

Deneysel Araştırma

Postoperatif Adezyon Oluşumunu Önlemede Oral C Vitamini Etkisinin Araştırılması: Deneysel Çalışma

Şehmus PALA¹, Remzi ATILGAN^{1,a}, Tuncay KULOĞLU², Melike BAŞPINAR¹, Emre YALÇIN¹, Şeyda YAVUZKIR¹

¹Fırat Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Amaç: Ratlarda oluşturulan uterin horn modelinde adezyonu önlemede günlük oral C vitamini etkisinin araştırılması.

Gereç ve Yöntem: Yirmibir adet dişi Wistar Albino cinsi rat rastgele, prospektif, tek kör olarak üç gruba ayrıldı. Grup 1 (n=7): Sadece batin açıp kapatılan grup, Grup 2 (n=7): Sağ uterin horna 2 cm lineer kesi yapıp 4/0 vicryl ile kapatılan grup, Grup 3 (n=7): Operasyondan bir gün önce 50 mg/kg dozunda C vitamini verildikten sonra sağ uterin horna 2 cm lineer kesi yapıp 4/0 vicryl ile kapatılan grup. Tüm ratların 15 gün sonra batınları açıldı. Lisky skalasına göre adezyon skorlaması ve şiddeti değerlendirildi. Sağ uterin horn bölgesi çıkarılıp %10 formaldehitte tespit edildi. Parafin bloklardan alınan 5µm'lik kesitlere Masson's trichrome, TUNEL ve İmmüno-histokimyasal boyama yapıldı. Travmatize edilen uterin horn bölgesinde histolojik olarak vasküler endothelial growth faktör (VEGF), anjiogenezis, Tip I kollajen ve malondialdehit (MDA) skorlaması yapıldı.

Bulgular: Adezyon alanı ve adezyon şiddeti G3'te G2'ye göre anlamlı olarak daha az idi. G2 ile G1 karşılaştırıldığında fibrozis, anjiogenezis, VEGF, Tip I kollajen ve MDA skorları G2'de anlamlı derecede yüksek bulundu. VEGF ve tip I kollajen skoru G3'te G1'e göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Fibrozis, anjiogenezis ve MDA skorları G2'de G3'e göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç: Günlük verilen oral C vitamini rat uterin horn modelinde intraabdominal adezyon formasyonunu önlemele etkili bulundu.

Anahtar Sözcükler: Rat, Postoperatif Adezyon Formasyonu, C Vitamini.

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Daily Oral Vitamin C in Preventing the Postoperative Adhesion Formation: An Experimental Study

Objective: Investigation of the effect of daily oral vitamin C in preventing the adhesion in uterine horn model in rats.

Material and Method: Twenty one female Wistar Albino rats were divided into three groups as random. Group 1 (n=7): Only abdomen was opened and closed. Group 2 (n=7): A 2 cm linear incision was made to the right uterine horn, and closed with 4/0 vicryl. Group 3 (n=7): After the administration of vitamin C at a dose of 50 mg/kg a day before the operation, a 2 cm linear incision was made to the right uterine horn and closed with 4/0 vicryl. All rats were opened after 15 days. Adhesion scoring and severity were evaluated according to Lisky scale. The right uterine horn was removed and fixed under 10% formaldehyde. Masson's trichrome, TUNEL and immuno-histochemical staining were performed on 5 µm sections taken from paraffin blocks. Vascular endothelial growth factor (VEGF), angiogenesis, Type I collagen and malondialdehyde (MDA) were performed histologically in the traumatized uterine horn region.

Results: Adhesion area and adhesion severity were significantly lower in G3 than G2. When G2 and G1 were compared, fibrosis, angiogenesis, VEGF, Type I collagen and MDA scores were significantly higher in G2. VEGF and type I collagen score were significantly higher in G3 than G1. Fibrosis, angiogenesis and MDA scores were significantly higher in G2 than in G3.

Conclusion: Daily oral vitamin C was found to be effective in preventing intraabdominal adhesion formation in the rat uterine horn model.

Keywords: Rat, Postoperative Adhesion Formation, Vitamin C.

Bu makale atıfta nasıl kullanılır: Pala Ş, Atılğan R, Kuloğlu T, Başpınar M, Yalçın E, Yavuzkır Ş. Postoperatif Adezyon Oluşumunu Önlemede Oral C Vitamini Etkisinin Araştırılması: Deneysel Çalışma. Fırat Tıp Dergisi 2019; 24 (4): 170-176.

How to cite this article: Pala S, Atılğan R, Kuloğlu T, Başpınar M, Yalçın E, Yavuzkır S. Investigation of the Effect of Daily Oral Vitamin C in Preventing the Postoperative Adhesion Formation: An Experimental Study. Fırat Med J 2019; 24 (4): 170-176.

İntraabdominal cerrahi sonrasında, peritoneal adezyonların gelişimi ciddi bir postoperatif komplikasyondur. Postoperatif adezyonlar insizyon, koterizasyon, sütürleme ve diğer travmalar nedeniyle oluşabilir. Bu adezyonlar ise ince barsak obstrüksiyonu, kronik pelvik ağrı ve kadınlarda infertiliteye, özellikle onkolojik ve pediatrik cerrahilerde de ciddi problemlere yol açabilir (1-3).

Postoperatif intraabdominal adezyonun patogenezi inflamasyon, kolajen ile ilişkili pıhtı oluşumu, anjiyo-

genez, fibrinoliz ve doku onarımlarını, epitelyal-mezenkimal geçiş/endotelial mezenkimal geçiş veya mezotelial-mezenkimal geçişi de içeren karmaşık bir süreçtir (4-6). Adezyon formasyonunda anahtar nokta, peritonun yüzey kaplamasıdır. Peritonun yaralanması koagülasyon kaskadı aktivasyonuna ve hiperemi, sıvı eksüdasyonu, yüzen mezotelial hücrelerin devreye girmesinden ve beyaz kan hücrelerinin ve trombositlerin periton boşluğuna salınmasından oluşan inflamatuvar bir tepkiye yol açar (4, 7). Normal fibrinolitik aktivite genellikle üç ila dört gün boyunca fibröz ataşmanları

^aYazışma Adresi: Remzi ATILGAN, Fırat Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Tel: 0424 233 3555

Geliş Tarihi/Received: 24.11.2018

e-mail: remzi_atilgan@hotmail.com

Kabul Tarihi/Accepted: 20.02.2019

önler ve ameliyattan beş ila altı gün sonra mezotel onarımı gerçekleşir (7). Peritoneal iskemi, fibrinolitik aktivitenin inhibisyonuna neden olur (8). Yapılan çalışmalar inflamasyon reaksiyonunda iskemi ve reperfüzyondan sonra oluşan reaktif oksijen türevlerinin önemli rol oynadığını göstermiştir (9, 10).

Vitamin C (VC) insan plazmasında ve hücre zarında bulunan, zarları kolayca geçebilen antioksidanlardan biridir. Suda çözünebilir düşük moleküler ağırlıklı bu antioksidan kollojen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin redoks durumunun korunmasında gereklidir. VC insan plazmasında lipid peroksidasyonunun en güçlü inhibitörüdür ve süperoksit hidroksil radikali gibi çeşitli serbest oksijen radikallerinin (ROS) etkili temizleyicisidir (11).

Bu çalışmada rat uterusun horn modelinde postoperatif adezyon oluşumunu önlemek için günlük oral C vitamini etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. 21 adet düzenli siklusa sahip, 200±40 gram ağırlığında, 14 haftalık, erişkin dişi Wistar Albino cinsi rat 12 saat ışık (08- 20), 12 saat karanlık fotoperiyodunda ve 21- 23 C° sabit sıcaklıktaki odada, standart pellet yemi ve şehir suyu ile beslendi. Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Komitesi'nden izin alındı. Ratlara anestezi sağlamak amacıyla Ketamine (Ketalar, Eczacıbaşı Warner-Lambert, İstanbul, Turkey) 60 mg/kg ve Xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul, Turkey) 7 mg / kg sol arka ayak adalesine intramusküler yolla uygulanarak anestezi sağlandı. Rattar sırt üstü pozisyonda operasyon masasına yatırıldı, cerrahi alan %10'luk povidone iodine solüsyonu ile yıkanarak antiseptisi sağlandı ve batin orta hat insizyonla açıldı.

Ratlar rastgele prospektif 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n =7): Sadece batin açılıp kapatılan grup (sham grubu)

Grup 2 (n =7): Adezyon grubu, sağ uterusun horna 2 cm lineer kesi yapıp 4/0 vicryl ile kapatılan grup,

Grup 3 (n =7): Operasyondan bir gün önce 50 mg/kg dozunda gavaj ile oral vitamin C uygulanan ve sağ uterusun horna 2 cm lineer kesi yapıp 4/0 vicryl ile kapatılan grup (12).

Adezyon oluşturmak için tüm ratlara sağ uterusun hornunda antimezenterik yüzeyde, orta hatta bistürü ile 2 cm'lik uzunlamasına insizyon yapıldı. Bu insizyon 4/0 vicryl ile kapatıldı.

Batin tabakaları 3/0 ipek ile kontünü kapatıldı. Tüm ratların 15 gün sonra vertikal insizyonla batını açıldı. Abdominal kavite gözlemlendi.

Linsky ve ark'nın (13) önerdiği şekilde, yazarlardan birisi tarafından kör olarak adezyon skorlaması yapıldı. Linsky skorlaması:

Adezyon boyutu:

Adezyon yok=0 puan,

travmatize alanın %25'inde var=1 puan,

travmatize alanın %25-50'sinde var=2 puan,
travmatize alanın %50-%100'ünde var=3 puan.

Adezyon şiddeti:

Ayırma işlemine herhangi bir direnç yok=0 puan,

orta derecede güç gerekli =0,5 puan,

keskin diseksiyon gerekli=1 puan.

Histolojik İnceleme: Travmatize edilen uterusun horn bölgesi adezyon oluşan kısımları da içerecek şekilde hızla çıkarılıp %10 formaldehitte tespit edildi. Rutin ışık mikroskobu takibi yapılarak dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitlere Masson's trikrom boyası yapıldı. Histopatolojik adezyon değerlendirilmesinde Hooker ve ark'nın (14) tanımladığı semikantitatif skorlama sistemi kullanıldı. Histopatolojik adezyon fibrozis varlığı ve yaygınlığına göre kategorize edildi. grade 0= fibrozis yok, grade I= hafif fibrozis, grade II= orta derecede fibrozis ve grade III= şiddetli fibrozis.

İmmünohistokimyasal inceleme: Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6 da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen primer antikorlar (Rabbit polyclonal VEGF (vascular endothelial growth factor), E2611, Spring Bioscience, USA), (Rabbit polyclonal Anti-Malondialdehyde antibody, (ab6463), Abcam, Cambridge, UK) and (Collagen Type I mouse monoclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, sc-59772, California, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, Sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkanıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskobunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zit boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation,

USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde Goldman ve ark' nın (15) tanımladığı semi-kantitatif skorlama sistemi kullanıldı. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (0= boyanma yok; 1= şüpheli; 2= hafif; 3= orta; 4= kuvvetli pozitif).

İstatistiksel analiz: Çalışmada kullanılacak değişkenlerden standart sapması en geniş olan değişken için %80 güç ve 0.05 anlamlılık seviyesinde bir güç analizi gerçekleştirildiğinde her bir grupta en az 5 optimal olarak da 7 denek olması gerektiği hesaplanmıştır. Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 21.0 programı kullanıldı. Önce Kruskal Wallis varyans analizi yapıldı. Veriler medyan (minimum ve maksimum) olarak ifade edildi, $p < 0.05$ bulunan parametreler için gruplar arası ikili karşılaştırmalar da Mann Whitney U testi kullanıldı. Önemlilik enflasyonunu önlemek için Bonferroni düzeltmesi yapılarak $p < 0.01$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

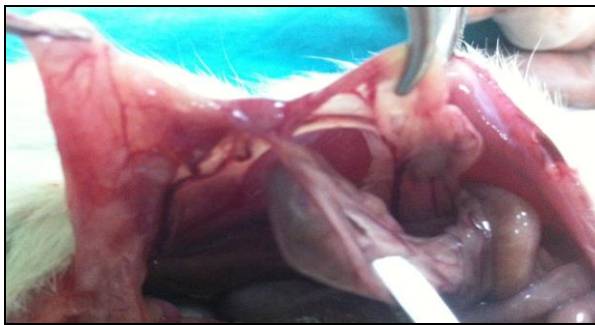
Tüm ratlarda deney başarılıydı. Adezyon değerlendirilmesinde, *Adezyon boyutu:* C vitamini adezyon boyutunu adezyon grubuna göre anlamlı derecede azalttı. G1 ile G2 karşılaştırıldığında adezyon boyutu G2'de anlamlı olarak fazla idi ($p = 0.001$). G1 ile G3 karşılaştırıldığında adezyon alanı her iki grupta da benzer idi ($p = 0.165$). G2 ile G3 karşılaştırıldığında G3'te adezyon alanı G2'ye göre anlamlı olarak daha az idi ($p = 0.001$). Tüm gruplardaki adezyon alanı (Tablo 1), (Resim 1 ve Resim 2)' te gösterildi.

Tablo 1. Tüm gruplarda adezyon yüzey alanı ve adezyon şiddetinin değerleri median (minimum ve maksimum) değerler olarak gösterildi.

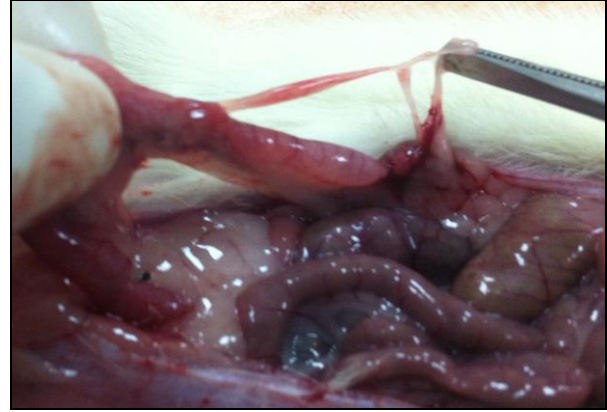
Gruplar	Adezyon alanı Median (min-maks)	Adezyon şiddeti Median (min-maks)
Grup 1	0,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-0,50)
Grup 2	3,00 (1,00-3,00) ¹	1,00 (0,50-1,00) ¹
Grup 3	1,00 (0,00-2,00) ²	0,00 (0,00-0,50) ²

¹=G1 ile karşılaştırıldığında, $p < 0.01$.

²= G2 ile karşılaştırıldığında, $p < 0.01$.

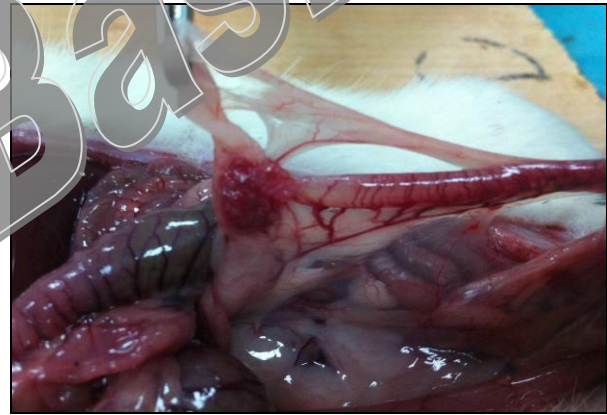


Resim 1. G2: Neredeyse tüm kesi alanını kaplayan şiddetli ve keskin diseksiyon gerektiren adezyon alanları gözleniyor.



Resim 2. G3: İnsizyon alanının yaklaşık %25'inde yapışıklıklar oluşturan ve keskin diseksiyon gerektiren adezyon bölgeleri izleniyor.

Adezyon şiddeti: C vitamini adezyon şiddetini adezyon oluşturulan gruba göre anlamlı olarak azalttı. G1 ile G2 karşılaştırıldığında adezyon şiddeti G2'de anlamlı olarak daha fazla idi ($p = 0.002$). G2 ile G3 karşılaştırıldığında G2'de de adezyon şiddeti G3'e göre anlamlı olarak daha fazla idi ($p = 0.004$). G1 ile G3 arasında adezyon şiddeti yönünden anlamlı farklılık yok idi ($p = 0.710$). Tüm gruplardaki adezyon şiddeti (Tablo 1), (Resim 3)'te gösterildi.



Resim 3. G3: Adezyon alanı yaklaşık %25-50 oranında gözleniyor. Ayrılmaya karşı hafif şiddette güç gerektiren adezyon.

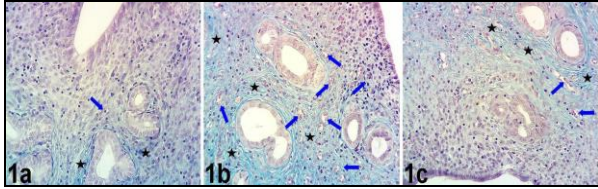
Histolojik ve immünohistokimyasal sonuçlar:

Fibrozis: G1 ile karşılaştırıldığında G2'de anlamlı olarak fibroziste artış var idi ($p < 0.001$). G1 ile G3 arasında anlamlı farklılık yok iken ($p = 0.259$), G2'de G3'e göre fibrozis anlamlı olarak daha fazla idi ($p < 0.001$). Tüm gruplara ait fibrozis skorları (Tablo 2), (Şekil 1).

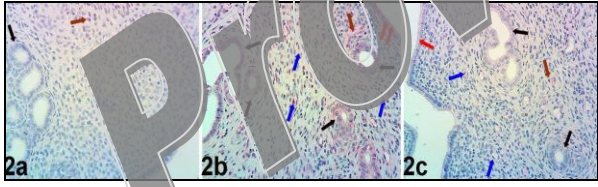
Anjiogenezis: G1 ile karşılaştırıldığında G2'de ($p < 0.001$) ve G3'te ($p = 0.011$) anjiogenezis skorunda anlamlı olarak artış var idi. G2'de ise G3'e göre anlamlı olarak anjiogenezis skorunda artış var idi ($p < 0.001$). Tüm gruplara ait anjiogenezis ile ilgili bulgular (Tablo 2) ve (Şekil 1)'de gösterildi.

Tablo 2. Tüm gruplara ait histolojik ve immünohistokimyasal değerler median (minimum ve maksimum) değerler olarak gösterildi.

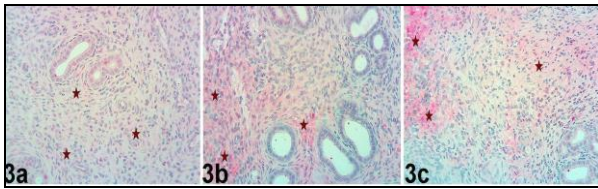
Gruplar	Fibrozis	Anjiogenezis	VEGF	Tip I Kollajen	MDA
G1	1,0 (0,0-1,0)	0,5 (0,5-1,0)	0,2 (0,1-0,8)	0,8 (0,3-1,2)	0,4 (0,1-0,8)
G2	3,0 (2,0-3,0) ¹	3,0 (2,0-3,0) ¹	2,7 (1,8-2,7) ¹	2,7 (1,8-2,7) ¹	2,7 (1,8-2,7) ¹
G3	1,0 (1,0-1,0) ²	1,0 (0,5-2,0) ^{1,2}	0,9 (0,6-1,8) ^{1,2}	2,7 (1,8-2,7) ¹	1,2 (0,8-1,8) ^{1,2}

¹=G1 ile karşılaştırıldığında, p<0.01.²=G2 ile karşılaştırıldığında, p<0.01.**Şekil 1.** Fibrozis ve anjiogenezis alanları. Siyah yıldız=fibrozis alanları, mavi ok=angiogenez. Şekil 1a: G1, Şekil 1b: G2, Şekil 1c: G3.

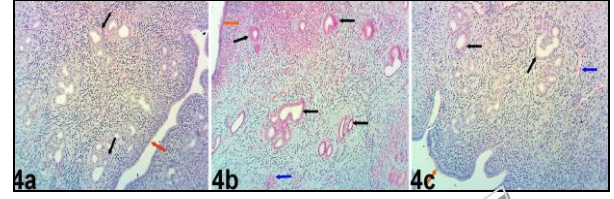
MDA: G1 ile karşılaştırıldığında G2 (p <0.001) ve G3 (p <0.001)'te MDA skoru anlamlı olarak daha yüksek idi. G3 ile karşılaştırıldığında ise G2' de MDA skoru anlamlı olarak daha yüksek idi (p <0.001). Tüm gruplara ait MDA ile ilgili bulgular (Tablo 2) ve (Şekil 2)'de gösterildi.

**Şekil 2.** MDA immünoreaktif hücreler. Siyah ok=endometrial glandlar, kırmızı ok=endometrium epiteli, mavi ok=kapillerler, kahverengi ok=endometrium stroması. Şekil 2a: G1, Şekil 2b: G2, Şekil 2c: G3.

Tip I kollajen: G1 ile karşılaştırıldığında G2'de (p <0.001) ve G3'te (p <0.001) Tip I kollajen skoru anlamlı olarak daha yüksek idi. G2 ile G3 arasında ise anlamlı fark yok idi (p =0.710) Tüm gruplara ait Tip I kollajen ile ilgili bulgular (Tablo 2) ve (Şekil 3)'te gösterildi.

**Şekil 3.** Tip I kollajen immünoreaktif alanlar. Siyah yıldız. Şekil 3a: G1, Şekil 3b: G2, Şekil 3c: G3.

VEGF: G1 ile karşılaştırıldığında G2'de (p <0.001) ve G3'te (p =0.002), G2 ile G3 karşılaştırıldığında ise G2' de G3' e göre (p <0.001) anlamlı olarak VEGF skorunda artış vardı. Tüm gruplara ait VEGF ile ilgili bulgular (Tablo 2) ve (Şekil 4)' te gösterildi.

**Şekil 4.** Şekil 4a: G1, Şekil 4b: G2, Şekil 4c: G3.

TARTIŞMA

Yaptığımız çalışmada günlük verilen C vitamininin adezyon oluşumunu etkili bir şekilde önlediğini gösterdik.

Peritoneal adezyon gelişimi, normal yara iyileşmesinin bir sonucudur. Peritoneal adezyonu başlatan anahtar basamak serozal yüzeylerdeki mezotelyal hücrelerdeki hasardır. Subserozal bağ dokunun açığa çıkmasıyla seroanjiyöz eksuda ortaya çıkar ve bu eksuda 72 saat içinde yumuşak fibrin jel matriksi oluşturur. Bu fibrin jel matriks normalde mezotel hücrelerinde bulunan fibrinolitik aktivite ile parçalanır ve ortadan kaldırılır. Ancak fibrinolitik aktivitede azalma olduğunda veya oluşan fibrin jel formasyonu fibrinolitik aktivite ile ortadan kaldırılamayacak kadar fazla olduğunda 15 gün içinde yoğun ve damarlanması fazla adezyonlar gelişmektedir (16). Çalışmamızda yapışıklıkları değerlendirmek için relaparotomi zamanı bu nedenle cerrahi sonrası 15. gün olarak seçilmiştir.

Ellis (10) doku iskemisinin intraperitoneal adezyon formasyonunda en önemli faktörlerden biri olduğunu bildirmiştir. Serbest radikallerin reperfüzyon sonrası 15-20 sn içinde hızla oluştuğunu gösterildiğinden, reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla radikal yakalayıcı kullanılmak üzere bunun reperfüzyondan 15 dakika önce verildiğinde efektif olduğu, reperfüzyondan sonra verildiğinde ise hiçbir önleyici özelliğinin olmadığı bilinmektedir (17, 18). Biz de intraperitoneal uygulama yerine oral uyguladığımız için operasyondan 1 gün önce C vitamini vererek deneyimizin efektif olmasına çalıştık. Bu uygulamanın insanlarda da kullanılabilir olması deneyimizin güçlü yanındır.

Antioksidatif etkili olan bazı ajanların postoperatif adezyon oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. İntraperitoneal E vitamini kullanımının ratlarda postoperatif peritoneal adezyonu anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir (19, 20). Ayrıca Yetkin ve ark (20) adezyonun histolojik incelemesine bakarak neovaskülarizasyon, inflamasyon ve fibrozis skorlarını kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VE grubunda daha düşük bulmuşlardır. VC güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onların inaktive edilmesinde rol oynar (21). Atılgan ve ark'da (22) tek doz uygulanan E ve C vitaminlerinin rat uterin horn adezyon modelinde postoperatif adezyon oluşumunu azalttığını göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda antioksidan etkileri olan C vitamininin postoperatif adezyon oluşumunu azalttığını gösterdik. Biz bu çalışmamızda günlük kullanılan C vitamininin adezyon yüzey

alanını azaltmasının yanında Atılgan ve ark'nın (22) çalışmasından farklı olarak adezyon şiddetinde de azalma olduğunu gösterdik. Bu da 15 gün süresince kullanılan C vitamininin adezyon alanı ve şiddetini azaltmada tek doz kullanıma göre daha etkili olabileceğini göstermektedir.

Normal fibrinolitik aktivite genellikle üç ila dört gün boyunca fibröz atışmanları önler ve ameliyattan beş ila altı gün sonra mezotel onarımı gerçekleşir (7). C vitamini suda eriyen ve depolanmayan bir vitamin olduğu için biz çalışmamızda günlük olarak C vitamini vererek özellikle ilk 6 günlük sürede oluşabilecek fibröz atışmanları önleyerek mezotel onarımını gerçekleştirdiğini düşünebiliriz (11).

C vitamininin kolajen sentezi için önemli bir kofaktör olduğu iyi bilinmektedir ve yara iyileşmesinde rolü olduğu bilinmektedir (23). Lima ve ark'nın (24) çalışması, C vitamininin antienflamatuvar ve iyileştirici bir etkiye sahip olduğunu ve cilt yara iyileşmesini iyileştirdiğini ortaya koymuştur. Petrinau ve ark. (25) yaptıkları başka bir çalışmada, oral C vitamininin sıçanlarda bağırsak anastomoz direncini arttırdığını göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda C vitamininin adezyon grubuyla anlamlı fark olmadan Tip 1 kollajen formasyonunu artırdığını gösterdik. Bu da yara iyileşmesinin bir süreci olduğunu göstermektedir. Ancak adezyon oluşturulan gruba göre fibröz doku formasyonundaki azalma ise adezyon direncindeki azalmaya katkıda bulunabilir.

Plazma MDA konsantrasyonu enzimatik olmayan oksidatif lipid peroksid parçalanması sonucu oluşmaktadır. MDA proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidler veya nükleik asitlere bağlanarak toksik etkilerini gösterir. Oksidatif stresin arttığı durumlarda plazma MDA düzeyi de artmaktadır (11). Çalışmamızda adezyon grubumuza göre C vitamini grubumuzdaki MDA değerlerindeki azalma C vitamininin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı doku koruyucu etkisine bağlı olduğunu göstermektedir. Bu bulgumuz da ayrıca adezyon oluşum mekanizmasında ise iskemi reperfüzyon hasarının rolünü destekler niteliktedir.

Doku hipoksisi anjiogenez için ana uyarıcıdır (26). Oksidatif stresin de yeni damar oluşumunu stimüle ettiği gösterilmiştir (27, 28). ROS'un aşırı üretimi hypoxia-inducible factor (HIF)-1'in aktivasyonuna neden olabilir, bu da VEGF gibi proanjiogenik büyüme faktörlerinin transkripsiyonunu regüle eder (29-31). VEGF ise bilinen en güçlü anjiogenik faktördür (32). Yara iyileşmesi sırasında VEGF ekspresyonu artmaktadır (33). Adezyon gelişimi ise yara iyileşmesinin bir sonucu olduğu için adezyon gelişimi için de anjiogenez gereklidir (34). Bu nedenle araştırmacılar anjiogenezin önlenmesiyle adezyon gelişiminin önlenebileceğini düşünmüşlerdir (35, 36). Atılgan ve ark. (37) rat uterin horn adezyon deneyinde uterin horna koyulan sütürlerin iskemiye ve buna sekonder VEGF ekspresyonunu artırarak insizyon hattında adezyon gelişimine katkıda bulunmuş olabileceğini bildirmişlerdir. Bu deneylerinde klitromisin ve tetrasiklinin VEGF inhibisyonu yoluyla postoperatif adezyon skorlarını anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Bu da adezyon oluşumunda VEGF aktivasyonunun rolünü bir kez daha göstermektedir. Çalışmamızda C vitamini grubumuzda adezyon skorunun adezyon grubumuza göre anlamlı derecede düşük bulunması, gelişen adezyonlarda ortalama şiddet skorunun düşük olması ve keskin diseksiyon gerektiren dens yapışıklıkların daha az olması C vitamininin VEGF blokajı yaparak anjiogenez ve buna bağlı olarak adezyon oluşumunu önemli oranda engellemiş olabileceğini göstermektedir. VEGF stabil olmayan damarlar üzerinde etki göstererek anjiogenik gelişimi artırırken olgunlaşmamış damarlarda endotel hücrelerinin apoptozunu önlemektedir (38). Bu durumda anjiogenez stimüle olarak vasküler adezyonların oluşumu kolaylaşmaktadır (34). Bu sonuç, C vitamininin VEGF'yi bloke ederek hasarlanan bölgede anjiogenez için gerekli mediatörlerin salgılanmasını azaltarak veya engelleyerek şiddetli adezyon gelişimini engellemesine bağlı olabilir.

Sonuç olarak günlük oral verilen C vitamini postoperatif adezyon alanı ve şiddetini azaltmada etkilidir.

KAYNAKLAR

1. Arung W, Meurisse M, Detry O. Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4545-53.
2. ten Broek RP, Issa Y, van Santbrink EJ, et al. Burden of adhesions in abdominal and pelvic surgery: systematic review and met-analysis. *BMJ* 2013; 3; 347: f5588.
3. Fredriksson F, Christofferson RH, Lilja HE. Adhesive small bowel obstruction after laparotomy during infancy. *Br J Surg Févr* 2016; 103: 284-9.
4. diZerega GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg Suppl* 1997; 577: 10-6.
5. Hellebrekers BW, Kooistra T. Pathogenesis of postoperative adhesion formation. *Br J Surg* 2011; 98: 1503-16.
6. Holmdahl L, Ivarsson ML. The role of cytokines, coagulation, and fibrinolysis in peritoneal tissue repair. *Eur J Surg* 1999; 165: 1012-9.
7. diZerega GS, Campeau JD. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 547-55.
8. Holtz G, Baker E, TSAI C. Effect of thirty-two percent dextran 70 on peritoneal adhesion formation and reformation after lysis. *Fertil Steril* 1980; 33: 660-2.
9. Tsimoyiannis EC, Lekkas EF, Paizis JB, Boulis SA, Page P, Kotoukis OB. Prevention of peritoneal adhesions in rats with trimetazidine. *Acta Chir Scand* 1990; 156: 771-4.
10. Ellis H. The causes and prevention of intestinal adhesions. *Br J Surg* 1982; 69: 241-3.
11. Frei B, Stocker R, England L, Ames BN. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Av Exp Med Biol* 1990; 264: 155-63.
12. Beheshti F, Karimi S, Vafae F, et al. The effects of vitamin C on hypothyroidism-associated learning and memory impairment in juvenile rats. *Metab Brain Dis* 2017; 32: 703-15.
13. Linsky CB, Diamond MP, Cunningham T, Constantine B, DeCherney AH, diZerega GS. Adhesion reduction in the rabbit uterine horn model using an absorbable barrier, TC-7. *J Reprod Med* 1987; 32: 17-20.
14. Hooker GD, Taylor BM, Driman DK: Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh. A randomized, controlled study. *Surgery* 1999; 125: 211-6.
15. Goldman CK, Bharara S, Palmar CA, et al. Brain edema in meningiomas is associated with increased VEGF expression. *Neurosurgery* 1997; 40: 1269-77.
16. Barbul A. Wound Healing. Brunicaudi 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. 223-48.
17. Ege T. Kalp ve damar hastalıklarında iskemi reperfüzyon hasarı. Duran E (Editör). Kalp ve damar cerrahisi. I. Baskı. İstanbul: Çapa Tıp Kitabevi; 2004; 197-215.
18. Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 1905-12.
19. De la Portilla F, Ynfante I, Bejarano D, Conde J, Fernandez A, Ortega JM. Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal administration of vitamin E: an experimental study. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 2157-61.
20. Yetkin G, Uludag M, Citgez B, Karakoc S, Polat N, Kabukcuoglu F. Prevention of peritoneal adhesions by intraperitoneal administration of vitamin E and human amniotic membrane. *Int J Surg* 2009; 7: 561-5.
21. Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E, et al. Carotenoid, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives. *Clin Sci (Colch)* 1998; 94: 189-95.
22. Atılgan R, Kuloglu T, Ozkan ZS, et al. Evaluation of vitamin C and vitamin E for prevention of postoperative adhesion: a rat uterine horn model study. *J Obstet Gynaecol Res* 2015; 41: 418-23.
23. MacKay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev* 2003; 8: 359-77.
24. Lima CC, Pereira AP, Silva JR, et al. Ascorbic acid for the healing of skin wounds in rats. *Braz J Biol* 2009; 69: 1195-201.
25. Petroianu A, Alberti LR. Effect of oral supplementation of vitamin C on intestinal anastomotic resistance. *Rev Col Bras Cir* 2011; 38: 54-8.
26. Gruber M, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, hypoxia, and tumor angiogenesis. *Curr Opin Hematol* 2006; 13: 169-74.
27. Kuwabara M, Kakinuma Y, Ando M, et al. Nitric oxide stimulates vascular endothelial growth factor production in cardiomyocytes involved in angiogenesis. *J Physiol Sci* 2006; 56: 95-101.
28. Rojas A, Figueroa H, Re L, Morales MA. Oxidative stress at the vascular wall. Mechanistic and pharmacological aspects. *Arch Med Res* 2006; 37: 436-48.
29. Yang ZZ, Zhang AY, Yi FX, Li PL, Zou AP. Redox regulation of HIF-1 levels and HO-1 expression in renal medullary interstitial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284: 1207-15.
30. Nakamura M, Yamabe H, Osawa H, et al. Hypoxic conditions stimulate the production of angiogenin and vascular endothelial growth factor by human renal proximal tubular epithelial cells in culture. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1489-95.
31. Semenza GL, Agani F, Iyer N, et al. Regulation of cardiovascular development and physiology by hypoxia-inducible factor 1. *Ann NY Acad Sci* 1999; 874: 262-8.

32. 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: 851-8.
33. 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.
34. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986; 315: 1650-9.
35. Chiang SC, Cheng CH, Moulton KS, et al. TNP-470 inhibits intraabdominal adhesion formation. *J Pediatr Surg* 2000; 35: 189-96.
36. Greene AK, Alwayn I P J, Nose V, et al. Prevention of intra-abdominal adhesions using the anti-angiogenic COX-2 Inhibitor Celecoxib. *Ann Surg* 2005; 242: 140-6.
37. Atılğan R, Pala Ş, Kuloğlu T, Doğan ÖF, Can B, Atılğan M. Klaritromisin ve tetrasiklinin oral verilmesinin rat uterin horn modelinde postoperatif adezyon oluşumuna etkisi (The effect of administration of oral clarithromycin and tetracycline on postoperative adhesion formation in rat uterin horn model). *Firat Tıp Dergisi* 2015; 20: 133-3.
38. 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: 5356-62.

Şehmus PALA 0000-0002-1376-4244
 Remzi ATILGAN 0000-0003-2635-7158
 Tuncay KULOĞLU 0000-0003-0027-2893
 Melike BAŞPINAR 0000-0002-9787-4980
 Emre YALCIN 0000-0001-7088-6749
 Şeyda YAVUZKIR 0000-0002-7427-3891