller SA, Treutner KH, Tietze L, et al. Influence of intraperitoneal phospholipid dosage on adhesion formation and wound healing at different intervals after surgery. *Lang Arc Surg* 2001; 386: 278-84.
131. Müller SA, Treutner KH, Tietze L, et al. Efficacy of adhesion prevention and impact on wound healing of intraperitoneal phospholipids. *J Surg Res* 2001; 96: 68-74.
132. Rout UK, Oommen K, Diamond MP. Altered expressions of VEGF mRNA splice variants during progression of uterine-peritoneal adhesions in the rat. *Am J Reprod Immunol* 2000; 43: 299–304.
133. Chiang SC, Cheng CH, Moulton KS, et al. TNP-470 inhibits intraabdominal adhesion formation. *J Pediatr Surg* 2000; 35:189–196.
134. Greene AK, Alwayn I P J, Nose V, et al. Prevention of intra-abdominal adhesions using the antiangiogenic COX-2 Inhibitor Celecoxib. *Ann Surg* 2005; 242: 140-6



**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA**

Arş. Gör. Dr. Ali Rıza Erdoğan'a ait, melatonin ve fosfolipidin ratlarda deneysel peritoneal adezyon oluşumu üzerine etkilerinin vascular endothelial growth factor ekspresyonu ile korelasyonu adlı çalışma, jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih :

İmza

Başkan..... İmza

Üye..... İmza

Üye..... İmza

Üye..... İmza

Üye..... İmza