

## Düşük doz bevasizumabın ratlarda adezyon oluşumu ve vasküler endotelyal büyüme faktörü üretimine etkilerinin değerlendirilmesi

Evaluation of low dose bevacizumab on adhesion formation and vascular endothelial growth factor expression in rats

Alper Akcan\*, Hülya Akgün\*\*, Hızır Akyıldız\*, Namık Yılmaz\*, Can Küçük\*, Engin Ok\*, Erdoğan Sözüer\*

### Amaç:

Deneysel adezyon formasyonu oluşturulan ratlarda bevasizumabın adezyon gelişimine ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) üretimine etkisini araştırmak.

### Yöntem:

Ratlar randomize olarak 10 rattan oluşan sham, kontrol ve bevasizumab gruplarına ayrıldı. Sham grubuna sadece laparotomi yapıldı. Kontrol ve çalışma gruplarında sağ alt kadranda pariyetal peritonda abrazyon yapıldı, çekum, ileum ve uterusun sağ boynuzunda serozal defekt oluşturuldu. Bu işlem sonrası kontrol grubuna serum fizyolojik, çalışma grubuna bevasizumab (1 mg/kg, intravenöz) verildi. Bütün gruplarda 15 gün sonra relaparotomi yapılarak adezyon gelişimi değerlendirilip skorlama yapıldı. VEGF boyaması için yapışıklık gelişen alanlardan doku örnekleri alındı.

### Bulgular:

Kontrol grubunda gerek adezyon gelişimi gerekse VEGF boyanması sham ve çalışma gruplarından belirgin olarak yüksekti ( $p<0,05$ ). Buna karşın sham ve bevasizumab grupları arasında adezyon gelişimi arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,165$ ).

### Sonuç:

Deneysel adezyon formasyonu oluşturulan ratlarda bevasizumab adezyon gelişimini azaltmaktadır. Gelişen adezyonun şiddeti ile VEGF ekspresyonu arasında paralellik olduğu saptanmıştır.

### Anahtar Kelimeler:

Bevasizumab, VEGF ekspresyonu, peritoneal adezyon, adezyon şiddeti.

Abdominal ve pelvik cerrahi sonrası gelişen peritoneal adezyonlar modern cerrahinin başlangıcından günümüze kadar önemli bir sorun olmuştur. 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, adezyon gelişiminin patofizyolojisini anlamak ve bu bilgiler ışığında adezyon gelişimini engellemek için bir çok çalışma yapılmıştır (1-3).

Cerrahi sonrası 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 parçalanmadığında kalıcı fibröz doku oluşmakta ve adezyonlar gelişmektedir (1).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), tanımlanmış en etkili angiogenesis faktörüdür (4). VEGF'nin en önemli özelliği diğer anjiogenik faktörlerden farklı olarak hedef hücrelerinin sadece endotel hücreleri olmasıdır (5). VEGF'nin kendi reseptörleri ile etkileşiminin endotel hücre proliferasyonuna ve yeni kan damarı oluşumuna neden olduğu, bunun sonucunda erken yara iyileşmesi ve fibrozis gelişiminde etkisi olduğu gösterilmiştir (6).

Çok sayıda çalışmada birçok solid insan tümörü tipinde tümör dokularında ve dolaşımda VEGF üretiminin arttığı ve bu artışın tümör anjiogenezi ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (7,8). Bevasizumab, VEGF'ye spesifik olarak bağlanan ve biyolojik aktivitesini nötralize ederek anjiogenezi inhibe eden bir rekombinant monoklonal antikordur (9). Bevasizumab başlangıçta sadece kanser tedavisinde kullanılmakta idi ancak son zamanlarda oftalmologlar tarafından proliferatif göz hastalıklarının tedavisinde intravitreal ajan olarak kullanılmaya başlamış ve belirgin bir intraoküler toksisite saptanmamıştır (10).

Bizde bu bilgilerden ve ilacın adezyon gelişiminde son derece önemli olan VEGF üzerindeki etkisinden hareketle cerrahi işlemlerden sonra uygulanmasının adezyonları azaltabileceğini düşünerek etkilerini değerlendirmeyi planladık.

\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, KAYSERİ

\*\* Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, KAYSERİ

Dr. Alper AKCAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD.

38039 / KAYSERİ

Faks: (0352) 437 52 73

e-posta: acakcan2002@yahoo.com - acakcan@erciyes.edu.tr

**Tablo 1:** Adezyon skorlama sistemi (11)

	Değerlendirme ölçütleri	Puan
Adezyon yaygınlık skoru	Adezyon yok	0
	Travmatize alanın %25'inde yapışıklık	1
	Travmatize alanın %50'sinde yapışıklık	2
	Travmatize alanın tamamında yapışıklık	3
Adezyon şiddet skoru	Direnç göstermeksizin ayrılan yapışıklıklar	0
	Orta derecede güç harcanarak ayrılan yapışıklıklar	0.5
	Keskin diseksiyonla ayrılan yapışıklıklar	1

## Gereç ve Yöntem

Bu deneysel çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışma öncesinde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun onayı alındı.

### Deneysel Model

Çalışmada ağırlığı 200–240 gram arasında değişen, dişi ve standart rat diyetiyle beslenen 30 adet Wistar-Albino tipi rat kullanıldı. Ratlar randomize olarak 10'ar ratlık sham, kontrol ve bevasizumab gruplarına ayrıldı.

### 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 temizlendi. Steril koşullarda standart orta hat insizyonla laparotomi yapıldı.

Laparotomi sonrası çekum ve ileum serozasından toplam 4 cm<sup>2</sup>, sağ uterin boynuzda orta kısımda ise 2 cm<sup>2</sup> seroza soyuldu. Ayrıca sağ alt kadranda ve alt orta kadranda pariyetal peritonda yaklaşık 6 cm<sup>2</sup> lik alanda noktasal kanamalar olacak kadar abrazyon yapıldı (2,3).

Sham grubundaki ratlarda laparotomi yapıldıktan sonra sağ alt kadranda organlar, periadneksiyal bölge

ve pariyetal periton palpe edilerek cerrahi işlem sonlandırıldı. Kontrol ve bevasizumab gruplarındaki ratlara operasyonda adezyon formasyonu oluşturmak için yukarıda tariflenen deneysel model uygulandı. Daha sonra çalışma grubundaki ratlara bevasizumab (1 mg/kg, tek doz), kontrol grubundaki ratlara ise aynı miktarda serum fizyolojik kuyruk veninden intravenöz olarak verildi. Ratlara uygulanan cerrahi işlemler sonrası fasya peritonla birlikte 4/0 katgütle, cilt 4/0 ipekle kapatıldı. Ameliyat sonrası erken dönemde ağızdan su ve gıda alınmasına izin verildi.

Kontrol ve bevasizumab gruplarında birer rat çalışma sırasında öldü. Bunların yerine, aynı sayıda rat çalışmaya dâhil edildi. 15 gün yaşatılan ratlara, ölümcül doz pentobarbital sonrası, sol paramedian insizyonla laparotomi yapıp adezyon gelişimi değerlendirildi. Adezyon yaygınlık ve şiddeti, aynı araştırmacı tarafından (A.A.) ve hangi ratın hangi grupta olduğu bilinmeksizin değerlendirildi. Bütün gruplarda adezyon gelişen serozal yüzeylerden doku örnekleri alındı.

### Parametreler

#### A. Adezyon skoru

Adezyon skorunu tariflemek için Linsky ve ark. (11) tarafından tanımlanan skorlama sistemi kullanıldı. Bu sistemde adezyonun yaygınlığı ve şiddeti ayrı ayrı değerlendirilip, her

iki değer toplanarak toplam adezyon skorları hesaplandı. Bu sisteme göre yapılan puanlama Tablo 1'de görülmektedir. 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 inceleme

VEGF antikoru için, yapışıklık olan 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 (12). İmmüno-histokimyasal boyama yöntemiyle: %10'luk formol içinde saklanan dokulara parafin emdirildikten sonra spesimenlerden 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®) antikoru uygulandı. Dokular 10 dakika PBS ile yıkandıktan sonra preparatlara biyotin damlatılıp 10 dakika bekletildi ve tekrar PBS ile yıkanarak streptavidin damlatıldı. 10 dakika PBS ile yıkandıktan sonra kromojen damlatılıp 10 dakika bekletildi ve yine 10 dakika distile su ile yıkandı. Meyer-hemotoksilende 3 dakika bekletildikten sonra 5 dakika distile su ile yıkandı, artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilolde 15 dakika bekletildikten sonra kapatılma solüsyonu ile preparatlar kapatıldı (12).

### İstatistiksel Analiz

Veriler median (min-max) olarak ifade edildi. Grupların karşılaştırılma-

sında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı. İstatistiksel analizler, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows (13,0 version) programında yapıldı.  $P < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Bulgular

**A. Adezyon Skoru Sonuçları:** Sham grubunda 2 ratta (%20) hiç yapışıklık yoktu. Bu grupta yapışıklık gelişen 8 ratın 6'sında omentum ile insizyon hattı arasında yapışıklık vardı. Kontrol grubunda bütün ratlarda yapışıklık olup 10 ratın 8'inde omentum veya organlar ile insizyon hattı arasında yapışıklık vardı. Bevasizumab grubunda ise 5 ratta (%50) hiç yapışıklık yoktu. Sham grubu ve çalışma gruplarında toplam adezyon skoru, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük iken ( $P < 0.01$ ) bu iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ( $P = 0.165$ ) (Şekil 1).

**B. VEGF Boyama Sonuçları:** Kontrol grubunda yapışıklık olan alanlardaki VEGF boyanma sonuçları diğer iki gruba göre anlamlı derecede daha yüksekti ( $P < 0.001$ ). Bununla birlikte bevasizumab grubunda VEGF boyanma değeri sham grubundan daha düşük bulundu. ( $P = 0.023$ ) (Şekil 2).

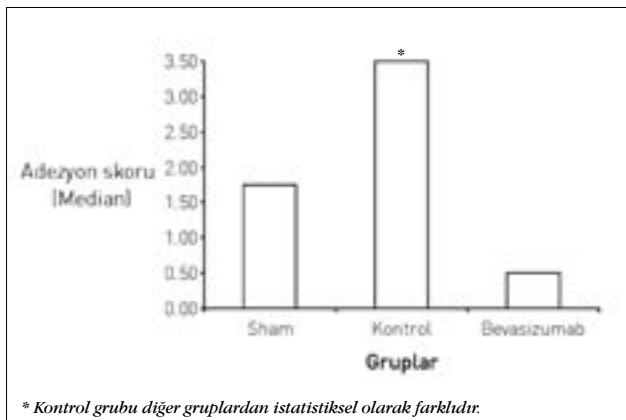
## Tartışma

Peritoneal adezyon gelişimi aslında normal yara iyileşmesinin sonucudur.

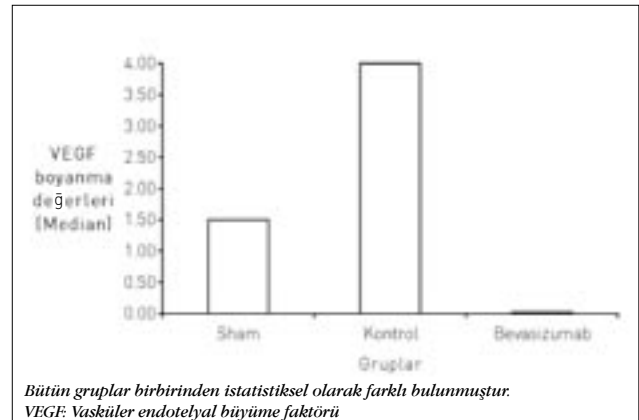
Peritoneal adezyonu başlatan anahtar basamak serozal yüzeylerdeki mezotel hücrelerin hasarlanmasıdır. Subserozal bağ dokunun açığa çıkmasıyla seroanjinöz eksuda ortaya çıkmakta ve bu eksuda 72 saat içinde yumuşak fibrin jel matriksi oluşturmaktadır. Bu fibrin jel matriks normalde mezotel hücrelerinde 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 yoğun ve damarlanması fazla yapışıklıklar gelişmektedir (1). Çalışmamızda yapışıklıkları değerlendirmek için relaparotomi zamanı bu nedenle cerrahi sonrası 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, kristalloid solüsyonları, kortikosteroidler, heparin, hyaluronik asit, non-steroidal antiinflamatuvar ajanlar, kalsiyum kanal blokerleri, progesteron, nonspesifik immunostimülan beta-glucan ve bariyer metodları uygulanmıştır (13-22). Bu ajanlarla etkili sonuçlara ulaşılma ile birlikte istenmeyen bazı etkilerinin önemli klinik problemlere neden olmaları kullanımını sınırlamaktadır.

Çalışmamızda sham grubunda sadece laparotomi yapıp sağ alt kadranda organlar ve pariyetal periton palpe edilip 3-4 dakika içinde cerrahi sonlandırılıp karın kapatılmasına rağmen 10 ratın 8 tanesinde (%80) yapışıklık gelişmiştir. 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 (23). Yine çalışmamızda pariyetal peritonun kapatıldığı katgüt, yaptığı doku reaksiyonuna bağlı olarak, insizyon hattındaki yapışıklıklara katkıda bulunmuş olabilir. Serozal defektlerin ve kanamanın olmaması sham grubunda gelişen adezyonların şiddetinin düşük (ortalama şiddet skoru  $1.70 \pm 1.41$ ), olmasına neden olmuştur. Yine bu sonuç organların sadece dokunulmasının bile yapışıklıklara neden olabileceğini göstermektedir. Kontrol grubunda 10 ratın 8 tanesinde omentum ile insizyon hattı arasında yapışıklık gelişirken (%80), hepsinde (%100) sağ alt kadranda organlar arasında ve karın duvarı arasında yapışıklık gelişmiştir. Bu sonuç serozal defektlerin ve eşlik eden pıhtıların yapışıklığın hem yaygınlığını hem de şiddetini (ortalama şiddet skoru  $3.35 \pm 0.57$ ) artırdığı yönündeki bilgilerle uyumludur (1-3).



Şekil 1: Grupların adezyon skorları.



Şekil 2: Grupların VEGF boyanma değerleri.

Bu çalışmada bevasizumabın uygulanımı ile yapışıklık gelişmesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalması, gelişen adezyonlarda ortalama şiddet skorunun düşük ( $0.80 \pm 0.94$ ) olması ve keskin diseksiyon gerektiren dens yapışıklıklar gelişmemesi bevasizumabın VEGF blokajı yaparak anjiogenezi ve buna bağlı olarak adezyon oluşumunu önemli oranda bloke ettiğini göstermektedir. Bu sonuç bevasizumabın adezyon gelişimini önlemede etkin bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Bu amaçla kullanımını kısıtlayabilecek temel etken olası yan etkileridir. İlacın bilinen en önemli yan etkileri yara iyileşmesini geciktirmesi ve gastrointestinal perforasyonlara neden olabilmesidir (24). Çalışmamızda buna yönelik bir değerlendirme yapılmamasına karşın bu komplikasyonlara rastlanmamıştır. Ancak bunun nedeni ilacın düşük dozda uygulanması olabilir.

Çalışmamızda VEGF ile boyanma kontrol grubunda bevasizumab ve sham gruplarından anlamlı derecede

( $p < 0.05$ ) yüksek bulunmuştur. Bu sonuç adezyon gelişimi sırasında VEGF ekspresyonunun arttığını ve adezyon gelişimine önemli katkısının olduğunu göstermektedir. VEGF stabil olmayan damarlar üzerinde etki göstererek anjiyogenik gelişimi artırırken olgunlaşmamış damarlarda endotel hücrelerinin apoptozunu önlemektedir (25). Bu durumda anjiogenezi sitümler olarak vasküler adezyonların oluşumu kolaylaşmaktadır. Bu durumun en iyi araştırıldığı hastalık grubu tümörlerdir. Tümör kökenli büyüme faktörlerinin ve tümörün nekrotik alanlarındaki hipoksi yeni damar oluşumunu sitümlerle etkilemektedir (26). Bu sonuç, bevasizumabın VEGF'yi bloke ederek hasarlanan alanda anjiogenezi için gerekli mediatörlerin salınımını azaltması veya engellemesi sonucu damardan zengin şiddetli adezyon gelişimini engellemesine bağlı olabilir.

VEGF bilinen en güçlü anjiogenetik faktördür. Bu faktörün anjiogenezi uyaran diğer faktörlerden en önemli farkı sadece endotele özgü bir büyüme

faktörü olmasıdır (27). Yara iyileşmesi sırasında VEGF ekspresyonu artmaktadır (28). Adezyon gelişimi aslında yara iyileşmesinin bir sonucu olduğu için adezyon gelişimi içinde anjiogenezi gereklidir (26). Bundan dolayı araştırmacılar anjiogenezi engellendiği takdirde adezyon gelişiminin önüne geçilebileceğini düşünmüşlerdir (18, 29,30). Bevasizumab VEGF blokajı yaparak tümörlerde anjiogenezi inhibe etmektedir (26). Çalışmamızda da olasılıkla bu etkisi nedeniyle benzer bir oluşum olan vaskülitisi artmış adezyonların oluşumunu azaltmıştır.

Sonuç olarak adezyon oluşumunda büyük rol oynayan VEGF'nin bevasizumab ile inhibisyonu bu problemin çözümünde umut vermektedir. Ancak VEGF inhibisyonunun embriyogenezi, organogenezi, hemopoietik sistem, immün sistem ve endokrin sistem üzerindeki olası yan etkileri bevasizumabın klinik kullanımını güçleştirebilir. Bu amaçla deneysel ve prospektif randomize klinik çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. Barbul A. Wound Healing. Brunicaardi 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. Özcelik 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. Hum Reprod 2003; 18: 1703-1706.
3. 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.
4. Gerwins P, Skoldenberg E, Claesson-Welsh L. Function of fibroblast growth factors and vascular endothelial growth factors and their receptors in angiogenesis. Crit Rev Oncol Hematol, 2000; 34: 185-194.
5. Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. Acta Haematol 2001; 10: 148-156.
6. Bloch W, Huggel K, Sasaki T, et al. The angiogenesis inhibitor endostatin impairs blood vessel maturation during wound healing. FASEB J, 2000; 14: 2373-2376.
7. Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Polychronidis A, et al. Circulating VEGF levels in the serum of gastric cancer patients: correlation with pathological variables, patient survival, and tumor surgery. Ann Surg, 2002; 236: 37-42
8. Nakasaki T, Wada H, Sh, Shigemori C, et al. Expression of tissue factor and VEGF is associated with angiogenesis in colorectal cancer. Am J Hematol, 2002; 69: 347-254.
9. Kalofonos HP, Grivas PD. Monoclonal antibodies in the management of solid tumors. Curr Top Med Chem, 2006; 6: 1687-1705
10. Laud K, Spaide RF, Freund KB, et al. Treatment of choroidal neovascularization in pathologic myopia with intravitreal bevacizumab. Retina, 2006; 26: 960-963.
11. Linsky CB, Diamond MP, Cunnigham T, et al. Adhesion reduction in a rabbit uterine horn model using an absorbable barrier TC-7. J Re-

- prod Med 1987; 32: 17-20.
12. Goldman CK, Bharara S, Palmar CA, et al. Brain edema in meningiomas is associated with increased VEGF expression. *Neurosurgery*, 1997; 40: 1269-1277.
  13. Hellebrekers BWJ, Trimbo-Kemper TCM, Trimbo JBMZ, et al. Use of fibrinolytic agents in the prevention of postoperative adhesion formation. *Fertil Steril*, 2000; 74: 203-212.
  14. Holtz G. Current use of ancillary modalities for adhesion prevention. *Fertil Steril*, 1985; 44: 174-176.
  15. San Flippo 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.
  16. 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.
  17. 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.
  18. Kaya E, Sağlam A, Şahin Y. Postoperatif yapışıklıkların azaltılmasında sodyum diklofenak'ın rolü. *Kadın Doğum Dergisi*, 1992; 7: 264-266.
  19. 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: 818-821.
  20. Blauer KL, Collins RL. The effect of intraperitoneal progesterone on postoperative adhesion formation in rabbits. *Fertil Steril*, 1988; 49: 144-149.
  21. Bedirli A, Gokahmetoglu S, Sakrak O, et al. Prevention of intraperitoneal adhesion formation using beta-glucan after ileocolic anastomosis in a rat bacterial peritonitis model. *Am J Surg*, 2003; 185: 339-343.
  22. Keckstein J, Ulrich U, Sasse V, et al. Reduction of postoperative adhesion formation after laparoscopic ovarian cystectomy. *Hum Reprod*, 1996; 11: 579-582.
  23. Zareian Z, Zareian P. Non-closure versus closure of peritoneum during cesarean section: A randomized study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2006; 128: 267-279.
  24. Gordon MS, Cunningham D. Managing patients treated with bevacizumab combination therapy. *Oncology*, 2005; 69: 25-33.
  25. Holash J, Wiegand SJ, Yancopoulos GD. New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene*, 1999; 18: 5356-5362.
  26. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med*, 1986; 315: 1650-1659.
  27. 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.
  28. 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.
  29. Chiang SC, Cheng CH, Moulton KS, et al. TNP-470 inhibits intraabdominal adhesion formation. *J Pediatr Surg*, 2000; 35: 189-196.
  30. 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: 140-146

#### KATKIDA BULUNANLAR:

##### Çalışmanın düşünülmesi ve planlanması:

Alper Akcan, Engin Ok, Erdoğan Sözüer

##### Verilerin elde edilmesi:

Alper Akcan, Hızır Akyıldız, Namık Yılmaz, Can Küçük

##### Verilerin analizi ve yorumlanması:

Alper Akcan, Hülya Akgül

##### Yazının kaleme alınması:

Alper Akcan, Hızır Akyıldız, Namık Yılmaz

##### İstatistiksel değerlendirme:

Alper Akcan, Namık Yılmaz