

Silikon Yağının Diabetes Mellituslu Olgularda İn-Vitro Koşullarda Trombosit Agregasyonu Üzerine Etkisi

The effect of Silicone Oil on Thrombocyte Aggregation Under In-Vitro Conditions in Patients with Diabetes Mellitus

Cengiz ARAS¹, Zafer BAŞLAR²

ÖZ

Amaç: Silikon yağının in-vitro koşullarda diabetik hastaların kanında trombosit agregasyonu üzerine etkisini araştırmak

Gereç ve Yöntem: Çalışma grubu olarak glikoz regülasyonunun son 3 ay içerisinde iyi olmadığı bilinen 3 diabetik olgu ile kontrol grubu olarak 3 sağlıklı erişkinin kanının kullanıldığı deneylerde 1000 cs viskozitede silikon yağı ile çalışıldı. Agregometri cihazı kullanılarak trombosit zengin plazmada, agregasyon uyarıcı ajanlar olarak adenozin difosfat(ADP), adrenalin(ADR), kollajen(Kol) kullanımı ile deneyler gerçekleştirildi. Sonuçlar maksimal agregasyon yüzdesi olarak belirlendi. İstatistiki karşılaştırmalar ki-kare testi ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Çalışma grubunda silikon yağı ilavesi ile ADP ile yapılan ölçümlerde %19'lık, ADR ile yapılan ölçümlerde %12'lik, kollajen ile yapılan ölçümlerde %11'lük bir agregasyon azalması gözlemlendi. Kontrol grubunda silikon yağı ilavesi ile ADP ile yapılan ölçümlerde %17'lik, ADR ile yapılan ölçümlerde %2'lik, kollajen ile yapılan ölçümlerde %12'lik bir agregasyon azalması gözlemlendi. Çalışma ve kontrol grubunda silikon yağının trombosit agregasyonunu inhibe edici etki açısından anlamlı fark gözlemlenmedi($p > 0,05$, ki-kare testi)

Sonuç: Silikon yağı diabetes mellituslu hastaların trombositlerinde in vitro koşullarda agregasyon inhibisyonu oluşturmaktadır ancak bu etkinlik kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı değildir.

Anahtar Kelimeler: Silikon Yağı, Diabetes Mellitus, Trombosit.

ABSTRACT

Purpose: To study the effect of silicone oil on platelet aggregation under in vitro conditions in patients with diabetes mellitus.

Materials and Methods: The study was performed in blood of 3 diabetic patients who are known to be under bad metabolic control at the last 3 months(study group) and healthy adults(control group). 1000 cs silicone oil were used in experiments. The experiments were performed in thrombocyte rich plasma by using aggregometer. Adenosine diphosphate(ADP), adrenaline(ADR) and collagen(Col) were used as aggregating agents. Results were obtained as the percentage of maximal aggregation. Chi-square test was used for statistics.

Results: Silicone oil has exerted an antiaggregating effect as 19% with ADP, 12% with ADR and 11% with Col in the blood of diabetics. In control group, it has shown an antiaggregating effect as 17% with ADP, 2 % with ADR, and 12% with Col. The results of study group and controls revealed no significant difference($p > 0.05$, chi-square test).

Conclusion: Silicone oil has antiaggregating effect on thrombocytes of patient with diabetes mellitus. This effect is not statistically significant when compared to controls.

Key Words: Silicone oil, Diabetes Mellitus, Thrombocyte.

Ret-Vit 2005;13: 295-297

Geliş Tarihi : 18/02/2005

Kabul Tarihi : 22/06/2005

Received : February 18, 2005

Accepted: June 22, 2005

- 1- Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları AD., İstanbul, Doç. Dr.
- 2- Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul Doç. Dr., İstanbul

- 1- M.D. Associate Professor, Department of Ophthalmology of Cerrahpaşa Medical School of Istanbul University Cerrahpaşa Istanbul/TURKEY ARAS C., drcaras@superonline.com
- 2- M.D. Department of Ophthalmology of Cerrahpaşa Medical School of Istanbul University Cerrahpaşa Istanbul/TURKEY BAŞLAR Z., zaferbaslar@istanbul.edu.tr

Correspondence: M.D. Associate Professor, Cengiz ARAS
Department of Ophthalmology of Cerrahpaşa Medical School of Istanbul University Cerrahpaşa Istanbul/TURKEY

GİRİŞ

Son 15 yılda medikal grade silikon yağı vitreoretinal cerrahide, özellikle proliferatif vitreoretinopatinin eşlik ettiği kompleks retina dekolmanı, dev retina yırtığına bağlı retina dekolmanı ve traksiyonel retina dekolmanının eşlik ettiği proliferatif diabetik retinopati olgularında yaygın olarak kullanılmaktadır^{1,2}. Silikon yağının birçok fizikokimyasal özelliği çeşitli çalışmalarla aydınlatılmıştır³. Başlar ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada silikon yağının sağlıklı insan kanında in vitro koşullarda trombosit agregasyonunu azalttığı gösterilmiştir⁴. Silikon yağının trombosit agregasyonunu inhibe edici etkisinin mekanizması bilinmemektedir.

Diabetes Mellituslu olgularda trombosit fonksiyonlarında özellikle kollajene karşı gelişen aşırı duyarlılığa bağlı olarak trombus oluşumu kolaylaşmakta ve vasküler komplikasyonların gelişimi hızlanmaktadır^{5,6}.

Çalışmamızda diabetik insan kanında in vitro koşullarda silikon yağının trombosit agregasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

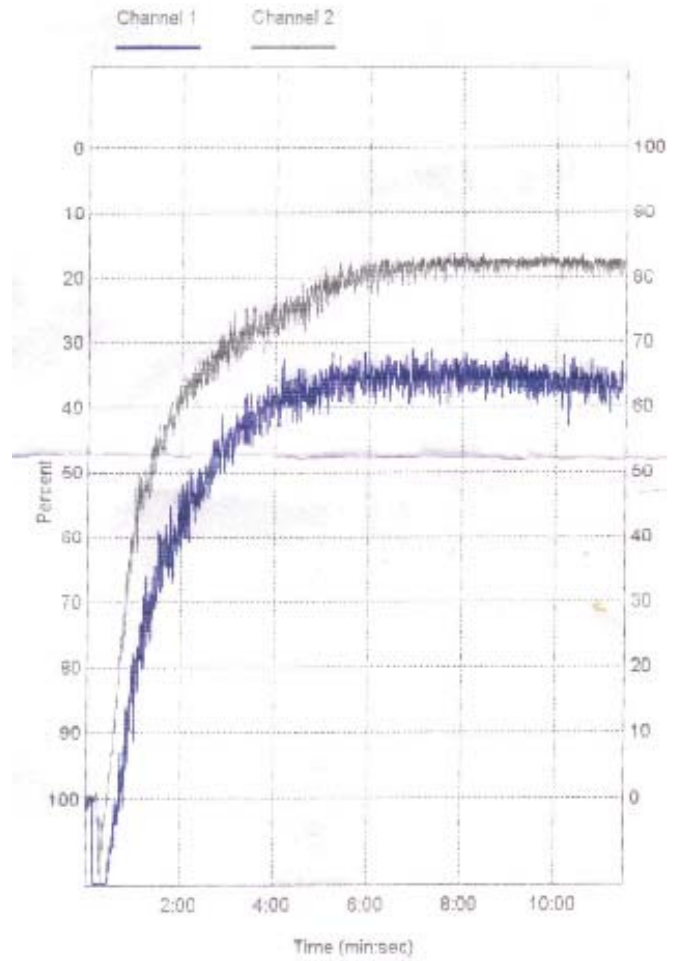
İn-vitro çalışmalar 1000 cs vizkoziteli silikon yağı (Oxane, Chauvin Opsia SA, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya, son 3 aydır glikoz metabolizması iyi kontrol edilemeyen, son 2 haftadır insülin injeksiyonu dışında herhangi bir medikasyon almayan tip I diabetes mellituslu 3 erkek olgu dahil edilmiştir. Olguların tümü preproliferatif diabetik retinopati nedeniyle laser fotokoagülasyon tedavisi görmekteydi. Olguların kanlarının çalışıldığı gün, ortalama açlık kan şekeri düzeyi %276 mg ve Hemogloblin A_{1c} düzeyi ise %12.3 idi. Kontrol grubu olarak; herhangi bir hastalığı olmayan, son 2 haftadır ilaç kullanmamış, yaş ortalaması 34.2 olan 3 sağlıklı erişkinine ait kan örnekleri kullanıldı. Diabetik olgulardaki ortalama trombosit sayısı 240.000/ml, kontrol grubunda ise 310.000/ml idi.

Gecelik aç kalma sonunda sabah 8' de olguların venöz kan örnekleri alındı ve %3.8 trisodyum sitrat ile antikoagülasyon(kan/antikoagülan madde:9/1) sağlandı. Trombositten zengin plazma(TZP) ve trombositten fakir plazma(TFP), 10 dakika süreli 1000 rpm ve 3500 rpm ile santrifüj işlemi sonucu elde edildi.

Agregasyon; adenozin 5'-difosfat(ADP), adrenalin (ADR) ve kollagen(Kol)'den oluşan üç ayrı agonist kullanılarak aggerometri cihazı(Chronolog Corp., Havertown, PA) ile incelendi⁷. Kullanılan agonist ajanların final konsantrasyonları; ADP için 10 mikroM/ml, kollajen için 4.4 g/mL,ADR için 100 M/mL idi. 1000 cs vizkoziteli silikon yağının etkisini değerlendirmek için , silikon yağı agonist eklenmeden 5 dakika önce TZP'ya eklendi.

Agregasyon, 1000 rpm hızda aralıksız çalkalama esnasında TZP'nın ışık geçirgenliği olarak hesaplandı. TZP'nın ışık geçirgenliği % 0' a ayarlanırken, TFP'nın ışık geçirgenliği % 100' e ayarlandı.Agregasyon trasesi 6-15 dakika süreyle agregan ajan ilavesinden sonra kaydedildi.



Şekil 1: Diabetik kan örneklerinden birinde ADP ve ADP+Silikon Yağı içeren örneklerdeki agregasyon ölçümüne ait cihaz çıkışı(Chanel 1: ADP+Silikon yağı; Chanel 2:ADP)

Trombositlerin agonist ajana cevabını belirlemek amacıyla, agregasyon yüzdesi agregasyonun miktarını belirleyen bir ölçü olarak kullanıldı. Testler her bir örnek için 3 kez tekrarlandı.

Sonuçlar her bir agonist ajan için, silikon yağı kullanılan ve kullanılmayan örneklerden elde edilerek gösterildi. Çalışma ve kontrol grubunun sonuçları ki-kare testi ile karşılaştırıldı.

Agonist— Silikon Farkı(Ort)	Çalışma Grupları	Kontrol Grupları	P Değeri(*)
ADP—Sil+ADP	% 19	% 17	P >0.05
ADR—Sil+ADR	% 12	% 2	P> 0.05
Kol—Sil+Kol	% 11	% 12	P> 0.05

Tablo 1: Silikon yağı ilave edilmeden önce ve sonra elde edilen ortalama maksimal agregasyon yüzdeleri arasındaki fark (*ki-kare testi)(ADP=adenozin di-fosfat;Sil=silikon yağı; ADR=adrenalin; Kol=kollagen)

SONUÇ

Çalışma Grubu:

Silikon ilavesi ile, her bir agonist ajan kullanılan deneyler için elde edilen maksimal agregasyon yüzdesinde azalma izlendi.

Örnekler ADP ile uyarıldığında, ortalama maksimal trombosit agregasyonu 94 ± 5.29 iken silikon yağı ilave edilen örneklerde ortalama 75 ± 5 'e indi (Şekil 1). Örnekler ADR ile uyarıldığında ortalama maksimal agregasyon 83 ± 2.63 iken silikon yağı ilavesi ile ortalama 71 ± 4.58 'e düştü. Örnekler kollajen ile uyarıldığında, maksimal trombosit agregasyonu 97 ± 2 iken 1000 cs lik silikon yağı ilavesi ile agregasyon düzeyinin 86 ± 4 'ya düştüğü gözlemlendi.

Silikon yağı ilave edildiğinde ADP'le yapılan ölçümlerde % 19 lik, ADR ile yapılan ölçümlerde % 12 lik, kollajen ile yapılan ölçümlerde % 11 lük bir agregasyon azalması gözlemlendi (Tablo 1).

Kontrol Grubu:

Silikon ilavesi ile, her bir agonist ajan kullanılan deneyler için elde edilen maksimal agregasyon yüzdesinde azalma izlendi.

Örnekler ADP ile uyarıldığında maksimal trombosit agregasyonu 91 ± 2 iken silikon yağı ilave edilen örneklerde ortalama 74 ± 12.48 'e indi (Şekil 1). Örnekler ADR ile uyarıldığında, maksimal agregasyon 88 ± 10.26 iken silikon yağı ilavesi ile 86 ± 6 'ya düştü. Örnekler kollajen ile uyarıldığında maksimal trombosit agregasyonu 89 ± 13.2 iken, 1000 cs lik silikon yağı ilavesi ile agregasyon düzeyinin 77 ± 6.02 'e düştüğü gözlemlendi.

Silikon yağı ilavesi ile ADP'le yapılan ölçümlerde % 17'lik, ADR ile yapılan ölçümlerde %2'lik, kollajen ile yapılan ölçümlerde %12'lik bir agregasyon azalması gözlemlendi (Tablo 1).

Karşılaştırma:

Diabetik olgu grubu ile kontrol grubuna ait silikon ilavesinden önceki ve sonraki değerler arasındaki farklar açısından anlamlılık gözlenmedi. ($p > 0.05$, Ki-kare testi).

TARTIŞMA

Diabetes Mellituslu hastalarda glikoz metabolizma bozukluğunun getirdiği ikincil olaylara bağlı olarak trombosit aktivasyonunun arttığı ve trombosit agregasyon eğilimi olduğu gösterilmiştir^{5,6}. Trombosit disfonksiyonunun moleküler mekanizmaları henüz yeterince aydınlatılmamıştır. Yamagishi ve ark; hipergliseminin mitokondrial süperoksid aşırı üretimine neden olarak kollajene karşı aşırı duyarlılık oluşturduğu bunun da trombosit agregasyonunu uyardığını göstermişlerdir⁶.

Silikon yağı vitreoretinal cerrahi uygulamalarında yaygın olarak kullanılan bir uzun süreli tampon maddesidir. Fizikokimyasal özelliklerinin birçoğu iyi bilinmekte olan bu maddenin trombosit agregasyonunu inhibe edici etkiye sahip olduğu yakın zamanlarda gösterilmiştir⁴. Silikon yağının trombosit agregasyonunu inhibe etme mekanizması, aydınlatılması gerekli bir soru olarak varlığını sürdürmektedir. Çalışmamızda bu sorunun cevaplanmasına katkıda bulunabileceği düşüncesiyle,

sağlıklı trombositleri olan normal kontrol grubu ile glikoz regülasyonunun iyi düzenlenmediği bilinen, dolayısıyla trombosit fonksiyonlarının normal olmadığı kabul edilen preproliferatif diabetik retinopatili olguların kan örneklerinde silikon yağının bu etkisi in vitro koşullarda araştırıldı. Sonuçlar silikon yağının trombosit agregasyonunu inhibe edici etkisinin her iki grupta da oluştuğunu ancak, aralarında bu etkinin oluşturulması bakımından anlamlı fark olmadığını göstermiştir. Bu durum silikon yağının trombosit agregasyonunu azaltıcı etkisinin olasılıkla moleküler düzeyde yaptığı değişikliklerden değil, hidrofobik olmasından kaynaklanabilecek yüzey inhibisyonuna bağlı olarak oluştuğunu, dolayısıyla nonspesifik bir etki olduğunu düşündürmektedir. Başlar ve ark.⁴; çalışmasında farklı vizkoziteli silikon yağı kullanılarak yapılan deneylerde trombosit agregasyonu inhibisyonu etkinliği açısından niceliksel fark olmaması bu düşüncemizi güçlendirmektedir. Gemmell ve ark.⁸ silikon yüzeylerin trombosit aktivasyonunu in-vitro koşullarda azalttığını göstermişlerdir.

Sonuç olarak; silikon yağının trombosit agregasyonunu in vitro koşullarda azaltıcı etkisi moleküler düzeyde oluşturabileceği etkilerden ziyade, silikon yağının hidrofobik olması nedeniyle oluşturabileceği yüzey inhibisyon etkisinden kaynaklanabilir. Bu olasılık, farklı deneysel modellerde araştırma yapılmasını gerektirmektedir.

KAYNAKLAR

1. Sarı A, Gurelik G, Özdek S, ve ark.: Komplike retina dekolmanında silikon yağı kullanımı: 525 olguda sonuçlar ve komplikasyonlar. Ret-Vit 2004;12:97-102.
2. Scott IU, Flynn HW, Azen SP, et al.: Silicone oil in repair of complex retinal detachment : a prospective, observational, multicenter study. Ophthalmology 1999;106:1399-1407.
3. Nakamura K, Refojo MF, Crabtree DV, et al.: Ocular toxicity of low molecular weight components of silicone and fluorosilicone oils. Invest Ophthalmol Vis Sci 1991;32:3007-3020.
4. Baslar Z, Aras C, Unal M, et al.: In vitro effect of silicone oil and liquid perfluorocarbons on platelet aggregation. Eur J Ophthalmol 2004;14:550-554.
5. Chitre AP, Velaskar DS.: Role of platelets in diabetic microangiopathy-an additional factor. Angiology 1988;34:458-465.
6. Yamagishi S, Edelstein D, Du X, et al.: Hyperglycemia potentiates collagen-induced platelet activation through mitochondrial superoxide overproduction. Diabetes 2001;50:1491-1494.
7. White MC, Jennings LK.: Platelet protocols: research and clinical laboratory procedures Academic Press 1999, London.
8. Gemmell CH, Romirez SM, Yeo EL, et al.: Platelet activation in whole blood by artificial surfaces; identification of platelet derived microparticles and activated platelet binding to leucocytes as material-induced activation events. J Lab Clin Med 1995;125:276-287.