

HMG-COA REDÜKTAZ İNHİBİTÖRLERİNİN TİROİD CERRAHİSİ SONRASINDA GELİŞEN ADEZYONLARA ETKİSİ

Dilek Işık¹, Özer Makay¹, Gökhan İçöz¹, Gülten Gezer¹, Yeşim Ertan², Ömer Özütemiz³, Mahir Akyıldız¹, Mustafa Yılmaz¹, Enis Yetkin¹

Ege Üniversitesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı¹, Patoloji Ana Bilim Dalı², İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı³

GİRİŞ :

Adezyonlar cerrahinin önemli uzun dönem komplikasyonlarından biridir. Uygulanan cerrahi prosedüre bağlı olarak hastaların %60 ile % 94'ünde adezyon görülebilmekte ve önemli morbiditeye neden olabilmektedir (1). Karın cerrahisi sonrası kronik abdominal ağrıya, kadınlarda infertiliteye, fistül oluşumuna, intestinal obstrüksiyona yol açabilmektedirler (2-3).

Peritoneal travma ve iskemi, doku faktörü salınımına neden olarak adezyon oluşumunu başlatmaktadır. Peritonda oluşan hasar dört saatte nötrofiller tarafından kaplanırken tam iyileşme yaklaşık bir haftada gerçekleşmektedir (4-5). Peritoneal hasar, inflamatuvar yanıtın ortaya çıkmasına neden olup, mezotelyal ve mast hücrelerinden histamin ve serotonin gibi vazoaaktif aminlerin salınımına ve böylece damar geçirgenliğinin artmasına yol açar (4-5). Doku tromboplastini tarafından protrombin trombine çevrilir. Trombin intraabdominal fibrinojeni fibrine dönüştürerek bakteriyemiye sınırlandırılmasına yardımcı olur. Fibrin sağlıklı intraabdominal ortamda fibrinolitik enzimler tarafından parçalanır. Ancak inflamasyon varlığında bu fibrinolitik enzimler inaktif hale geldiği için fibrin yıkılamaz ve birikir. Böylece kalıcı yapışıklıklar meydana gelir (4-5). Mezotelyal hücrelerde bulunan doku plazminojen aktivatörü (tPA) cerrahi sonrası adezyon formasyonuna karşı önemli bir savunma elemanıdır. İnaktif plazminojenden tPA ve ürokinaz tip PA aracılığı ile meydana gelen aktif enzim plazmin fibrin jel matriksini adezyon formasyonu üzerine bir etkisi olmayan fibrin yıkım ürünlerine dönüştürür (4). Travma ve inflamasyon alanlarında doku plazminojen aktivatör inhibitörünün (tPAI) yükselmiş seviyeleri, tPA ve ürokinaz tip plazminojen aktivatörünü inhibe eder ve sonuçta tPA ve ürokinaz tip plazminojenin aktifleştirdiği plazmin aktiflenemez ve fibrin jel matriks parçalanamaz (4-5). Cerrahi yaralanma ile birlikte yetersiz kanlanma ve azalmış doku oksijenizasyonu fibrinolitik aktiviteyi azaltmakta ve bu da fibrinoproliferatif süreci başlatıp fibrovasküler adezyonların gelişimine yol açmaktadır (5-6). Büyüme faktörleri de yapışıklık oluşumunda önemlidir. Mezotel onarımı sırasında makrofaj ve lenfositler fibroblast proliferasyonu ve kollajen oluşumunu düzenleyen büyüme faktörlerini sentezlerler. Bunlardan TGF- β 'nın fibrozisi uyardığı gösterilmiştir. Büyüme faktörleri makrofaj ve fibroblastları ortama çeker, fibroblastların hücre dışı matriks proteini üretimini sağlar, adezyonu olgunlaştırır ve yara kontraksiyonuna neden olurlar (7). Postoperatif adezyonların önlenmesinde altın standart bir teknik bulunmamaktadır. Adezyonların azaltılmasında cerrahi esnasında nazik disseksiyon, yeterli hemostaz, yabancı cisimlerin giderilmesi, enfeksiyondan kaçınılması, termal hasarın önlenmesi en etkili yöntemler olarak görülmektedir. Birçok klinik ve deneysel çalışmada adezyonların önlenmesinde nonsteroid

antiinflamatuvar ilaçlar, heparin, opioidler, kemokinler, hiyaluronik asid ve karboksimetil selüloz içeren fizik bariyerler kullanılmıştır. Simvastatin de bu amaçla deneysel olarak kullanılan ilaçlardan biridir.

AMAÇ :

Simvastatin 3-hidroksi -3-metilglutaril- koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörüdür ve daha çok kolesterol düşürücü olarak kullanılır. Birçok çalışmada doku tPA'nün aktivitesini arttırarak fibrinolitik kaskada etkisi olduğu gösterilmiştir . Bu çalışmada simvastatinin fibrinolitik kaskada olan etkisinden yararlanılarak boyun cerrahisi sonrası adezyon gelişiminin önlenmesine katkısı, yapılan hayvan deneyleri ile ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Statinlerin fibrinolitik sisteme etkileri esas olarak Rho yolunu inhibe etmeleri ile gerçekleşmektedir. Rho yolu hücre büyümesi , farklılaşması ve yaşamının devamı gibi hücresel süreçlerin regülasyonunun sağlandığı, sinyal transdüksiyonunun olmasına aracılık edildiği bir biyolojik yoldur. Statinerler HMG-CoA redüktazı inhibe ederek Geranilgeranil – PP oluşumunu engelleyip Rho proteini aktivasyonunu dolaylı olarak inhibe eder ve böylece Rho A membran ile etkileşime girip GTP bağlı forma geçemediği için aktiflenemez , Rho kinaz aktivasyonu gerçekleşemez. Bu sayede statinerler doku tip plazminojen aktivatörünün düzeyinin artmasına ve plazminojen aktivatör inhibitörünün de azalmasına sebep olarak fibrinolitik etki göstermiş olurlar (8).

GEREÇ VE YÖNTEM :

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanan bu çalışma, Haziran 2009 ile Temmuz 2010 yılları arası Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmada 70 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlara anestezi olarak ketamin uygulandı. Boyun orta hat insizyonu ile tiroid dokusu bulundu. Sağ lop altına tek klemp konulup kesilerek vasküler yapıları 4/0 ipek ile bağlandı ve sağ hemitiroidektomi tamamlandı. Daha sonra 24 sıçanda loj serum fizyolojik uygulandı. 24 sıçanda % 5 etanol ile çözülmüş solüsyon halindeki simvastatin düşük doz (0,5 mg / kg vücut ağırlığı), 22 sıçanda da aynı şekilde hazırlanmış simvastatin yüksek doz (0,8 mg /kg vücut ağırlığı) uygulandı ve operasyon sonlandırılıp insizyon 5/0 prolen ile kapatıldı. Operasyondan sonra sıçanlar oda şartlarında deneysel cerrahi laboratuvarında muhafaza edildi.

Operasyon sonrası 7. günde 8 serum fizyolojik, 8 düşük doz simvastatin, 8 yüksek doz simvastatin uygulanmış olan 24 sıçan aynı insizyon kullanılarak tekrar explore edildi ve makroskopik olarak yapışıklık düzeyleri konuda deneyimli tek uzman tarafından değerlendirildi. Kullanılan derecelendirme sistemi aşağıdadır:

Grade 1 : Vaskülarizasyonun olmadığı, künt disseksiyon ile kolaylıkla ayrılabilen adezyonlar.

Grade 2 : Vaskülarizasyonun başladığı, künt disseksiyon ile ayırmanın zor olduğu ve keskin disseksiyonun gerektiği adezyonlar .

Grade 3: Belirgin vaskülarizasyonun olduğu, keskin disseksiyonun gerektiği adezyonlar .

Grade 4: Sadece keskin disseksiyon ile giderilebilen, organlar arası birçok adezyonun olduğu, disseksiyon esnasında organ hasarı ihtimalinin yüksek olduğu adezyonlar (9).

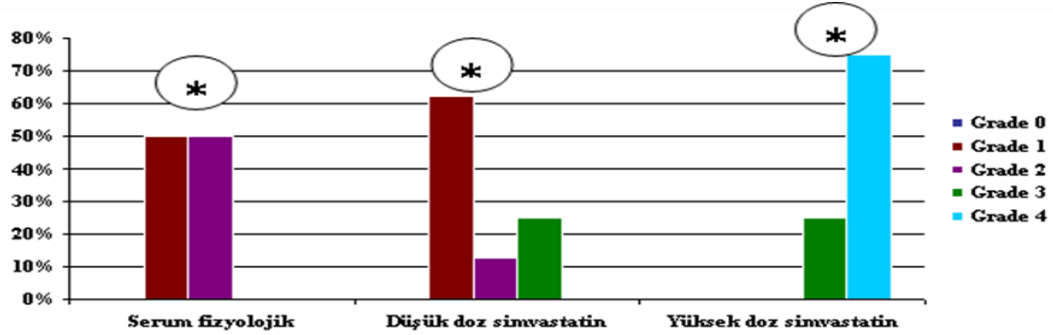
Derecelendirme sonrası trakea çevre doku ile birlikte exize edildi. Aynı zamanda sıçanlardan yaklaşık 10 cc kan alındı. Daha sonra sıçanlar sakrifiye edildi. Exize edilen

dokular formaldehit ile tespit edilerek, ependorf tüplerine konularak -80 derecede saklandı. Alınan kanlar ise biyokimya tüplerine konuldu ve TGF- β çalışılmak üzere laboratuvara gönderildi. Kan TGF- β düzeyleri human connective tissue growth factor (CTGF) ELISA Test kullanılarak çalışıldı.

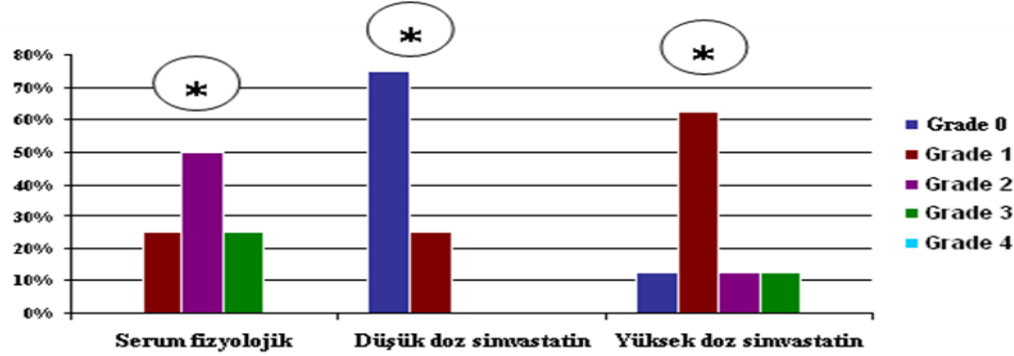
Operasyon sonrası 1. ayda 8 serum fizyolojik uygulanmış, 8 düşük doz simvastatin, 8 yüksek doz simvastatin uygulanmış olan 24 sıçana ve operasyon sonrası 3. ayda 8 serum fizyolojik, 8 düşük doz simvastatin, 6 yüksek doz simvastatin uygulanmış olan 22 sıçana aynı işlemler uygulandı.

Alınan doku örnekleri patoloji kliniğine yapışıklık düzeylerinin mikroskopik olarak değerlendirilmesi için gönderildi. Bu örnekler konuda uzman tek patolog tarafından değerlendirildi. Nötral formaldehit (%10) içerisinde fikse edilen örnekler parafin bloklara gömüldü. Kesitler, her biri 4 μ m inceliğinde olmak üzere toplam 4 adet olacak şekilde alındı. Tüm kesitler hematoxilen-eosin ve van Giesson konnektif doku boyası ile boyandı. Preparatlar kör olarak milimetrik oküler mikroskopta incelendi.

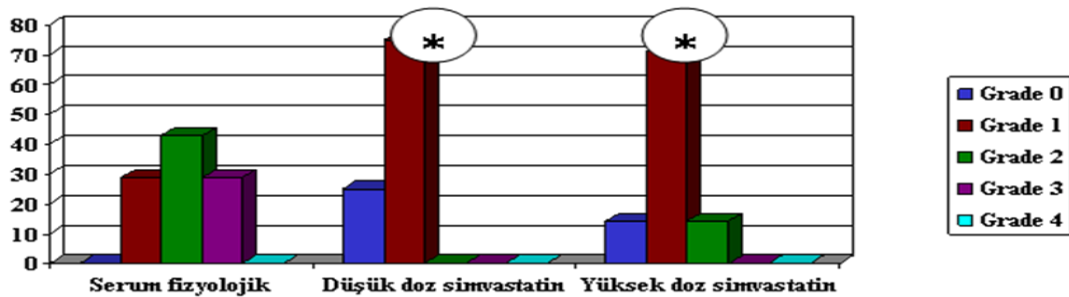
BULGULAR :



Grafik 1. Gruplar arası 1. haftada makroskopik adezyon derecesi dağılımı *p<0,005

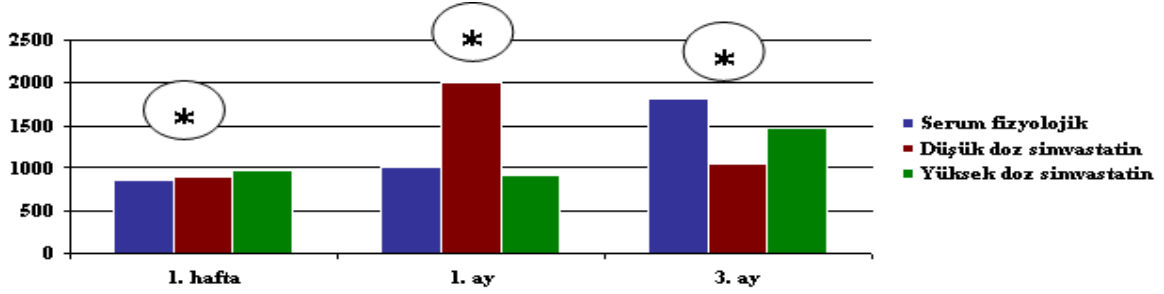


Grafik 2. Gruplar arası 1. ayda makroskopik adezyon derecesi dağılımı* p<0,005



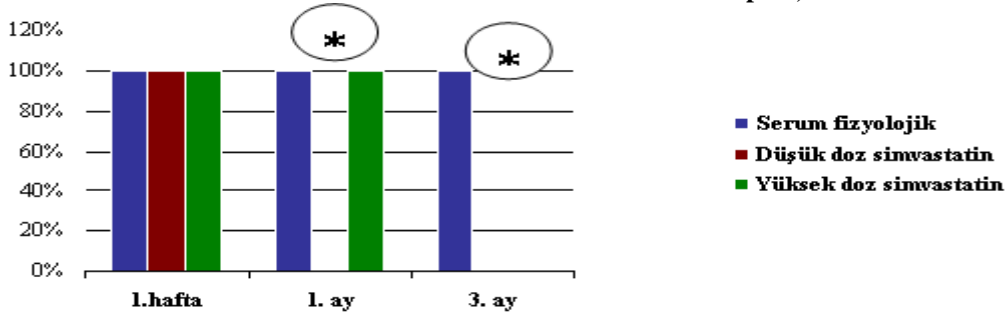
Grafik 3. Gruplar arası 3. ay makroskobik adezyon derecesi dağılımı

*p < 0,005

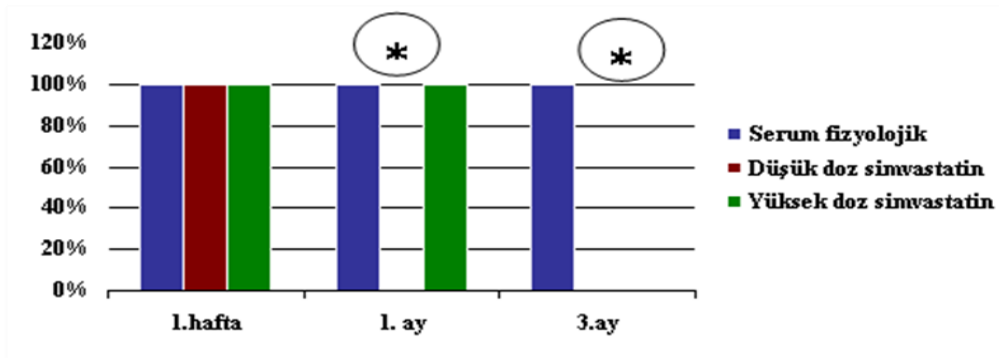


Grafik 4. Gruplar arası zamana göre TGF – B dağılımı

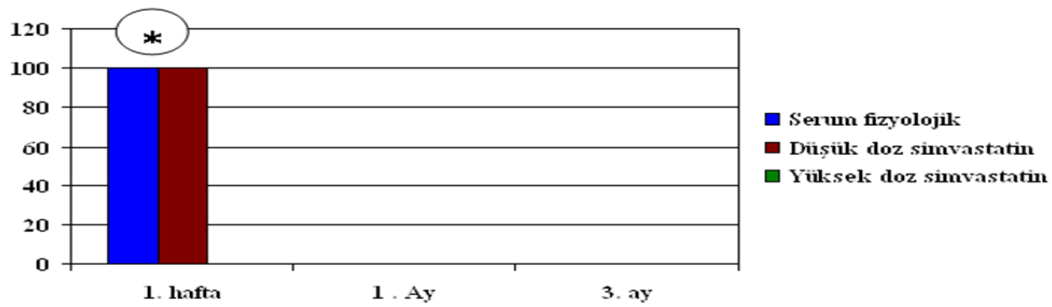
* p < 0,005



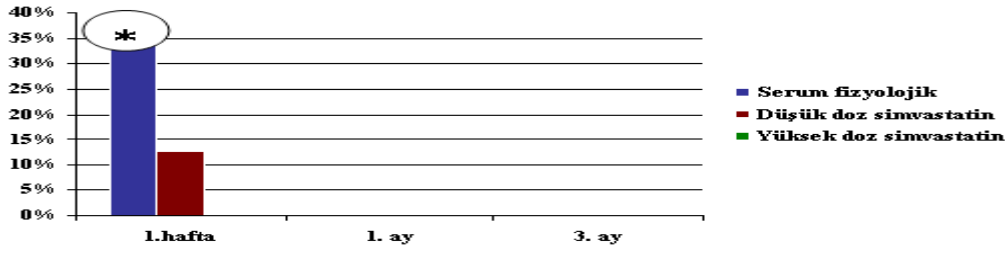
Grafik 5. Gruplar arası zamana göre fibroblast dağılımı* p < 0,005



Grafik 6. Gruplar arası zamana göre fibrozis dağılımı* p < 0,005



Grafik 7. Gruplar arası zamana göre kollajen dağılımı* p < 0,005



Grafik 8. Gruplar arası zamana göre dev hücre dağılımı* $p<0,005$



Grafik 9. Gruplar arası zamana göre polimorf nüveli lökosit dağılımı* $p<0,005$

TARTIŞMA :

Bu çalışmada simvastatinin fibrinolitik kaskada olan etkisinden yararlanılarak boyun cerrahisi sonrası adezyon gelişiminin önlenmesine katkısı, yapılan hayvan deneyleri ile ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bu çalışma boyun cerrahisi sonrası adezyonların önlenmesi konusunda literatürde yapılan ilk çalışmadır. Yapılan çalışma sonunda simvastatinin cerrahi sonrası adezyonların önlenmesinde etkili olduğu görülmüştür.

Cerrahi travma postoperatif adezyonların temel sebebidir. Cerrahi travma inflamatuvar bir reaksiyonu başlatır ve makrofaj ve mezotel hücrelerinden doku faktör salınımına sebep olur. Bu da koagülasyon kaskadının ekstrensek yolunu aktive eder ve fibrin eksuda oluşur. Normal şartlarda bu fibrinogenezis fibrinolizis ile bir denge içindedir. Plazmin fibrinolizisi yürüten enzimdir. İnaktif halde bulunan plazminojen tPA tarafından aktif form olan plazmine çevrilir. tPA ise doku plazminojen aktivatör inhibitörü ile inhibe edilir (10) ve ikisi arasında da bir denge mevcuttur. Cerrahi travma sonrası bu denge bozulur ve fibrinoliz azalırken fibrin exuda artar ve adezyon formasyonu oluşur (11). Periton hasar görmüşken mezotel hücreleri salınım fibrinogenezis ve fibrinolizis arasında bir denge oluşacak ve travma sonrası 5 ile 8 gün içinde reepitelizasyon gerçekleşecektir (12). Operasyon fazla travmatik olursa mezotelial bütünlük bozulacaktır. Normal fibrinolitik aktivite travma sonrası 48 saat içinde kaybedilecektir. Dört onuncu günler arası fibröz adezyon organize olmaya başlayacaktır (13).

Makroskopik olarak görülen adezyonlar derecelendirilmiştir.1. haftada yüksek doz simvastatin grubunda daha yüksek derecelerde adezyon saptanırken 1. ve 3. ayda beklenildiği

gibi serum fizyolojik grubunda daha yüksek dereceli adezyon saptanmıştır. Bu durum istatistiksel olarak anlamlıdır ve simvastatinin adezyon önlemedeki sözü edilen etkisini desteklemektedir.

Hasardan sonraki 12 saat içinde fibrin ipliklerin arasına karışmış çok sayıda polimorf nüveli lökositler yara yüzeyinde görülür. Daha sonra polimorf nüveli lökositler bu bölgeye akmaya başlayan makrofaj, histiosit ve monositlerle yer değiştirir ve oluşan bu fibrin matriks makrofajları, fibroblastları ve dev hücreleri içeren vasküler granülasyon dokusuna dönüşür. Hasardan sonraki 48. saatte yara yüzeyi fibrin iskelet içinde yer alan makrofajlardan oluşmuş bir tabaka ile örtülü hale gelir (7).

Mikroskopik veriler ele alındığında;

1. haftada fibroblast tüm gruplarda varken 1. ayda serum fizyolojik ve yüksek doz simvastatin grubunda, 3. ayda ise sadece serum fizyolojik grubunda vardı. Fibrozis ise 1. haftada hepsinde bulunmakta olup, ancak serum fizyolojik grubunda daha yoğundu. Bu durum literatürde bildirilene uygundur. Fibrozis birinci ayda düşük doz grubunda bulunmazken, serum fizyolojik grubunda hafif, yüksek doz grubunda ise yoğun bir şekilde bulunmaktadır.

Kollajen 1. haftada yüksek doz grubunda yoktu, ama diğer iki grupta mevcuttu. Birinci ve 3. aylarda ise hiçbir grupta kollajene rastlanılmadı. Granülom 1. haftada tüm gruplarda bulunurken 1. ve 3. aylarda hiçbir grupta saptanmadı.

Histiosit 1. haftada serum fizyolojik grubunda saptanmadı. Yüksek ve düşük doz simvastatin grubunda ise vardı. Birinci ayda hiçbir grupta histiosit yoktu. Üçüncü ayda ise sadece yüksek doz simvastatin grubunda histiosit vardı.

Dev hücre 1. haftada serum fizyolojik grubunda % 62,5 ve düşük doz simvastatin grubunda %87,5 oranında saptanırken, yüksek doz grubunda dev hücre bulunamamıştır. Birinci ve 3. aylarda ise hiçbir grupta dev hücre yoktu.

Kronik inflamasyon ilk haftada tüm gruplarda mevcuttu. Birinci ayda sadece yüksek doz simvastatin grubunda saptandı. Üçüncü ayda ise hem düşük hem yüksek doz simvastatin grubunda vardı, ancak serum fizyolojik grubunda yoktu.

Polimorf nüveli lökosit grubunda 1. hafta sadece yüksek doz grubunda bulunurken 1. ve 3. aylarda hiçbir grupta saptanmadı

Büyüme faktörleri de yapışıklık oluşumunda önemlidir. Mezotel onarımı sırasında makrofaj ve lenfositler fibroblast proliferasyonu ve kollajen oluşumunu düzenleyen büyüme faktörlerini sentezlerler. Bunlardan biri olan TGF- β 'nin kan düzeyleri karşılaştırıldığında 1. haftada gruplar arasında belirgin fark bulunmazken, 1. ayda düşük doz simvastatin uygulanan, 3. ayda serum fizyolojik uygulanan grupta diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Kan TGF- β düzeyleri 1. ay ve 3. ayda istatistiksel olarak anlamlıdır.

SONUÇ :

Bu çalışma bildiğimize göre boyun cerrahisi sonrası adezyonların önlenmesi konusunda literatürde yapılan ilk çalışmadır. Postoperatif adezyonların önlenmesi konusunda henüz yeterince veri yoktur. Simvastatinin postoperatif adezyonların önlenmesinde etkili olduğu

gösterilmiştir. Birinci hafta adezyonun en yoğun olduğu dönemdir. Bütün gruplarda inflamasyon gittikçe azalmakta ve 3. ayda en düşük düzeye inmektedir. Simvastatin grupları kendi içinde karşılaştırıldığında düşük doz (0,5 mg / kg vücut ağırlığı) uygulanan simvastatin ile yüksek doza (0,8 mg/kg vücut ağırlığı) göre daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Simvastatin fibrinolitik olarak kullanılabilir olacak bir ajandır. Ancak rutin kullanımı için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Dervenis C, Young RL. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. Dig Surg 2001; 18:260-73.
2. Ellis H, Moran BJ, Thompson JN, Parker MC, Wilson MS, Menzies D, McGuire A, Lower AM, Hawthorn RJ, O'Brien F, Buchan S, Crowe AM: Adhesion related hospital readmission after abdominal and pelvic surgery: a retrospective cohort study. Lancet 1999; 353:1476-80.
3. Menzies D, Ellis H: Intestinal obstruction from adhesions – how big is the problem? Ann R Coll Surg Engl 1990; 72:60-3.
4. Holmdahl L, Ericsson E, Al-Jabreen M, Risberg B. Fibrinolysis in human peritoneum during operation surgery. Ann. Surg. 1996; 119:701-5.
5. Holmdahl L, Ericsson E, Ericsson BI, Risberg B. Depression of peritoneal fibrinolysis during operation is a local response to trauma. Surgery 1998; 13:539-44.
6. Di Zerega GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. Eur J Surg Suppl 1997; 577:10-6.
7. Montz FJ, Shimanuki T, Di Zerega GS. Postsurgical mesothelial epitheliation. In De Cherney AH, Polan ML (ed.). Reproductive surgery, Chicago, Year Book Medical Publishers, 1987; 31-47
8. Azzolina A, Bongiovanni A, Lampiasi, N. Biochim. Biophys Acta. 2003; 1643:75-83.
10. Holmdahl L, Falkenberg M, Ivarsson ML, et al. Plasminogen activators and inhibitors in peritoneal tissue. APMIS. 1997; 105:25-30.
11. Scott-Coombes D, Whawell S, Vipond MN, et al. Human intraperitoneal fibrinolytic response to elective surgery. Br J Surg. 1995; 82:414-7.
12. Raftery AT. Regeneration of parietal and visceral peritoneum: a light microscopical study. Br J Surg. 1973; 60:293-9.

13. Raftery AT. Effect of peritoneal trauma on peritoneal fibrinolytic activity and intraperitoneal adhesion formation: an experimental study in the rat. *Eur Surg Res.* 1981; 13:397- 40.