

DENEYSEL SÜPERİOR MEZENTER ARTAR TROMBOZUNDA DEFİBROTİDE KULLANIMININ ETKİLERİ

The Effect of Defibrotide In Experimental Superior Mesenteric Artery Trombosis

Mehmet ULUDAĞ, Gürkan YETKİN, Abut KEBUDİ, İsmail AKGÜN, Mustafa ÖZBAĞRIÇIK,
Adnan İŞGÖR, Gülen DOĞUSOY.

*Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Genel Cerrahi Kliniği
*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi , Patoloji Anabilim Dalı

ÖZET

AMAÇ: Çalışmamızda profibrinolitik, antitrombotik ve sitoprotektif ajan olan defibrotide'in süperior mezenter arter trombozundaki etkisi deneysel olarak araştırıldı. **MATERYAL VE METOD:** Yedişer denek halinde 3 gruba ayrılan 21 adet Wistar-Albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Tüm deneklerde süperior mezenterik arterde trombüs oluşturuldu. Kontrol grubundaki (1.grup), terapötik defibrotide grubundaki (2.grup) ve profilaktik-terapötik defibrotide grubundaki (3.grup) tüm deneklerde, post-op 24. saatte iskemi oluşturan barsak segmeenti, mezenter arter ile birlikte rezeke edilerek histopatolojik olarak incelendi. **BULGULAR:** 1. ve 2. Grup arasında iskemi açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Fakat 1.grupta %42.8 oranında transmural nekroz tespit edilmesine karşın, 2. ve 3. grupta transmural nekroz saptanmadı. Ayrıca 1. ve 3. grup arasında iskemi açısından anlamlı fark bulundu. ($p<0.01$). **SONUÇ:** Defibrotide'nin terapötik dozda ağır nekrozu önlerken, profilaktik-terapötik verildiğinde sadece ağır nekrozu önlemekle kalmayıp, iskemiye de önemli ölçüde azalttığı sonucuna varıldı. **ANAHTAR KELİMELELER:** Defibrotide, İntestinal İskemi

SUMMARY

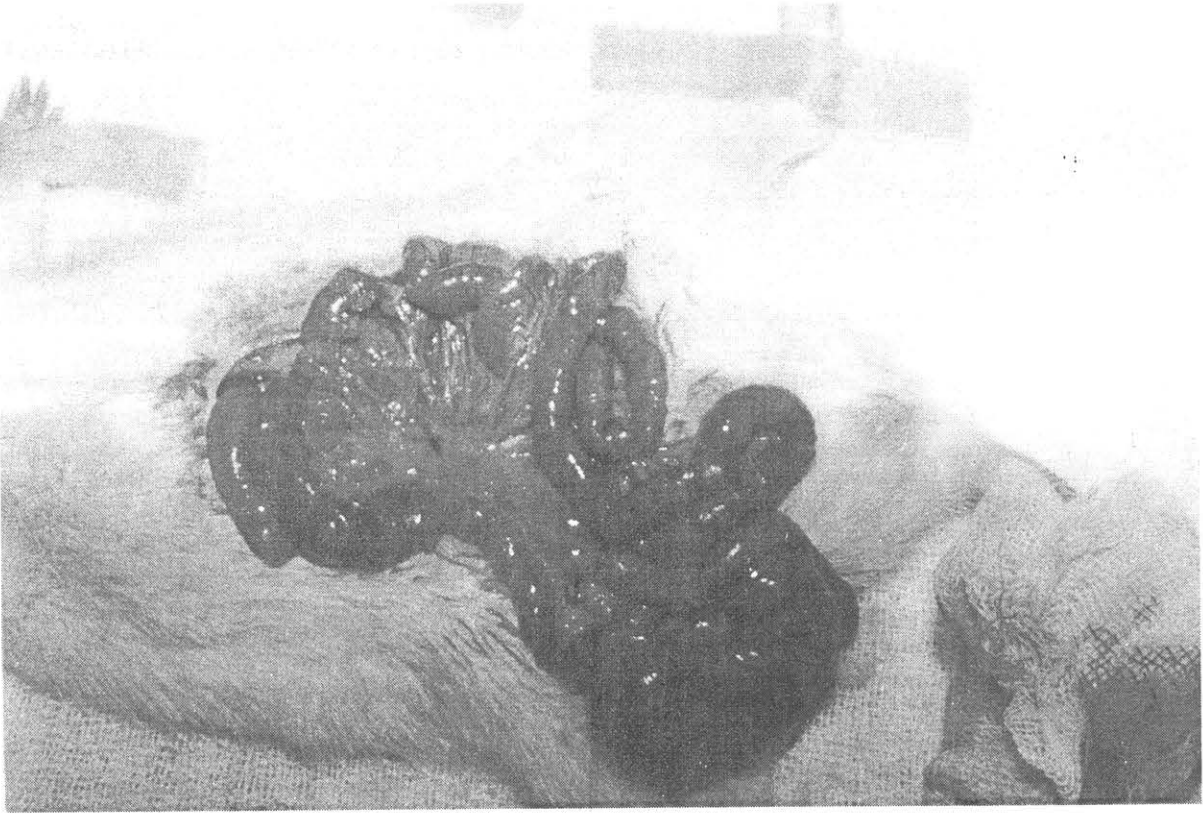
OBJECTIVE: In this study profibrinolytic, antithrombotic, cytoprotective properties of defibrotide were investigated experimentally for the recovery of superior mesenteric artery thrombosis. **STUDY DESIGN:** 21 male Wistar-Albino rats were used in this study. There were three groups defined as the first control group, the second therapeutic defibrotide group and the third prophylactic therapeutic defibrotide group. Seven rats were used in each group. In all of the rats superior mesenteric artery thrombosis was developed. Postoperatively in 24 hours the ischemic bowel segments with their mesenteric arteries were resected and examined histopathologically. **RESULTS:** There was no significant difference between the first and the second groups as far as ischemia was concerned ($p>0.05$). 42.8 percent of transmural necrosis was detected in the first group whereas none was found in the second and the third groups. There was also a significant difference between the first and the third groups ($p<0.01$). **CONCLUSIONS:** As a conclusion defibrotide prevents irreversible necrosis at therapeutic doses and also decreases the level at ischemia significantly when administered at prophylactic-therapeutic doses.

Yazışma Adresi:

Mehmet ULUDAĞ
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
2.Genel Cerrahi Kliniği
Tel.No.0 212 231 22 09
Fax.0 212 232 30 57

* Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıbbi Araştırma Merkezi'nin (DETAM) katkılarıyla gerçekleştirilmiştir. EUROSURGERY 96'da (6.Avrupa Cerrahi Kongresi) serbest bildiri olarak sunulmuştur.

Akut mezenterik iskemide (AMİ) mortalite ve morbiditeyi azaltmada temel amaç, geniş barsak rezeksiyonlarının sınırlarını daraltmaktır. Bu nedenle AMİ tedavisinde cerrahi girişiminin yanısıra, rekanalizasyonu sağlamak, iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak için birçok farmakolojik ajan klinik ve deneysel çalışmalarında kullanılmış ve ümit verici sonuçlar alınmıştır (1,2,3). Defibrotide de profibrinolitik, antitrombotik, sitoprotektif ve antiiskemik bir ajandır. Birçok araştırmada profektif



Resim 1: İskemik barsak segmentlerinin görünümü

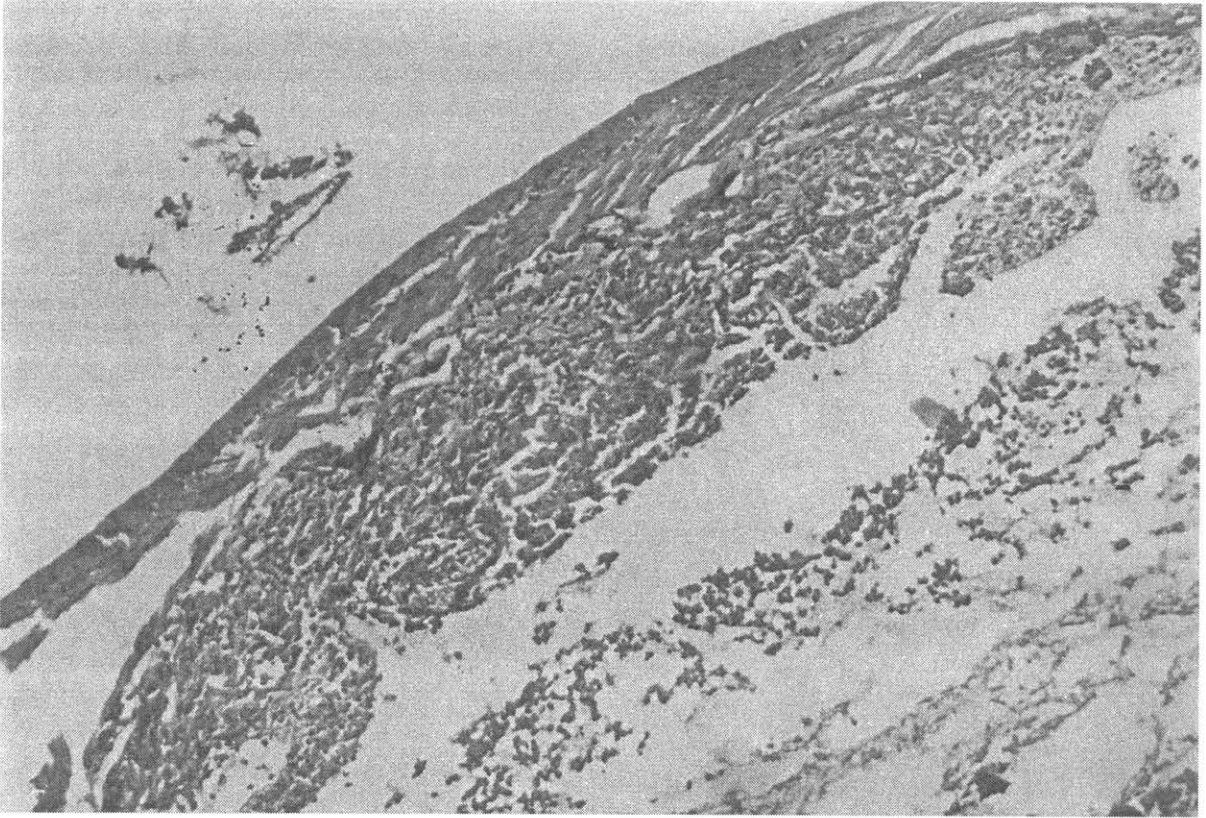
ve terapötik etkileri gösterilmiştir (4,5). Bu bilgiler ışığında, süperior mezenterik arterde (SMA) oluşturulan, tromboza bağlı iskemide defibrotide'in profilaktik ve terapötik etkisi sıçanlar üzerinde araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıbbi Araştırma Merkezinde (DETAM), Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalının katkılarıyla gerçekleştirildi.

Çalışmada 21 adet Wistar-Albino tipi ortalama 200 gr ağırlığında erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar yedişer denek halinde 3 gruba ayrıldı. Ve deney öncesinde standart yem ve su ile beslendiler. Tüm denekler, 50 mg/kg İM ketamin hidroklorid verilerek uyutuldu. Ve yaklaşık 4 cm'lik vertikal orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Karnın içi organlar özellikle intestinal sistem değerlendirilip patoloji saptanmaması üzerine süperior mezenterik arter oklüzyonu uygulanacak bölgenin hemen proksimali ve distali arasındaki jejunum

kollateral arkları 4/0 ipek ile bağlandı. SMA sağ kolik arter çıkışının hemen distalinden atravmatik klip ile oklüzyona uğratıldı. 30 dakika beklendi., bu süre içinde barsaklar karın içine gönderildi. Ve insizyon steril kompres ile örtüldü. 30 dakika sonunda SMA da staz sonucu trombüs oluştuğu gözlemlendi. Arterial klip açılarak reperfüzyon sağlandı. Kontrol grubunda (1. Grup); arteryel klip açılmasının ardından, postop 0. ve 12. saatlerde 0.3 cc/doz İM steril distile su uygulandı. Terapötik defibrotide grubunda (2. Grup) ise SMA klipsinin açılmasından sonra postop 0 ve 12. Saatlerde 20 mg/kg/doz defibrotide İM uygulandı. Profilaktik-terapötik defibrotide (3. Grup) grubunda ise; preop 24 ve 12. Saatlerde ve postop 0 ve 12. Saatlerde 20 mg/kg/doz defibrotide İM uygulandı. Tüm denekler cerrahi prosedür sonrası 24 saat süre ile özel kafeslerde standart sıçan yemi ve su ile beslendiler. 24 saat sonra eski insizyon yerinden relaparotomi yapılarak makroskopik bulgular kaydedildi.(Resim 1) Bağlanan kollateraller arasında kalan barsak segmentleri mezenter arter ile birlikte rezektü edilerek, denekler sakrifiye edildi.Rezeksiyon materyallerinde, her materyalin makroskopik olarak en ileri derecede nekroz



Resim 2:Transmüral nekrozun (grade 3 iskemisi) histopatolojik görünümü (HE X 100)

gösteren bölümünden ve SMA dan alınan parçalar Hematoksilin-Eosin ile boyamayı takiben histopatolojik incelemeye alındı. Barsak preparatlarında iskemisi derecesi ve ekstrasvasküler dokudaki hücre popülasyonunda polimorf nüveli lökosit (PNL) oranı değerlendirildi.

İskemi açısından; normal histolojik bulgu (0), villuslarda lokalize fokal nekroz (1), mukozal nekroz (2), transmüral nekroz (3) olarak derecelendirildi.

Ekstrasvasküler dokudaki hücre popülasyonunda PNL oranı ise %30'dan az (1), %30-50 arası (2), %50-80 arası (3), %80'in üzeri (4) olarak derecelendirildi.

SMA preparatları; lümen içerisinde trombüs varlığı açısından değerlendirildi. Lümen içinde trombüs yokluğu (-), birbiri ile farklı açılardan kesişen trombosit lamelleri ve lameller arasında diğer kan elemanları ve fibrinden oluşan taze trombüs (+) olarak derecelendirildi.

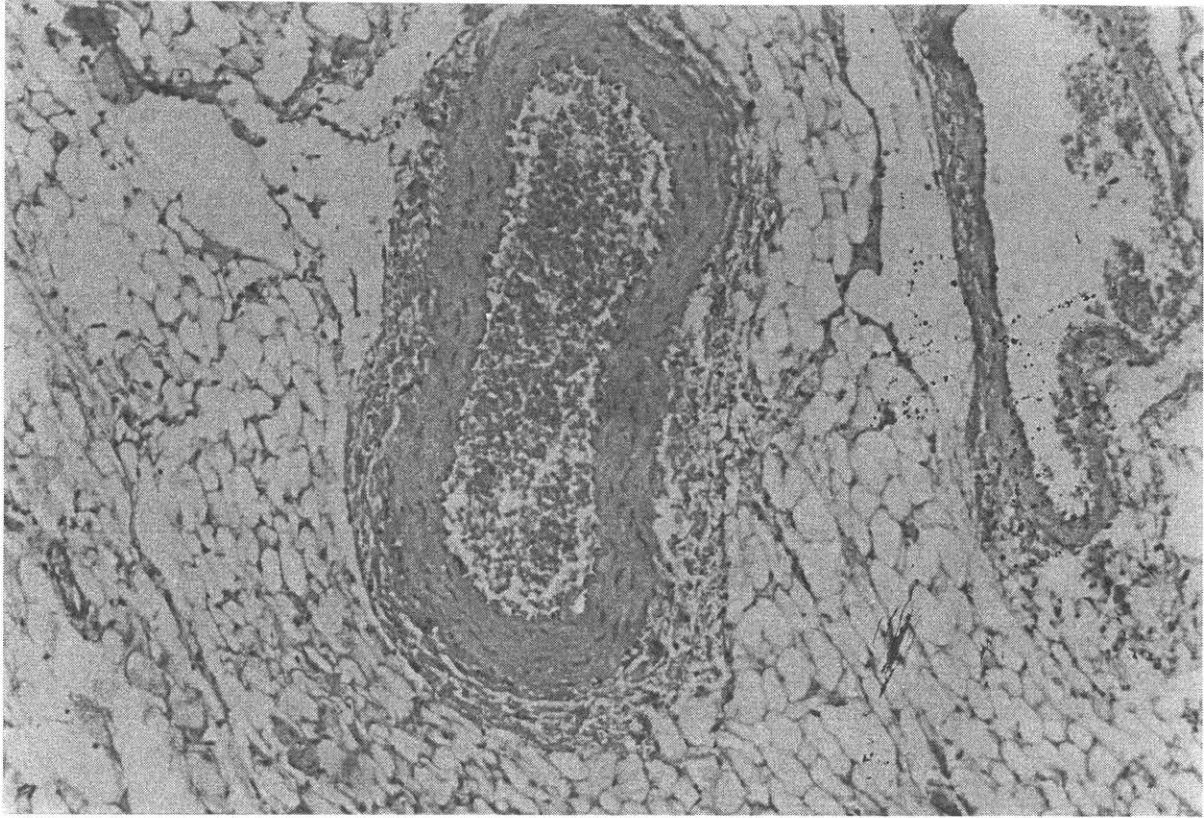
İskemi derecesi ve Pnl infiltrasyonu ile ilgili elde edilen sonuçlar istatistiksel açıdan non-parametrik

Kruksal-Wallis ve Mann-Whitney U testleriyle değerlendirildi.

BULGULAR

Birinci grupta postop 24. Sate 5 denekte fizik aktivite azalmış iken, 2 denekte normaldi. Bu gruptaki deneklerin yapılan relaparotomilerinde 5 denekte makroskopik olarak bağlanan kollateral arkları arasında kalan barsak segmentleri ileri derecede siyanotik, visseral periton parlaklığını yitirmiş ve normal kanlanan barsak segmenti ile arasında demarkasyon hattı mevcut olup, mekanik uyarı ile peristaltizm yoktu. 2 denekte ise bağlanan kollateral arkları arasında kalan seroza rengi soluk, mekanik uyarı ile peristaltizm mevcuttu. Rezeksiyon materyallerinin histopatolojik incelemesinde, tüm deneklerde değişik derecelerde iskemisi mevcuttu. İskemisi 3 denekte (%42.8) grade 3 (resim 2), 2 denekte (%28.6) grade 2, 2 denekte (%28.6) ise grade 1 idi

(Tablo 1). Ekstrasvasküler intestinal dokuya PNL infiltrasyonu 2 denekte (%28.6) grade 4, 4 denekte (%57.2) grade 3, 1 denekte (%14.3) grade 1



Resim 3: Superior mezenteric arter kesitinde taze trombosun görünümü (HE X 100)

olarak bulundu. Tüm deneklerin SMA kesitlerinde damar içinde taze trombüs saptandı. (Resim 3)

İkinci grup denekler ; postop 24. Saatte değerlendirildiğinde, ikisinin aktivitesinin belirgin olarak azaldığı, beşinin ise normal aktivitede olduğu gözlemlendi. Bu grubun yapılan relaparotomilerinde, makroskopik olarak 3 deneğin bağlanan kollateral arkları arasında kalan ince barsak segmentlerinde visseral periton parlaklığında azalma ile birlikte normale yakın görünüm ve mekanik uyarı ile peristaltizm mevcuttu. Rezeksiyon materyallerinin histopatolojik incelemesinde bu gruptaki tüm deneklerde de ince barsaklarda değişik derecelerde iskemik değişiklikler saptandı. İskemi 4 denekte (%57.2) grade 2, 3 denekte ise (%42.8) grade 1 idi. Doku içine PNL infiltrasyonu ise 2 denekte grade 3, 4 denekte grade 2, 1 denekte ise grade 1 olarak tesbit edildi. SMA kesitlerinde 6 denekte damar içinde trombüs formasyonu gözlenmezken 1 denekte taze trombüs vardı (Tablo 2). Üçüncü grup denekler postoperatif 24. Saatte değerlendirildiğinde ise, tüm denekler normal aktiviteye sahipti. Bu gruptaki

deneklerin relaparotomilerinde makroskopik olarak 5 deneğin bağlanan kollateralleri arasında kalan barsak segmentleri normal görünümde, 2 deneğin ise seroza parlaklığında azalma görüldü. Tüm deneklerin barsaklarında mekanik uyarı ile peristaltizm mevcuttu. Yapılan histopatolojik incelemede 5 deneğin (%71.4) ince barsak duvarında iskemik bulgusu saptanmadı. 2 denekte ise grade 1 iskemik değişiklikler saptandı. İntestinal dokuya PNL infiltrasyonu 4 denekte grade 2, 3 denekte ise grade 1 idi. SMA kesitlerinde hiçbir denekte trombüs gözlenmedi. Yapılan istatistiksel analizde, 1. ve 2. grup arasında iskemik değişiklik açısından anlamlı fark yoktu. ($p>0.05$), fakat 1. grupta %42.8'lik ağır nekroz tespit edilmesine rağmen, 2. grupta ağır nekroz tesbit edilmedi. 1. grup ile 3. grup arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.01$). Ekstravasküler dokuya PNL infiltrasyonu açısından ham 1. ve 2. grup arasında ($p<0.05$) hem de 1. ve 3. grup arasında ($p<0.01$) anlamlı fark vardı. 2. ve 3. grup arasında ise anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.05$) Mezenter arterde trombüs varlığı açısından hem 1. ve 2. grup arasında ($p<0.01$), hem de 1. ve 3. grup arasında ($p<0.001$) anlamlı fark mevcuttu. 2. ve 3. grup arasında ise anlamlı fark bulunmadı. ($p>0.001$)

TABLOLAR

İskemi Derecesi	Grup 1 Denek sayısı	Grup 2 Denek sayısı	Grup 3 Denek sayısı
Grade 0	0	0	5
Grade 1	2	3	2
Grade 2	2	4	0
Grade 3	3	0	0

Tablo-1 :Gruplara göre İntestinal İskemi dereceleri ve denek sayıları

Trombüs varlığı	Grup 1 denek sayısı	Grup 2 denek sayısı	Grup 3 denek sayısı
VAR	7	1	0
YOK	0	6	7

Tablo-2 :Gruplara göre SMA içinde trombüs varlığı ve denek sayıları

TARTIŞMA

SMA oklüzyonuna bağlı akut mezenterik iskeminin tedavisinde; geniş barsak rezeksiyonlarına alternatif olarak, revaskülarizasyon prosedürlerinin yanısıra intraarteryal vasodilatatörler ile antitrombotik ve fibrinolitik ajanların kullanılması denenmiştir.(1,6,7,8,9,10)

Defibrotide, antiiskemik ajan olarak birçok klinik ve deneysel çalışmada kullanılmıştır. Renal iskemide defibrotide'nin fonksiyonel ve morfolojik hasarı azalttığı, akut myokard infarktüsünde ise infarkt zonunda gerilemeye yol açtığı gösterilmiştir.(11,12,13).

Defibrotide'nin en önemli özelliği, güçlü antitrombotik etkisidir. Lilia G. Ve ark defibrotide'nin tavşanlarda arteriyel trombüs ağırlığını %76 oranında azalttığını göstermişlerdir(14). Çalışmamızda SMA,dan hazırlanan preparatlar incelendiğinde; 1.grupta deneklerin tümünde taze trombüs saptanırken, 2.grupta sadece 1 denekte

taze trombüs görülmüş, 3.grupta ise deneklerde trombüs tespit edilmemiştir. İstatistiki olarak da veriler ileri derecede anlamlı bulunmuştur.(p<0.001). Bu bulgular defibrotide'nin güçlü antitrombotik ajan olduğu görüşü ile uyumludur.

Çalışmamızda 1. ve 2. grupta tüm deneklerde barsak duvarında değişik derecelerde iskemik saptandı. Ancak 1. grupta 3 denekte (%42.8) transmural nekroz görülmesine karşın 2. gruptaki deneklerde saptanan iskemik lezyonlar villuslara veya mukozaya sınırlı idi. Bunun önemi 2. gruptaki deneklerde kriptalardan mukozal rejenerasyon şansının olmasıdır.(7,15). Diğer yandan 3. grupta sadece 2 denekte hafif iskemik (villuslarad fokal nekroz) saptanmıştır. Bu bulgularla defibrotide'nin terapötik kullanımında ağır nekrozu önlediği, profilaktik terapötik verildiğinde ise sadece ağır nekrozu önlemekle kalmayıp, iskemiye de önemli ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır.

İskemik hasarda önemi bilinen bir etken de; ektravasküler dokuya polimorf nüveli

lökosit(PNL) lökosit infiltrasyonudur.(16,17). Özellikle reperfüzyon hasarında oksijen metabolitlerinin yanısıra PNL aktivasyonunda önemlidir. Ksantin oksidazın oluşturduğu oksidanlar inflamatuvar ajanların üretimi ve salınımını başlatır. Bunlarda PNL adheransına ve migrasyonuna neden olur. Adheran lökositler, ya proteazların salınımına ya da endotel barilerinin bozulmasına veya her ikisinde etkisiyle mikrovasküler hasara yol açar.(18,19). Çalışmamızda 1. gruptaki deneklerin %85.8'inde saptanan grade 3 ve grade 4 PNL infiltrasyonu Oliver M.G. ve ark.ın bulgularıyla benzerdir.(20). 2. ve 3. grupta ise intestinal dokuya PNL infiltrasyonu 1.gruba göre anlamlı derecede azalmış olarak bulundu.(p<0.05). Bu bulgular değişik dokularla defibrotide ile yapılan iskemi-reperfüzyon çalışmalarındaki PNL infiltrasyonu ile uyumlu idi.(16,21).

Elde edilen sonuçlara göre; bu konuda yapılacak çalışmalarla destekliğinde birçok tromboembolik klinik

çalışmada başarı ile kullanılmış olan defibrodite'nin seçilmiş vakalarda mezenterik vasküler oklüzyonlarda da kullanımı düşünülebilir. Ayrıca mezenterik emboli riski taşıyan akut aritmili kardiyak hastalarda, profilaktik kullanımının yararlı olacağı kanısı uyanmıştır. Benzer olarak fibrinolitik ajanların kontrendike olduğu olgularda, belirgin kanama riski olmadığından SMA tromboembolilerinde, embolektomi veya arteriyel rekonstrüksiyondan sonra rekürren emboliyi ve intraarteriyel mezenterik trombozu engellemek için postoperatif kullanımı da akılda bulundurulmalıdır.

Sonuç olarak; tanısı çoğunluklu operasyonda konulan yüksek mortalite ve morbidite ile seyreden mezenterik iskemi hastalığından, defibrotide kullanımı ile yapılan deneysel modelde elde edilen sonuçlar cesaret verici olarak bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Flickinger E?G, Johnsrude I.S., Ogburn., et al:Local Streptokinase infusion for Superior Mesenteric Artery Thromboembolism A.J.R. 1983;140:771-772
2. Gragner D.N? Role of xantine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. Am J Physiol 1988;255:1269-1275
3. Sande E., Johnsen G., Tangen G.Myhuold H.E:İntraoperative Streptokinase in the treatment of superior mesenteric artery embolisation. Eur J Surg.1991;157:615-616
4. Ulutin O.n.,Antithrombotic Effect and clinical potential of defibrodite.Thromb and Haemost. 1993;19(1):186-191
5. Ulutin O.N.,Balkuv U.Ş.,Uğur M.S.;The pharmacology and clinical pharmacology of defibrotide:A new profibrinolytic, antithrombotic and anti-platilet substance. Adv Exp Med Biol. 1990;281(1):429-438
6. Kaleya R.N.,Sammartano R.J.,Boley S.J.;Agresive approach to acute mesenteric ischemia.Surg Clin North Am 1992;72:157-183
7. O'Mara C.S.,Ernst C.b.:Acute mesenteric ischemia.İn:Zuidema G.d.,ed.Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract.4th edition, Vol 5,Philadephia,W.B.Saunders Co.,1996:17-32
8. Bakal C.W.,Sprayregen S.,Wolf E.L.;Radiology in intestinal ischemia.Surg Clin North Am 1992;72: 125-14
9. Boley S.J.,Feinstein F.R.,Sammartano R.,Brant L.J.,New concepts in the management of emboli of the superior mesenteric artery.Surg Gyn Obs 1981;153:561-569
10. Genç FA.Akut mezenterik iskemik sendromlar.Ulusal travma dergisi.1997;3:1-8
11. Comandella M.G.,Rigotti P.,valente M.;Functional and morphological effects of defibrotide on renal ischemia. Res exp Med.1993;193(2):65-71

12. Corsi M.,Parise M.,Gaja G.;antiischemic effect of defibrotide treatment in rat kidney.Drugs Exp Clin Res.1993;19(6):261-265
13. Maatioli G.,Cappelo C.,Fusaro M.T.;Treatment of acute myocardial infarction with defibrotide Thromb Haemost.1989;15:470-473
14. Grodzinska L.,Konig E.,Schrör K.,Defibrotide is equipotent to urokinase in stimulating arterial and venous thrombolysis. Pharm Res Com.1987;19(9): 609-615
15. Wilson C.,Grupta R.,Gilmour D.G.: Acute superior mesenteric ischemia.Br J Surg.1987;74:279-281
16. Ma X.L.,Porta R.,Pescador R.;Novel beneficial mechanisms of defibrotide, a prostacyclin enhancing agent in splanchnic artery occlusion and reperfusion in rats.Exp Clin pharmacol.1991;13(10):667-674
17. Zimmerman B.J Grangel D.N.;Reperfusion injury.Surg clin North Am.1992;72:65-84
18. Di Perri T,Pasini F.L.,Capecchi P.L.,Defibrotide;pharmacological basis for its

therapeutic efficacy in thrombotic venous disease.XXVI. World congress of the international college of Surgeons,Milan 1988

19. Emerk K.:Modulatory effect of defibrotide in endothelial functions in ischemia and reperfusion (Abst 229) XII.meeting of the International Society of Haematology,İstanbul,1995

20. Oliver M.G.,Specian R.D.,Perry M.A.;Morphologic assesment of leukocyte endothelial cell interactions in mesenteric venules subjected to ischemia and reperfusion. Inflammation 1991;15(5):331-346

21. Cirillo F.,Margaglione M.,Vecchione G.;in vitro inhibition by defibrotide of monocyte superoxyde anion generation:a possible mechanism for the antithrombotic effect of a polydeoxiribonucleotide derived drog. Haemostasis 1991;21(2):98-105