

ENDOTEL HARABİYETİ OLUŞTURULAN ARTERDE AÇIK KALMA ORANINI ARTIRICI BİR YÖNTEM OLARAK İNTRALUMİNAL STREPTOKİNAZ UYGULAMASI: DENEYSEL ÇALIŞMA

INTRALUMINAL STREPTOKINASE APPLICATION TO INCREASE PATENCY IN ENDOTHELIUM DENUDED VESSEL: AN EXPERIMENTAL STUDY

Osman Tansel DARÇIN¹, İlyas ÖZARDALI², Süleyman GANİDAĞLI³, Mete KAYA⁴, Mehmet Halit ANDAÇ¹
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi¹, Patoloji², Anesteziyoloji ve Reanimasyon³,
Çocuk Cerrahisi⁴ Anabilim Dalları, ŞANLIURFA

Özet

Amaç: Vasküler endotel dokusunun ortadan kaldırılması ile o bölgede trombüs gelişmesi, çoğu kez cerrahi girişimin başarılarını azaltan bir faktördür. Bu durumun engellenmesi için daha önceden çeşitli uygulamalar yapılmakla birlikte, sorun halen tümüyle çözülebilmemiştir. Bu çalışmada biz, intima harabiyeti oluşturulan arter modelinde, streptokinazın trombüs oluşumunu önleyici etkisini postoperatif erken dönemde değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: 18 adet köpeğin her iki femoral arterlerinde deneysel intima harabiyeti oluşturuldu. Daha sonra bu bölgeye kontrol tarafında serum fizyolojik, çalışma tarafında ise streptokinaz çözeltisi uygulandı. Üç hafta sonra deneklerin femoral arteriografileri çekildi ve iflem yapılan arter segmentleri eksize edilerek histolojik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Postoperatif arteriografik değerlendirme sonucunda, çalışma tarafında belirgin bir lümen kaybı görülmezken (% 12.2 ± 9.7), kontrol tarafında daha fazla bir lümen kaybı olup (% 37.8 ± 2.8), her iki taraf çapları arasındaki fark anlamlı ölçüdeydi (p<0.05). Histolojik değerlendirmelerinde ise, çalışma tarafında minimal trombüs parçaları izlenen altı köpek dışında trombüs izlenmezken, kontrol tarafındaki örneklerin tümünde lümeninde organize trombüs parçaları görülmekteydi.

Sonuç: Endotel harabiyeti oluşturulan girişimlerde streptokinaz uygulamasının postoperatif dönemde açık kalma oranını artıracak şekilde düşünüyoruz. (Damar Cerrahi Dergisi 2003;12(3): 21-25)

Anahtar Kelimeler: Streptokinaz, endotel, trombüs.

Summary

Objective: Localized thrombus formation in denuded vessel is a worsened factor of surgical results. This has been an unsolved problem, although many studies were performed to date. In this study, we have aimed to evaluate profibrinolytic effect of streptokinase intimal denudation model.

Methods: An experimental intimal denudation was performed in both femoral arteries of 18 dogs. Intraluminally streptokinase solution was applied in study sides and saline solution was applied in control sides of each dog. After three weeks, a bilateral femoral arteriography was obtained and histological examination of denuded segments was performed.

Results: On arteriographic examination, significantly increased luminal stenosis were seen in control segments (37.8 % ± 2.8) comparing the study ones (12.2 % ± 9.7) (p<0.05). On histological examination, obvious organized thrombus formation was seen in all of the arterial lumen on the control side whereas there is no thrombus on the study side except six dogs with minimal luminal thrombosis.

Conclusion: We thought that intraluminal streptokinase application would be effective on increasing patency rates in procedures causing endothelial denudation. (Turkish J Vasc Surg 2003;12(3): 21-25)

Key Words: Streptokinase, endothelium, thrombus

Yazışma Adresi:

Y.Doç.Dr. O.Tansel Darçın,
Harran Üniversitesi, Araştırma Hastanesi,
Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, 63100-Şanlıurfa,
E-mail: otdarcin@harran.edu.tr
Bu çalışmada, VII. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi'nde (23-27 Ekim 2002, Antalya) sunulmuştur.

Endotel, fibrinolitik enzim sisteminin lokal etkilerinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Endotel bu etkisini, prostasiklin ve endotelyum derived relaxing faktör (EDRF) gibi platelet agregasyon inhibütörleri gibi maddeler salgılayarak yerine getirir⁽¹⁻⁴⁾. Plazminojen aktivatörlerinin trombüsü eritici etkilerinin olduğu bilinmektedir^(1,2,5,6,8-12). Ancak bu tür maddelerin, halen var olan etkiyi ne oranda artırdıkları henüz tümüyle araştırılmamıştır.

Endotel harabiyeti gelişen yüzeylerde bu etkinin ortadan kalkması nedeni ile, sıklıkla lokalize trombüs gelişmektedir^(1,4). Bu tür bir oluşumu önlemek için daha önceden çeşitli çalışmalar yapılmakla birlikte, sorun halen tümüyle çözülebilmemiştir⁽⁴⁻⁶⁾. Bu çalışmada biz, lokal streptokinaz kullanımıyla daha sonraki dönemde trombüs oluşumunu azaltabileceğini düşündük ve bu etkiyi köpeklerde oluşturdumuzu deneysel intima harabiyeti modelinde değerlendirmeyi amaçladık.

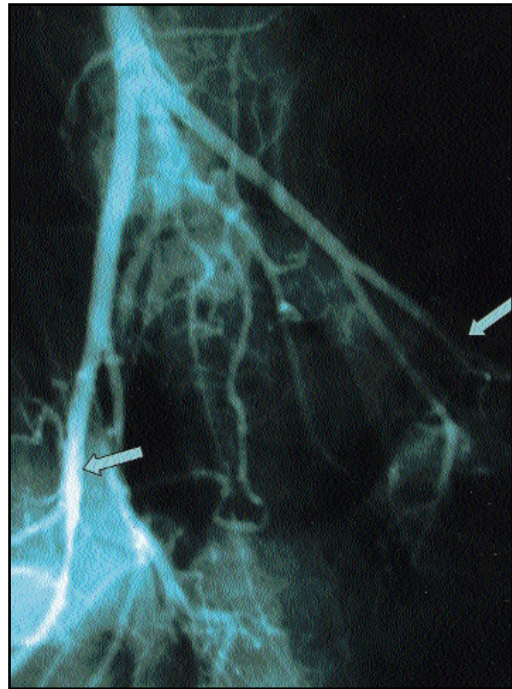
GEREÇLER VE YÖNTEM

19-26 kg arasında 18 adet her iki cinsten köpeğin kullanıldığı bu çalışma, T.C. Harran Üniversitesi, Etik Kurulu'nun ortaya koyduğu ilkelere uyularak ve ilgili kurulun izni dahilinde gerçekleştirildi. Bu amaçla deneklere önce 3 mg/kg Xylazine ve 25 mg/kg Ketamin anestezisi yapıldı. İşlem sırasında hemokonsantrasyonu önlemek ve volüm kaybını karşılamak amacıyla, 10 ml/kg.saat dozunda intravenöz %0,9'luk NaCl solüsyonu infüze edildi ve antibiyotik profilaksisi yapıldı. Her denek için bir femoral arteri çalışma, diğer femoral arteri ise kontrol amacıyla kullanıldı. Bu şekilde aynı denek üzerinde çalışma ve kontrol tarafları oluşturuldu. Bunun için denekler 100 ünite (ü.) /kg. dozundaki heparin ile heparinize edildikten sonra, her iki femoral artere damar klempisi konularak, klempinin distaline arteriotomi yapıldı. Buradan sokulan 3.0 x 2.0 PTA kateteri (Cordis-Europass, Netherlands) distale doğru yönlendirilerek, sabit basınç uygulayabilen enjektör ile (Nemed, İstanbul) 9 atmosfer (atm.) basıncında 30 sn. boyunca fıfırıldı. fıfırılmıyorsa durumdaki balon, ileriye ve geriye doğru hareket ettirilerek, 4 cm.'lik bir segmentte deneysel

intima harabiyeti oluşturuldu. Daha sonra bu bölgeye kontrol tarafında serum fizyolojik, çalışma tarafında ise 5000 U/ml oranında Streptokinaz çözeltisi, 30 dk süreyle intraluminal olarak uygulandı. Üç hafta sonra aynı şekilde anestezi verilerek, abdominal aortadan ilerletilen 5 french (F) bir intraducer yardımıyla deneklerin femoral arteriografileri çekildi ve işlem yapılan arter segmentleri eksize edildi. Çalışma ve kontrol taraflarından alınan arter örneklerinden elde edilen kesitler, Hematoksilen-Eosin (HE) ile boyanarak, ışık mikroskopunda başlıca bir gözlemci tarafından değerlendirildi. Her iki taraftan elde edilen stenoz oranları, Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Eflzamanlı bilateral femoral arteriografilerin değerlendirmesinde, kontrol tarafında lümen kaybı izlenirken, çalışma tarafında lümenin daha açık olduğu görüldü (Resim 1). Arteriografilerin değerlendirilmesi sonrasında, çalışma tarafından elde edilen stenoz oran ortalaması 12.2 ± 9.7 iken, kontrol tarafında bu değer 37.8 ± 2.8 olarak bulundu (Tablo 1). Çalışma tarafı stenoz oranları, kontrol tarafına göre istatistiksel



Resim 1. Üçüncü haftada çekilen arteriogram. Oklarla da gösterildiği gibi, sol femoral arterde herhangi bir lümen kaybı izlenmezken, sağ femoral arterde %50 oranında bir stenoz dikkati çekiyor.

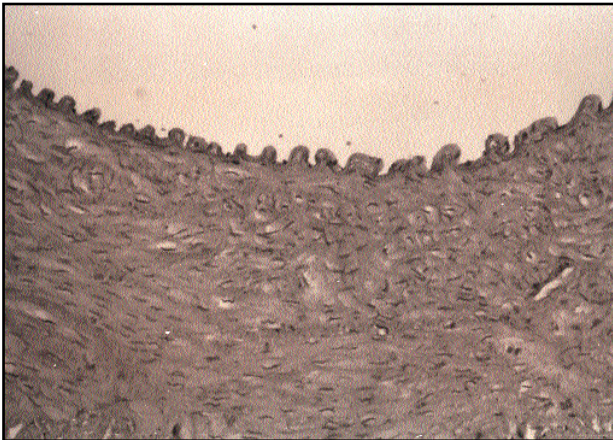
Tablo 1: Derneklerin çalışmaya ve kontrol tarafları stenoz oranları (%).

Denek no	Çalışma tarafı (%)	Kontrol tarafı (%)
1	10	30
2	10	40
3	0	30
4	20	40
5	10	50
6	20	50
7	30	40
8	10	50
9	0	30
10	0	30
11	10	40
12	10	30
13	20	40
14	10	30
15	20	50
16	30	40
17	0	30
18	10	30
Ortalama ± SD	% 12.2 ± 9.7	% 37.8 ± 2.8

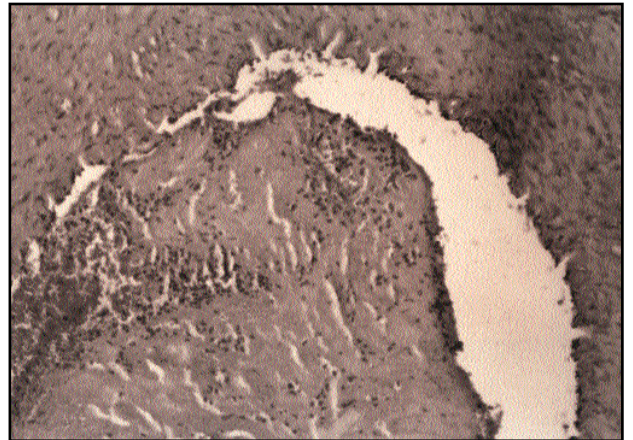
SD. Standard deviasyon, $p < 0.05$

olarak anlamlı ölçüde daha düşüktü ($p < 0.05$). Histolojik değerlendirilmede, her iki tarafta da arter lümenindeki endotel tabakasının büyük oranda harap edilmemiş olduğu izlendi. Ancak çalışmaya tarafında altı denek dışında herhangi bir luminal trombüs

izlenmezken, kontrol tarafının tümünde subendotelial tabakaya tutunmuş organize trombüs parçaları izlenmekteydi. Bu altı denekteki luminal trombüs oluşumu ise, aynı deneklerin kontrol taraflarına göre önemli ölçüde daha azdı (Resim 2 ve 3).



Resim 2. Çalışmaya tarafının arter dokusunun histolojik görünümü. Lümeninde endotelium dokusu büyük oranda harap edilmemiş. Ancak herhangi bir trombüs oluşumu izlenmiyor. (Hematoksilen-Eosin, x100, orijinal büyütme).



Resim 3. Kontrol tarafının histolojik görünümü. Harap edilen endotelium dokusu yerine internal elastik lamina üzerine oturmuş organize trombüs görünümü dikkat çekiyor (Hematoksilen-Eosin, x100, orijinal büyütme).

TARTIŞMA

Canlılarda fibrinolizis, normalde fizyolojik olarak endotel tabakasının yerine getirdiği bir iflemdir. Bu tabaka, glikozaminoglikanlar, plazminojen aktivatörleri, trombomodulin, prostoglandin I_2 (PGI_2) gibi antitrombotik ve antikoagülan maddeler salgılayarak, lokal olarak pıhtılaşmayı önler. Bunlardan özellikle PGI_2 , platelet adezyonunu inhibe edici ve pıhtılaşma bileşiklerinin salınımını önleyici özellikleri olan hücre içindeki siklik adenosin monofosfat (cAMP) artırarak, platelet agregasyonunu inhibe eder^(1,2). Damar cerrahisi ya da girifimsel kardiyoloji uygulamaları sırasında, bazen endotel zarar görmekte ve sonuçta kan ile temas eden subendotel tabakası üzerinde trombüs oluşmaktadır⁽¹⁻⁴⁾. Bu oluşumu önlemek için, günümüze dek çeşitli çalışmalar yapılmıştır⁽⁴⁻⁶⁾. Bu çalışmaların bazıları, endotelin bulunmadığı doğal ya da yapay damar yüzeylerine daha önce hücre kültürlerinde üretilmiş olan endotel hücreleri yerleştirilmiş ve sorun bu şekilde çözülmeye çalışılmıştır^(4,7). Ancak bu tür yöntemlerin zaman alması ve pahalı olması, onların klinikteki kullanımını sınırlandırmıştır.

Diğer yandan bazı çalışmalarla da venlerin intima yüzeylerinde lokal trombolitik madde uygulamasının, daha sonraki dönemde endotel dokusunun halen olan fibrinolitik aktivitesini daha da artırdığı ya da oluşan trombüsü azalttığı gösterilmiştir^(5,8). Bunlardan Toma ve arkadaşları⁽⁵⁾ yaptıkları çalışmayla, ven parçalarının intimalarına ürokinaz uygulamasının daha sonraki dönemde fibrinolitik aktiviteyi artırdığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, lümene verilen streptokinaz, oluşturulan endotelium harabiyetinden geriye kalan az miktardaki endotel hücrelerinin fibrinolitik aktivitesini artırmış ve bu şekilde postoperatif dönemde trombüs oluşumunu azaltmış olabilir. Üç hafta sonra yapılan arteriografik değerlendirmede deneklerin her iki tarafındaki lümen çapları arasında anlamlı fark bulunması ve yapılan histolojik değerlendirmede de çalışma tarafından alınan örneklerde, minimal trombüs parçaları görülen altı denek dışında trombüs izlenmemesi de bu düşüncüyü desteklemektedir. Diğer yandan, endotelin

harap edildiği kontrol tarafında subendotelial doku ile kanın temas etmesi sonrasında bölgede bu yüzeye tutunmuş organize trombüs parçalarının oluşumu ise, literatürde göz önünde bulundurulduğu zaman, zaten beklenen bir gelişmedir^(2,4,10,12-15).

Bu çalışmaya benzer diğer trombolitik madde çalışmaları, ürokinaz ya da doku plazminojen aktivatörleri gibi daha farklı ajanlar da kullanılmıştır^(5,8,12,13). Bunlardan Cooley ve arkadaşları⁽¹³⁾, rat karotisinde oluşturdukları deneysel intima harabiyeti modelinde topikal ürokinaz kullanımları ve postoperatif iki saatlik açık kalma oranını % 55 olarak bulmuşlardır. Biz ise çalışmamızda, köpeklerin femoral arter çaplarının büyüklük olarak ratlara göre insan modeline daha yakın olacağı düşüncesiyle, köpek femoral arterini kullanarak ve postoperatif stenoz oranını % 12.2 ± 9.7 olarak bulduk. Ancak bu çalışmada biz ülkemiz koşullarında kolayca bulunabilmesi ve ucuz olması nedeniyle fibrinolitik ajan olarak streptokinazı tercih ettik. Bu maddenin çözeltisini hazırlarken de literatürde⁽⁹⁾ önerilen çözünme oranlarını kullanarak ve bu oranlarda da istenilen profibrinolitik etkinin sağlanabileceğini gördük. Çalışmamızdaki verilerin daha iyi olarak sonuçlanması ise, kullanılan maddeden ziyade daha büyük bir denekte ve daha geniş çaplı bir arter modelinde çalışmaya bağlı olabileceğini düşündük. Bu da böyle bir girifimin, insanlarda ve kısmen daha büyük çaplı arterlerde uygulamasının, daha iyi sonuçlar doğurabileceğini düşündürmektedir.

Streptokinazın streptokoklardan elde edilmesi nedeniyle antijenik özelliklerinin olduğu ve bu durumun maddenin klinik kullanımında kontrendikasyonlar yarattığından da literatürde bahsedilmektedir⁽⁹⁾. Ancak böyle durumlarda, çalışmamızda etkinlikleri değerlendirilmemekle birlikte, diğer trombolitik ajanlar da tercih edilebilirler. Günümüzde yapılan çeşitli girifimsel klinik ve cerrahi uygulamalarda, endotel dokusu ya tümüyle ortadan kaldırılmakta ya da azaltılmaktadır. Endotel tabakasının ortadan kaldırıldığı böyle durumlarda ise,

trombüs daha çok postoperatif erken dönemde gelişmektedir⁽¹³⁻¹⁵⁾. Bu nedenle, postoperatif erken dönemde bile streptokinazla oluşturulan fibrinolitik etki, cerrahinin başarıları anlamlı ölçüde artırabilir. Ancak, bu yöntemin insanlardaki etkinliğinin ve uzun dönemli sonuçlarının da değerlendirilebilmesi için, daha sonraki dönemde yapılacak, daha kapsamlı deneysel ve klinik çalışmalara da ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Vasalli JD, Sappino AP, Belin D. The plasminogen activator / plasmin system. *J Clin Invest* 1991; 88:1067-1072.
2. Cain BS, Meldrum DR, Selzman CH, et al. Surgical implication of vascular endothelial physiology. *Surgery* 1997;122:516-526.
3. Sidawy AN, Mitchell ME. Basic considerations of the arterial wall in health and disease. In: *Vascular Surgery*. Rutherford RB. (ed). Philadelphia, W.B. Saunders Co. 2000:60-73.
4. Darçın OT, Islamoglu F, Yagdi T, et al. Effectiveness of endothelial cell seeding on patency of damaged vascular surfaces in a canine model. *Ann Vasc Surg* 2001;15:350-354.
5. Toma N, Sobel M. Enhancement of the fibrinolytic activity of intact saphenous veins by the luminal application of urokinase. *Vasc Surg* 1996;30(3):207-213.
6. Kauhanen P, Siren V, Carpen O, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 in neointima of vein grafts. Its role in reduced fibrinolytic potential and graft failure. *Circulation* 1997;96(6):1783-1789.
7. Fields C, Cassano A, Makhoul RG, et al. Evaluation of electrostatically endothelial cell seeded expanded polytetrafluoroethylene grafts in a canine femoral artery model. *J Biomater Appl* 2002;17(2):135-152.
8. Salinger MH, Lopez A, Frohlich TG, et al. Systemic and local saphenous vein graft thrombosis using a tissue plasminogen activator. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1990;19:198-201.
9. Kashyap VS, Quinones-Baldrich WJ. Principles of thrombolytic therapy. In: *Vascular Surgery*. Rutherford RB. (ed). Philadelphia, W.B. Saunders Co. 2000: 457-475.
10. Clowes AW, Clowes MM, Au YPT, et al. Smooth muscle cells express urokinase during mitogenesis and tissue-type plasminogen activator during migration in injured rat carotid artery. *Circ Res* 1990;67(1):61-67.
11. Atiyeh BS, Hashim HA, Hamdan AM, et al. Local recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) thrombolytic therapy in microvascular surgery. *Microsurgery* 1999;19:265-271.
12. Sandbaek, Staxrud LE, Rosen L, et al. Morphological abnormalities revealed after successful intra-arterial thrombolysis of infrainguinal native arteries and bypasses. *Acta Radiol* 1999;40:23-28.
13. Cooley BC, Hanel DP, Gould JS, et al. Antithrombotic benefit of subendothelium-bound urokinase: an experimental study. *J Hand Surg [Am]* 1992;17(2):235-244.
14. Gray BH, Sullivan TM, Childs MB, et al. High incidence of restenosis/reocclusion of stents in percutaneous treatment of long-segment superficial femoral artery disease after suboptimal angioplasty. *J Vasc Surg* 1997;25:74-83.
15. Ahn SS, Obrand DI, Moore WS. Transluminal balloon angioplasty, stents and atherectomy. *Sem Vasc Surg* 1997;10(4):286-296.