

ORAL KONTRASEPTİFLERİN VASKÜLER FİBRİNOLİTİK AKTİVİTEYE ETKİSİ

Dr. Tahir E. PATIROĞLU*

ÖZET : Bu çalışma, oral kontraseptif vererek, damar duvarındaki fibrinolitik aktivite değişikliğini saptamak üzere 60 deney ve 18 kontrol sıçanda yapıldı. Deney gurubuna her gün 2 tablet Ovrall verildi.

Sıçanlar 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. ayların sonunda öldürüldü ve femoral ve mezenter damarlarından hazırlanan kesitlerde fibrinolitik aktivite çalışıldı.

Kontrol gurupta her ileri ayda düzenli azalma, deney gurubunda önce hızlı azalırken femoral vende 4, mezenter vende 3. aydan itibaren nisbeten sabit gidiş izlendi.

Oral kontraseptif verilen sıçanlarda fibrinolitik aktivitedeki düşmenin en azından tromboz riskini artırdığı düşünüldü.

THE EFFECT OF ORAL CONTRACEPTIVES ON VASCULAR FIBRINOLYTIC ACTIVITY

SUMMARY : The effect of oral contraceptives Ovrall on fibrinolytic activity in walls of the femoral and mesentery vessels was investigated in an experimental study on rats. Significantly decreased fibrinolytic activity in the vessel walls was demonstrated. This impaired fibrinolytic activity in the vessel walls, on theoretical grounds at least, would be expected to increase the risk of thrombosis.

KEY WORDS. oral contraceptives, vessel wall, fibrinolytic activity

(*) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Doçenti.

Damar duvarında lokalize plazminojen aktivatörü, tromboza karşı olan fibrinolitik savunma sistemi ile sıkı ilişkilidir. Damar duvarında fibrinolitik aktivitede azalma, idiopatik derin venöz tromboz ve tekrarlayan tromboflebitle birlikte olmaktadır (8).

Plazminojen aktivatörleri plazminojeni plazmine çeviren bir grup ajandır. Pekçok hücrenin lizozomunda ve vasküler endotelde lokalize olur. Endotelial aktivite konsantrasyonu mikrosirkülasyon ve küçük ven endotelinde en fazla iken, geniş venlerde intima ve daha büyük damarlarda adventisya vasa vasorumlarında en fazladır (13, 14, 21, 23, 26).

Oral kontraseptif kullananlarda damar duvarında daha az fibrinolitik aktivite gözlenmiştir. Bu hastalar oral kontraseptifi kesmeler bile, fibrinolitik savunma sistemindeki defektin kısa veya uzun bir süre sonra tromboz meydana getirebileceği ileri sürülmüştür (1, 2, 6). Ancak bugünkü bilgilerimize göre, oral kontraseptif ve tromboembolik hastalık arasındaki ilişki kesin olarak ortaya konmamıştır (4, 5, 7).

Bu çalışmada amaç; insanda kullanılan oral kontraseptiflerin verilerek, damarlarda meydana gelebilecek fibrinolitik aktivite değişikliklerini tayinle, tromboza eğilim olup olmadığını göstermektir.

MATERYAL VE METOD : Çalışmada 90 - 170 gr. ağırlığında, deney başlangıcında ortalama 45 günlük 78 dişi albino sıçan kullanıldı. Çinko kafesler içinde 3 - 5 lik gruplar halinde normal oda ısısı ve neminde tutuldular ve özel sıçan yemi ile beslendiler ve normal musluk suyu verildi.

Kullanılan oral kontraseptif serbest piyasadan temin edilen Wyeth laboratuvarının Ovrall tabletidir. Her tablet 0,5 mg norgestrel ve 0,05 mg etinil estradiol ihtiva eder.

Kullanılan doz, sıçanda oral inhibisyon için yeterli en düşük doz olan 0,1 mg etinil estradiol ihtiva eden iki tablettir (17).

Sıçanlar deney için 6 ayrı guruba ayrıldı. Her grupta 10 de-

ney ve 3 kontrol sıçan bulunuyordu. Her gurup sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 ay sırayla oral kontraseptif aldı. Kontrol guruplarına plasebo olarak nişasta verildi.

Her kafesteki hayvan sayısına uygun dozda, yani her kafes için 6 - 10 tablet oral kontraseptif, her gün toz haline getirilip içme sü-yuna karıştırılarak 50 ml. lik şişelerde verildi ve böylece her bir sıçan deney süresince günde 2 tablet kontraseptif almış oldu (20).

Deney süresi bitiminde, her gruptaki sıçanlar yüksek doz eter anestezisi ile öldürüldü. Hemen her iki femoral ven - arter paketi çevre çizgili kas dokusu ile blok halinde çıkarıldı, ortadan ikiye bölündü. Sonra mezenter damarları çıkarıldı ve Karbondioksit karı ile dondurulup — 20°C'de saklandılar.

Femoral ven - arter paketi ve mezenter damarlarından çalışılan fibrinolitik aktivite yöntemi 1959'da Todd (25) tarafından tanımlanan ve 1972'de Pandolfi (22) tarafından modifiye edilen fibrin - plak yöntemidir. Yöntemin ana prensibi, plazminojen aktivatör aktivitesini muhafaza eden frozen kesitlerinin plazminojenden zengin fibrin plağı ile karşı karşıya getirilmesidir. Aktivitenin olduğu bölgelerde plazminojen plazmine çevrilir ve fibrin sindirilir ve kesit üzerinde veya çevresinde erime alanları ortaya çıkar (1, 9, 10, 14, 24).

Çalışmada kullanılan maddeler :

1. Fibrinojen (bovine, fractione I). Sigma F 4000. pH 7.04 olan fosfat tamponunda % 1'lik solüsyon hazırlandı ve — 20°C'de saklandı.

2. Plazminojen (human). Sigma P 1517. Beş ünitelik şişeler pH 7.74 olan 5 ml. fosfat tamponu ile sulandırıldı ve — 20°'de saklandı.

3. Trombin (Topostatin Roche). 1500 ünite/NIH olan paketler 20 NIH/ml olacak şekilde distile su ile sulandırıldı ve — 20°'de saklandı.

Çalışma için iyice temizlenmiş 7 lam üzerine 8 mikron kalınlığında 2 - 6 kesit alındı. Kesitlerin olduğu sahayı içine alacak şekilde 4x2,5 cm.'lik bir alana 0,01 ml. lik ve her solüsyon için ayrı olacak şekilde pipetler kullanılarak 0,05 ml. fibrinojen, 0,01 ml. plazminojen ve 0,01 ml. trombin konuldu, cam çubukla 10 cm² lik bu alana hızla yayıldı ve böylece 0,07 mm kalınlığında fibrin plâğı elde edilmiş oldu. Bu yayma oda sıcaklığında bir saat kurumaya terkedilip pıhtı oluşumu sağlandı.

Ayrıca alınan iki lamdan birine plazminojen konmadı, diğerine de her üç madde kondu, fakat 80°C'de 45 dakika bekletildi. Böylece dokularda proteaz aktivatörü ve lizokinaza benzer aktivitenin bulunup bulunmadığı araştırıldı.

Her vaka için orijinal teknikte 4 lam alınmasına rağmen vakalarımızda 7 lam olarak daha dikkatli ve gerçeğe daha yakın bulgular elde etmeye yöneldik. Bu 7 lam sırasıyla 0, 5, 10, 20, 30, 45 ve 60 dakika süreyle nemlendirilmiş 37°C'lik etüvde inkübe edildi ve bu sürelerin sonunda % 10 luk formaldehid içinde bir saat tesbit edildi. Sonra asetik asitsiz Harris hematoksilende 3 dakika boyandı, 10 dakika akar suda yıkandı, dereceli alkoller ve ksilolden geçirdikten sonra balsam ile kapatıldı.

Fibrinolitik aktivitenin değerlendirilmesi orijinal teknikte 3 derece üzerinden yapılmasına rağmen, vakalarımızı 5 derece üzerinden yaparak, değerlendirmeyi daha duyarlı hale getirdik. Derecelendirmede kullanılan özellikler ve dereceler :

- Derece 1 : mikroskobik iğne başı kadar lizis,
- Derece 2 : daha geniş ve düzensiz kenarlı lizis,
- Derece 3 : maksimal 3 lizis sahasının birleşmesi,
- Derece 4 : 3'den fazla lizis sahasının birleşmesi,
- Derece 5 : kesitle temastaki bütün fibrinin erimesi.

Her derece için sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 5 puan verildi. Yedi lam için verilen puanların toplamı o örneğin fibrinolitik aktivitesini verdi.

Deney sıçanlarındaki değerlendirme kontrol sıçanlar ile karşılaştırılarak yapıldı.

TABLO I : Femoral ve mezanter venlerde endoteldeki fibrinolitik aktivitelerin toplu ortalama sonuçları (K : Kontrol, n : deney hayvanı sayısı, \bar{X} : ortalama değer, SD : standart sapma, SH : standart hata)

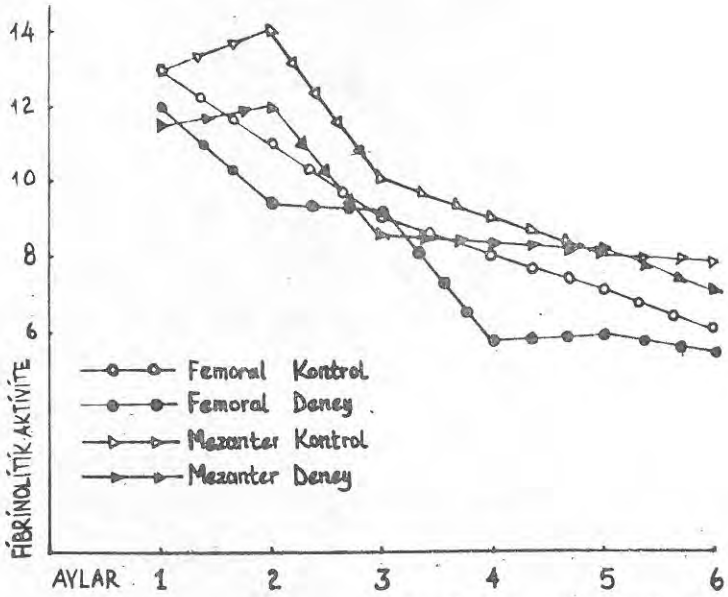
Aylar	n	Femoral ven			n	Mezanter ven		
		\bar{X}	SD	SH		\bar{X}	SD	SH
K - 1	3	13.00	\mp 1.00	\mp 0.57	3	13.00	\mp 1.00	\mp 0.57
1	10	12.00	\mp 3.74	\mp 1.18	10	11.70	\mp 2.45	\mp 0.77
K - 2	3	11.00	\mp 1.73	\mp 0.99	3	14.00	\mp 1.00	\mp 0.57
2	9	9.33	\mp 1.73	\mp 0.57	9	12.00	\mp 2.23	\mp 0.74
K - 3	3	9.00	\mp 1.73	\mp 0.99	3	10.00	\mp 2.00	\mp 1.15
3	10	9.20	\mp 3.82	\mp 1.20	10	8.60	\mp 2.59	\mp 0.81
K - 4	3	8.00	\mp 1.73	\mp 0.99	3	9.00	\mp 2.00	\mp 1.15
4	9	5.66	\mp 1.58	\mp 0.52	9	8.33	\mp 2.12	\mp 0.70
K - 5	3	7.00	\mp 1.00	\mp 0.57	3	8.00	\mp 1.00	\mp 0.57
5	7	5.85	\mp 2.47	\mp 0.93	7	8.14	\mp 1.67	\mp 0.63
K - 6	3	6.00	\mp 2.00	\mp 1.15	3	7.66	\mp 2.08	\mp 1.20
6	8	5.50	\mp 2.13	\mp 0.75	8	7.00	\mp 2.00	\mp 0.70

Femoral ve mezanter ven endotellerindeki fibrinolitik aktivite, artan ayla, sıçanın yaşı arttıkça düzenli bir şekilde düşme göstermektedir. Mezanter venlerindeki değerler femoral ven değerlerinden daha yüksektir. Deney gruplarındaki fibrinolitik aktivite değerleri, bir istisna ile kontrol gruplarından daha düşük bulundu. Deney gruplarındaki fibrinolitik aktivitede düşme femoral vende dördüncü, mezanter venlerinde üçüncü aya kadar hızlı iken, bu aylardan sonra, nisbeten sabit bir gidiş göstermekte, hatta mezanter venlerinde beşinci ayda çok hafif'de olsa, kontrol gurubu değerinin üzerine çıkmaktadır.

BULGULAR : Değerlendirmeler hazırlanan 7 lamda yapıldı. kalan ikisinden plazminojen konmayan ve üzerine her üç madde'de konan ancak 80°C'de 45 dakika bekletilen lamlarda aktivite gözlenmedi ki, dokularda proteaz aktivatörü ve lizokinaza benzer aktivite olmadığını gösterdi.

Fibrinolitik aktivite kontrol ve deney gruplarında femoral ve mezenter ven ve arterlerin endotel ve adventisyalılarında ayrı ayrı değerlendirildi. Değerlendirmede en yüksek erime olan damardaki derecelendirme o vakanın ve zamanın erime derecesi olarak alındı.

Femoral ve mezenter ven endotellerindeki fibrinolitik aktivite bulguları topluca şekil 1'de şematize edildi :



Şekil 1 : Femoral ve mezenter ven endotellerinde fibrinolitik aktivite.

Femoral ve mezenter ven endotellerindeki fibrinolitik aktivite toplu sonuçları Tablo I'de gösterildi.

TARTIŞMA : Trombozis, plazmatik, sellüler ve vasküler faktörlerin önemli rol oynadığı multifaktöryel bir olaydır ve özellikle vasküler faktörleri göstermek güçtür (24). Son senelerde bazı damar endotellerinde fibrinoliz aktivörleri bulunduğu ve kapiller ve venlerde kadavra kanının akıcılığı ve pıhtılaşmadığı, bunun da post-mortem fibrinolyze bağlı olduğu söylendi (1, 13). Mole, vasküler endotelin kadavra kanında fibrinolitik aktivite kaynağı olduğunu ileri sürdü (16). Daha sonra Kwaan ve arkadaşları, insan ve tavşan ven duvarında uygulanan stimulusa bağlı lokal kolinerjik mekanizma ile fibrinolitik aktivite salındığını gözlediler (11). Astrup ve arkadaşları ise arter ve ven adventisyası ile ven intimasında bir plazminojen aktivatörü gösterdiler (3). Todd dokularda küçük ven ve venöz endotelde lokalize olmuş plazminojen aktivatörü buldu (25). Daha sonra doku tamiri sahasında oluşan kapillerin bir organize trombüsün tamirini taklit eder şekilde plazminojen aktivatörü getirdiği gösterildi (12, 13).

Bu aktivatörler devamlı olarak dolaşıma salınır ve kanın spontan fibrinolitik aktivitesini devam ettirir, fibrin birikintilerini alır ve böylece tromboze karşı rol oynar (1, 3, 23, 26). Kan dolaşımına aktivatör salımında bozulma, fibrinolitik sistemde defekt ve damar duvarında düşük fibrinolitik aktivite tromboza zemin hazırlar (1, 8, 9, 21, 23, 26). Çünkü tromboz koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki lokal veya generalize dengesizliğe bağlıdır (8).

Trombüsün fizyolojik eritilmesinde yeterli fibrinolitik sistem gereklidir (9, 10, 18). Dejeneratif vasküler hastalıklı kişilerde trombüs eritmekten sorumlu mekanizma bozulmuştur, bu da vasküler sistemde birikimlerin gelişmesine yol açar (18). Tromboze vende trombüsün tutulma bölgesinde veya tıkaçıcı trombüste ven duvarında fibrinolitik aktivite gösterilmemiştir (13, 21). Bu durum aktivitenin zaten düşük oluşu veya önceden harcandığı şeklinde açıklanmıştır (21).

Oral kontraseptif kullanırken flebografik olarak desteklenen tromboflebitli 31 hastada tedaviden 6 ay - 1 sene sonra yapılan fibrinolitik aktivite araştırmasında, ven duvarında plazminojen aktivatör muhtevasında önemli derecede düşme bulundu ve hastala-

rin % 51,6'sında normal sınırların altında idi (1). Değişik serilerde de oral kontraseptif alanlarda fibrinolitik aktivite seviyeleri normallere oranla daha düşük bulundu (2, 6, 9, 10, 24). Bu durum oral kontraseptif kullananların pek çoğunda fibrinolitik savunma sisteminde mevcut defekti ve hastaların tromboza predispoze olduğunu, oral kontraseptifi kesseler bile az veya çok bir zaman sonra bunlarda Tromboz olayının meydana gelebileceğini desteklemektedir (1, 2, 6).

Vakalarımızda ven endotelinde fibrinolitik aktivite ölçümleri sonucu literatür bilgilerine uygun sonuçlar elde ettik. Kontrol sıçanlarda aktivitede düzenli olarak azalma, cinsel aktif çağda sıçanın yaşı ile oranlı düşmeyi göstermektedir, fakat deney guruplarındakinden daha yüksektir. Deney guruplarında ise, önce hızlı bir düşme varken, sonra nisbeten sabit bir gidiş gösteriyordu, fakat değerler kontrol sıçanlarından daha düşüktü.

Fibrinolitik aktivitedeki düşme oral kontraseptiflerin koagülasyon faktörleri (15, 19) ve damar duvarına etkileri (1, 4, 6) ile topluca düşünüldüğü zaman, oral kontraseptif alımı ile trombüs ve emboli oluşum şansının yüksek olduğunu, en azından fibrinolitik aktivitedeki düşmenin bu vakalarda trombüse predispozisyon yarattığını ve normalde trombüs oluşturmayacak minimal değişikliklerin bu kişilerde tromboemboli oluşturabileceğini göz önünde bulundurmak zorundayız.

KAYNAKLAR

1. Astedt B, Isacson S, Nilsson IM, Pandolfi M : Thrombosis and oral contraceptive : Possible predisposition. Br Med J 4 : 631-634, 1973.
2. Astedt B : New aspect of the thrombogenic effect of oral contraceptives. Am Heart J 90 : 1-3, 1975.
3. Astrup T, Albrechtsen OK, Claassen M, Rasmussen J : Thromboplastic and fibrinolytic activity of the human aorta. Circ Res 7 : 969-973, 1959.
4. Brigs M : Thrombosis : Perspective on a major side effect of oral contraceptives. Med J Aust 2/1 : 30, 1976.
5. Drill VA : Some metabolic actions and possible toxic effect of hormonal contraceptives in animals and man. In Briggs MH, Diczfaliessy E (eds) : Pharmacological Models in Contraceptive Development. WHO, 1974, pp 169-196.
6. Goldziehr JW, Dozier TS; Oral contraceptives and thromboembolizm: a reassessment, Am J Obstet Gynecol 123 : 878-894, 1975.

7. Heyman A, Hurtig H : Clinical complications of oral Contraceptives DM August 1 -34, 1975.
8. Isacson S, Nilsson IM : Defective fibrinolysis in blood and vein walls in recurrent idiopathic venous thrombosis. Acta Chir scand 138 : 313-319, 1972.
9. Kjaeldgaard A, Larsson B : Fibrinolytic activity in plasma and vessel of the hind leg in rats treated with ethinylestradiol and D-norgestrel. Contraception 30 : 169-178, 1984.
10. Kjaeldgaard A, Larsson B : The influence of cigarette smoke and treatment with contraceptive hormones on the fibrinolytic activity in the rat. Thromb Res 36 : 571-578, 1984.
11. Kwaan HC, Lo R, McFadzean A : Production of plasma fibrinolytic activity within veins. Clin Sci 16 : 241, 1957.
12. Kwaan HC, Astrup T : Fibrinolytic activity of reparative connective tissue. J Pathol Bacteriol 87 : 409-414, 1964.
13. Kwaan HC, Astrup T : Fibrinolytic activity in thrombosed veins. Circ Res 17 : 477-483, 1965.
14. Kwaan HC, Astrup T : Demonstration of cellular fibrinolytic activity by the histochemical fibrin slide technique, Lab Invest 17 : 140-145, 1967.
15. Meade TW : Oral contraceptives clotting factors and thrombosis. Am J Obstet Gynecol 142 : 758-761, 1982.
16. Mole RH : Fibrinolysis and the fluidity of the blood postmortem. J Pathol Bacteriol 60 : 413 1948.
17. Neumann F, Elger W : Critical considerations of the biological basis of toxicity studies with steroid (sex) hormones. In platz EJ, Haller J (eds) : Methods in steroid Toxicology. Geron -X Inc, Los Altos, California 1972, pp 10-81.
18. Nilsson IM : Changes in the coagulation and fibrinolytic system predisposing to thrombosis, Acta Chir Scand (Suppl) 387 : 15-23, 1968.
19. Notelovitz M, Levenson I, Mc Kenzie L, et al : The effect of Low - dose oral contraceptives an coagulation and fibrinolysis in two high-risk populations : Young female smokers and older premenopausal women. Am J Obstet Gynecol 152 : 995-1000, 1985.
20. Özkan AU : Kişisel görüşme, 1979.
21. Pandolfi M, Isacson S, Nilsson IM : Low fibrinolytic activity in the walls of veins in patients with thrombosis. Acta Med Scand 186 : 1-5, 1969.
22. Pandolfi M, Bjeustad A, Nilsson İM : Technical remarks on the microscopical demonstration of tissue plasminogen activator. Thromb Diath Haemorr 27 : 88-98, 1972.
23. Robertson B : Thrombosis, thrombolysis and fibrinolysis. Acta Chir Scand (Suppl 1) 421, 1971.
24. Roncaglioni Mc, Minno G, Pangrazzi J, et al : Plasmatic and vascular factors of the hemostatic system in rats receiving an estrogen - progestogen combination. Contraception 22 : 249-257, 1980.
25. Todd AS : Histological localization of fibrinolysin activator. J Pathol Bacteriol 78 : 281, 1959.
26. Wintrobe MM : Clinical Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia 1974, pp 1233-1238.