

تاثیر لوواستاتین داخل صفاقی در چسبندگی های پس از عمل جراحی در یک مدل حیوانی

شهریار هاشم زاده: مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، گروه جراحی عمومی و توراکس، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران؛ نویسنده رابط

E-mail: shahriar_90@yahoo.com

خسرو هاشم زاده: گروه جراحی قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
جواد درستی: گروه جراحی عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۸۸/۲/۲۳، پذیرش: ۸۹/۴/۲۵

چکیده

زمینه و اهداف: چسبندگی های داخل شکمی عارضه ای شایع پس از اعمال جراحی شکم هستند. چسبندگی های شکمی پس از جراحی می توانند باعث انسداد روده ای، درد لگن یا نازایی شوند. عوامل مختلفی بطور تجربی و بالینی در جهت کاهش چسبندگی های داخل شکمی مورد آزمایش قرار گرفته اند. اعتقاد بر این است که استاتین ها می توانند در این زمینه نقش داشته باشند. لوواستاتین یک داروی شناخته شده در این گروه می باشد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر لوواستاتین داخل صفاقی بر چسبندگی های داخل شکمی پس از جراحی در موش است.

مواد و روش ها: در یک مدل تجربی کارآزمایی بالینی، ما ۲۰ موش نر با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم را بررسی نمودیم. این موش ها بطور تصادفی به دو گروه ده تایی تقسیم شدند. موش های گروه ۱ (گروه شاهد) تنها ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین ۰/۹٪ داخل صفاقی دریافت کردند، در حالیکه در گروه ۲ محلول لوواستاتین، ۳۰ mg/kg در ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین ۰/۹٪ را بصورت داخل صفاقی استفاده نمودیم. تعداد باندهای فیبروتیک و قدرت آنها و نیز امتیاز چسبندگی بین دو گروه هفت روز پس از لاپاراتومی اولیه مقایسه شد. سطح سرمی اوره، کراتینین، Alanine (AST)، Aspartate transaminase (ALT) transaminase (ALP) و بیلی روبین توتال نیز در انتهای مطالعه اندازه گیری شد.

یافته ها: ۲۰ موش نر بررسی شدند. لوواستاتین داخل صفاقی بطور چشمگیری از نرمال سالین در گروه شاهد تعداد باندهای فیبروز را کاهش داد (۰/۶۰±۰/۵۲ در برابر ۱/۶۰±۰/۵۲، p<۰/۰۰۱). مشابه همین نتایج در مود شدت چسبندگی ها بدست آمد (۰/۲۰±۰/۴۲ در برابر ۱/۵۰±۰/۵۳، p<۰/۰۰۱). در بررسی امتیاز کلی چسبندگی، لوواستاتین مجدداً از نرمال سالین موثرتر بود (۰/۸۰±۰/۷۹ در برابر ۳/۱۰±۰/۸۸، p<۰/۰۰۱). پارامترهای اندازه گیری شده سرمی بجز سطح AST که در گروه مورد بیشتر بود (۲۱۴/۶۰±۳۵/۸۸ در برابر ۱۶۱/۶۰±۲۹/۲۳ میلی گرم در دسی لیتر، p<۰/۰۰۱) در دو گروه تفاوت نداشت.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز داخل صفاقی محلول لوواستاتین با دوز 30mg/kg در ۱۰ سی سی نرمال سالین بطور موثری باعث کاهش تعداد باندهای چسبیده و قدرت چسبندگی داخل شکمی بعد از لاپاراتومی می شود. با این وجود بایستی در نظر داشت که سطح سرمی افزایش یافته AST نیز در گروه مورد مشاهده شد. بنابراین جهت تعیین دوز مؤثر با کمترین میزان عوارض نیازمند انجام مطالعات بعدی هستیم.

کلید واژه ها: لوواستاتین، چسبندگی، موش.

مقدمه

جراحی و ۳٪ لاپاراتومی ها در جراحی عمومی می باشند. عوارض طولانی مدت چسبندگیها شامل انسداد روده باریک، درد مزمن لگنی، نازایی و جراحی مجدد مشکل می باشد. با توجه به شیوع بالای چسبندگی ها، بار سنگین آن بر بیمار و سیستم سلامت

چسبندگیهای داخل شکمی از عوارض جدی بدنبال اعمال جراحی شکم و لگن می باشند که باعث عوارض و مرگ و میر فراوان شده و هزینه های زیادی را بر سیستمهای بهداشتی و درمانی تحمیل می کنند. چسبندگیها علت ۲٪ تمام پذیرشهای

مساوی شاهد و گروه لوواستاتین (هر کدام شامل ۱۰ موش) تقسیم بندی شدند. تمام حیوانات با تجویز کتامین داخل عضلانی (mg/kg ۹۰) بیهوش شده و تحت شرایط استریل با برش میدلاین تحت لاپاراتومی قرار گرفتند. سکوم اکسپوز و سطحی به مساحت یک سانتی متر مربع از سروز سکوم برش داده شده و محل آن بطور ملایم با گاز استریل ساییده گردید. در گروه شاهد ۱۰ سی سی سرم نرمال سالین و در گروه لوواستاتین، mg/kg ۳۰ ماده خالص لوواستاتین حل شده در ۱۰ سی سی سرم نرمال سالین داخل حفره صفاق ریخته شده و برش شکم در دو لایه با سیلک ۴/۰ و نایلون ۴/۰ ترمیم گردید. یک هفته بعد تحت شرایط مذکور دوباره لاپاراتومی انجام شده و طبق طبقه بندی مربوطه تعداد، شدت و امتیاز چسبندگی تعیین گردید:

الف) تعداد باندهای چسبنده:

بدون باند چسبنده (۰)

۱-۳ باند چسبنده (۱)

۴-۷ باند چسبنده (۲)

بالای ۷ باند چسبنده (۳)

ب) شدت باندهای چسبنده و نمره چسبندگی:

شدت نوع

۰ بدون چسبندگی ←

۱ چسبندگیهای نازک (filmy) ←

۲ چسبندگیهای سفت ←

۳ نیاز به دایسکشن شارپ برای آزاد کردن ←

۴ متعدد ←

مشخص است، بنابراین تلاش در جهت جلوگیری از ایجاد و یا حداقل کاهش شدت آن ادامه دارد (۱-۳). علاوه بر تکنیک دقیق جراحی، روشهای متعددی برای جلوگیری از تشکیل چسبندگی مورد استفاده قرار گرفته که شامل استفاده از NSAID (Non-steroidal anti-inflammatory drugs)، عوامل فیبرینولیتیک، آنتی بیوتیکها و ... می باشند که هیچکدام از این روشها کاملاً موثر نبوده اند. تشکیل باند چسبنده با تروما به سطوح صفاقی شروع می شود. یک واکنش التهابی در سطوح صفاقی ایجاد شده و اتصال دو سطح صفاقی به همدیگر باعث ایجاد باندهای فیبرینی شده و در شرایط التهابی و ایسکمی و با انفیلتراسیون سلولهای التهابی و فیبروبلاستها به چسبندگیهای سفت تبدیل می شوند (۴). استاتینها دارای آثار ضدالتهابی، آنتی اکسیدان و فیبرینولیتیک می باشند که ممکن است در پیشگیری از تشکیل چسبندگی مؤثر باشند (۵). هدف مطالعه حاضر اثبات این نکته است که آیا لوواستاتین می تواند در کاهش چسبندگیهای پس از عمل مؤثر باشد؟

مواد و روشها

در یک مطالعه کارآزمایی بالینی در حیوانات، ۲۰ rat نر در دو گروه ۱۰ تایی تقسیم و تحت درمان با محلول لوواستاتین یا نرمال سالین داخل صفاقی قرار گرفتند. مکان انجام پژوهش، مرکز پروس حیوانات آزمایشگاهی و بخش جراحی بیمارستان امام خمینی (ره) شهرستان تبریز می باشد. مدت انجام کل طرح ۱۲ ماه (اردیبهشت ۸۷ لغایت اردیبهشت ۸۸) بود. نمونه مورد مطالعه شامل ۲۰ موش نر با وزن بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بود که بطور تصادفی به دو گروه

جدول شماره ۱: نتایج بررسی های سرمی در انتهای مطالعه در دو گروه مورد و شاهد

P	گروه شاهد		گروه مورد		پارامتر (mg/dl)
	میان	انحراف معیار ± متوسط	میان	انحراف معیار ± متوسط	
۰/۱۶۵	۲۶/۰۰	۲۵/۹۰ ± ۱/۲۰	۲۷/۵۰	۲۷/۲۰ ± ۲/۵۳	اوره
۰/۱۴۳	۰/۶۵	۰/۶۵ ± ۰/۰۴	۰/۶۷	۰/۶۸ ± ۰/۰۵	کراتینین
< ۰/۰۰۱	۱۶۹/۵۰	۱۶۱/۶۰ ± ۲۹/۲۳	۲۰۰	۲۱۴/۶۰ ± ۳۵/۸۸	AST
۰/۴۳۶	۸۷/۵۰	۸۳/۷۰ ± ۸/۲۶	۸۵/۵۰	۸۲/۱۰ ± ۸/۶۶	ALT
۰/۲۴۷	۲۶۶/۵۰	۲۵۷/۹۰ ± ۳۱/۴۹	۲۲۲	۲۳۷/۶۰ ± ۱۱/۶۱	آلکالین فسفاتاز
۰/۹۱۲	۰/۱	۰/۱ ± ۰/۰۱	۰/۱	۰/۱ ± ۰/۰۱	بیلی روبین توتال

AST: Aspartate Aminotransferase

ALT: Alanine Aminotransferase

جدول شماره ۲: میزان و شدت چسبندگی شکمی در انتهای مطالعه در دو گروه مورد و شاهد

P	گروه شاهد		گروه مورد		پارامتر
	میان	انحراف معیار ± متوسط	میان	انحراف معیار ± متوسط	
< ۰/۰۰۱	۱	۱/۶۰ ± ۰/۵۲	۱	۰/۶۰ ± ۰/۵۲	تعداد باند
< ۰/۰۰۱	۱/۵	۱/۵۰ ± ۰/۵۳	۰	۰/۲۰ ± ۰/۴۲	شدت چسبندگی
< ۰/۰۰۱	۳	۳/۱۰ ± ۰/۸۸	۱	۰/۸۰ ± ۰/۷۹	امتیاز چسبندگی

پس از کشتن موش ها از هر مورد ۱۰ سی سی نمونه خون از طریق کاردیوپانکچر جهت انجام آزمایشات روتین نیز اخذ گردید. اطلاعات به دست آمده بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) و نیز فراوانی و درصد بیان شده است. برنامه آماری بکار رفته SPSSTM نسخه ۱۵ است. متغیر های کمی با استفاده از Mann-Whitney U-test مقایسه شدند. در تمامی موارد مورد مطالعه، نتایج در صورت دارا بودن $P \leq 0.05$ از نظر آماری معنی دار شناخته شدند.

نتایج

۲۰ موش صحرایی در دو گروه مورد بررسی قرار گرفتند: گروه مورد (۱۰ موش) تحت تجویز لوو استاتین داخل صفاقی و گروه شاهد (۱۰ موش) تحت تجویز نرمال سالین داخل صفاقی. نتایج بررسی های سری در انتهای مطالعه در دو گروه در جدول شماره ۱ خلاصه و مقایسه شده است. بر این اساس تنها متوسط و میانه AST سرم در گروه مورد بطور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود ($p < 0.001$). میزان و شدت چسبندگی شکمی در انتهای مطالعه در دو گروه در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. بر این اساس متوسط تعداد، شدت و امتیاز چسبندگی در گروه مورد بطور معنی داری کمتر از گروه شاهد بود.

بحث

ما در این مطالعه به بررسی استفاده داخل صفاقی یکی از استاتین ها (لوو استاتین) پس از لاپاراتومی در rat پرداختیم تا اثر احتمالی آن در کاهش چسبندگی های داخل شکمی را بررسی نماییم. نتیجه این بررسی نشان داد که تزریق داخل صفاقی با محلول لوو استاتین (۳۰ mg/kg) لوو استاتین خالص در ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین) یک هفته بعد بطور معنی داری تعداد باندهای چسبنده و قدرت آنها را کاهش می دهد. همچنین نمره چسبندگی نیز در این دسته از موش ها بطور معنی داری کمتر از گروه شاهد بود. ما در این مقایسه از گروه شاهد استفاده نمودیم که در آن تنها از سرم نرمال سالین جهت شستشوی داخل صفاقی استفاده شده بود. در دو مطالعه پیشتر نشان داده شده است که شستشوی داخل صفاقی تنها با استفاده از محلول سرمی نمی تواند در کاهش چسبندگی های داخل شکمی پس از عمل جراحی تاثیر داشته باشد (۶). علت این امر احتمالاً جذب سریع محلول از حفره پریتون و رقیق شدن پروتئین اپسونیک در حفره صفاقی است. تاکنون مطالعات محدودی در زمینه استفاده از استاتین ها جهت جلوگیری از چسبندگی های داخل شکمی پس از جراحی انجام پذیرفته است. Aarons و همکاران در یک مطالعه به بررسی مقایسه ای لوو استاتین و آتورواستاتین در زمینه جلوگیری از کاهش چسبندگی های داخل شکمی پس از جراحی در مدل rat پرداختند. در این مطالعه ۱۰۲ موش صحرایی بطور تصادفی به سه گروه مساوی تقسیم شدند. در یک گروه از لوو استاتین (30mg/kg)

در ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین)، در گروه دوم از آتورواستاتین (30mg/kg) در ۱۰ میلی لیتر نرمال سالین) و در گروه سوم از نرمال سالین جهت شستشوی داخل صفاقی پس از لاپاراتومی استفاده گردید. در روز هفتم پس از عمل مشاهده گردید که میزان چسبندگی های داخل شکمی در گروه لوو استاتین و آتورواستاتین بترتیب ۲۶ و ۵۸ درصد کاهش یافته بود (۷). Kucuk و همکاران در یک مطالعه دیگر، ۳ گروه ۱۰ تایی موش صحرایی را مورد ارزیابی قرار دادند. در این مطالعه در گروه اول از سیمواستاتین با دوز 0/57mg/kg/day استفاده شد که بصورت داخل صفاقی پس از لاپاراتومی و تا ۵ روز بعد ادامه داشت. در گروه دوم همین دوز به همین ترتیب بصورت گاوژ تجویز گردید و در گروه سوم تنها از نرمال سالین داخل صفاقی استفاده شد. در روز ۱۴ پس از لاپاراتومی، متوسط نمره چسبندگی داخل شکمی بترتیب ۱/۴، ۱/۵ و ۲/۹ گزارش گردید که در گروه شاهد بطور معنی داری بیشتر از دو گروه اول بود (۸). همان گونه که ملاحظه می گردد نتایج مطالعه ما در این زمینه همراستا با نتایج دو مطالعه اشاره شده می باشد. تا جایی که بررسی نمودیم، مطالعه مشابه دیگری در این زمینه انجام نگرفته است. بنظر می رسد سه ویژگی عمده استاتین ها در زمینه کاهش شدت چسبندگی داخل شکمی و یا جلوگیری از آن پس از عمل جراحی دخیل باشد که شامل خاصیت ضد التهابی، خاصیت ضد اکسیدانی و خاصیت پره-فیبرولیتیک

می باشد (۱۳-۹). آنچه در این زمینه از اهمیت بیشتری برخوردار است، مورد سوم یعنی تاثیر فیبرولیتیکی می باشد. در بررسی مکانیسم ایجاد چسبندگی، نشان داده شده است که پس از وارد آمدن تروما به صفاق، آگزودای التهابی ایجاد می شود که می تواند دو بافت مجاور را به یکدیگر متصل سازد. در شرایط عادی این فیروز توسط مکانیسم فیبرولیز بدن از بین می رود، ولی در شرایط خاص مانند وجود التهاب و ایسکمی این سیستم دچار ضعف شده و با ارتشاح سلول های التهابی و فیبروبلاست ها به درون باندهای فیروزه، اتصالات موجود محکم تر می گردند (۱۴). Haslinger و همکاران در دو مطالعه مجزا نشان دادند که سیمواستاتین محرک قوی فعالیت فیبرولیتیک در سلول های مزوتلیال انسان هم در شرایط عادی و هم در شرایط التهابی می باشد (۱۳ و ۱۵). این تاثیر فیبرولیتیک استاتینها از طریق افزایش سطوح Tissue plasminogen activator (tPA) و همزمان کاهش PAI-1 و نیز مهار پروتئین R ho صورت می گیرد (۱۶ و ۱۷). Song و همکاران نیز در یک مطالعه نشان دادند که استاتین ها از طریق کاهش PAI-1 Plasminogen inhibitor (PAI-1) در سلول های مزوتلیال مانع فیروز می گردند (۱۸). Ruperez و همکاران نیز این خاصیت ضد فیروزی استاتین ها را مورد تاکید قرار داده اند (۱۹). جالب اینجاست که برخی مطالعات پیشتر نشان داده اند تجویز مستقیم tPA به درون صفاق با ایجاد عوارضی نظیر خونریزی و تاخیر بهبود زخم، تاثیر سودمندی در کاهش یا جلوگیری از چسبندگی

کبدی-کلیوی از طریق بررسی پارامترهای آزمایشگاهی سرم حیوانات در انتهای مطالعه نیز پرداختیم. نتایج این بررسی نشان داد که تفاوتی از نظر فعالیت کلیوی بین دو گروه موش وجود ندارد، ولی سطح سرمی AST بطور معنی داری در گروه مداخله بیشتر از گروه شاهد بود ($214/60 \pm 35/88$ در برابر $161/60 \pm 29/23$ میلی گرم در دسی لیتر، $p < 0/001$).

نتیجه گیری

بنابراین جهت رسیدن به نتایج قطعی در زمینه استفاده از این دسته دارو نیازمند انجام مطالعات بعدی با در نظر گرفتن منحنی دوزاژ و تعیین حداقل دوز موثر دارو می باشیم تا همزمان با کسب نتایج رضایت بخش در جلوگیری از چسبندگی داخل شکمی، در عین حال مانع ایجاد عوارض جانبی نیز شویم.

References

1. Menzies D. Postoperative adhesions: their treatment and relevance in clinical practice. *Ann R Coll Surg Engl* 1993; **75**(3): 147-153.
2. Menzies D, Ellis H. Intestinal obstruction from adhesions--how big is the problem? *Ann R Coll Surg Engl* 1990; **72**(1): 60-63.
3. Sulaiman H, Gabella G, Davis MSC. Presence and distribution of sensory nerve fibers in human peritoneal adhesions. *Ann Surg* 2001; **234**(2): 256-261.
4. Menzies D. Peritoneal adhesions. Incidence, cause, and prevention. *Surg Ann* 1992; **24**(1): 27-45.
5. Di Zerega GS. *Peritoneal Surgery*, 3rd ed. New York, Springer, 2000; PP: 401-417.
6. Gurgan T, Urman B, Yarali H. Adhesion formation and reformation after laparoscopic removal of ovarian endometriomas. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1996; **3**(4): 389-392.
7. Aarons CB, Cohen PA, Gower A, Reed KL, Leeman SE, Stucchi AF, et al. Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) decrease postoperative adhesions by increasing peritoneal fibrinolytic activity. *Ann Surg* 2007; **245**(2): 176-184.
8. Kucuk HF, Kaptanoglu L, Kurt N, Uzun H, Eser M, Bingul S, et al. The role of simvastatin on postoperative peritoneal adhesion formation in an animal model. *Eur Surg Res* 2007; **39**(2): 98-102.
9. Bruni F, Pasqui AL, Pastorelli M. Effect of atorvastatin on different fibrinolysis mechanisms in hypercholesterolemic subjects. *Int J Cardiol* 2004; **95**(2-3): 269-274.
10. Rosenson RS. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 2004; **173**(1): 1-12.
11. Schonbeck U, Libby P. Inflammation, immunity, and HMG-CoA Reductase inhibitors: statins as antiinflammatory agents? *Circulation* 2004; **109** Suppl 1): 18-26.
12. Wolfrum S, Jensen KS, Liao JK. Endothelium-dependent effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23**(5): 729-736.
13. Haslinger B, Goedde MF, Toet KH. Simvastatin increases fibrinolytic activity in human peritoneal mesothelial cells independent of cholesterol lowering. *Kidney Int* 2002; **62**(5): 1611-1619.
14. Ghittoni R, Patrussi L, Pirozzi K. Simvastatin inhibits T-cell activation by selectively impairing the function of Ras superfamily GTPases. *FASEB J* 2005; **19**(6): 605-607.
15. Haslinger B, Kleemann R, Toet KH. Simvastatin suppresses tissue factor expression and increases fibrinolytic activity in tumor necrosis factor-alpha-activated human peritoneal mesothelial cells. *Kidney Int* 2003; **63**(6): 2065-2074.
16. Budzyn K, Marley PD, Sobey CG. Targeting Rho and Rho-kinase in the treatment of cardiovascular disease. *Trends Pharmacol Sci* 2006; **27**(2): 97-104.
17. Schmidt A, Hall A. Guanine nucleotide exchange factors for Rho GTPases: turning on the switch. *Genes Dev* 2002; **16**(13): 1587-1609.
18. Song CY, Kim BC, Lee HS. Lovastatin inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced plasminogen activator inhibitor and transforming growth factor-beta1 expression via a decrease in Ras/extracellular signal-regulated kinase activity in meningeal cells. *Transl Res* 2008; **151**(1): 27-35.
19. Rupérez M, Rodríguez-Díez R, Blanco-Colio LM, Sánchez-López E, Rodríguez-Vita J, Esteban V, et al. HMG-CoA reductase inhibitors decrease angiotensin II-induced vascular fibrosis: role of

- RhoA/ROCK and MAPK pathways. *Hypertension* 2007; **50**(2): 377-383.
20. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dig Surg* 2001; **18**(4): 260 –273.
21. Diamond MP, Decherney AH. Pathogenesis of adhesion formation/ reformation: application to reproductive pelvic surgery. *Microsurgery* 1997; **8**(2): 103–107.
22. DiZerega GS, Rodgers KE. *The Peritoneum*, 1st ed. New York, Springer-Verlag, 1992; PP: 234-237.
23. Van der Wal JB, Jeekel J. The use of statins in postoperative adhesion prevention. *Ann Surg* 2007; **245**(2): 185-186.
24. Tiwari A, Bansal V, Chugh A. Statins and myotoxicity: a therapeutic limitation. *Expert Opin Drug Saf* 2006; **5**(5): 651–666.