

DENEYSEL AKUT MEDULLA SPİNALİS TRAVMASINDA DİMETİL SÜLFOKSİT (DMSO)'İN LİPİD PEROKSİDASYONUNA ETKİSİ*

Sabahattin ÖZAKBAŞ^a, Sabahattin ÇOBANOĞLU^b, Murat İMER^c,
Ercan TOMATIR^d, Alpaslan KULALI^b

ÖZET

Bu deneysel çalışma, ağırlığı 1600 - 2400 gm arasında değişen, sağlıklı 20 adet çiftlik tavşanında gerçekleştirildi. Kontrol ve tedavi grubu olmak üzere eşit sayıda bölünen deney hayvanlarında T₇-T₈ seviyesinde Yaşargil anevrizma klibi ile kompresyon modeli medulla spinalis travması oluşturuldu. Travma oluşturulmasının ardından 1. dakikada tedavi grubuna 0.1 gm/kg %10'luk DMSO, kontrol grubuna aynı hacimde serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. Gelişen medulla spinalis travmasında lipid peroksidasyon oluşumu, reaksiyonun son ürünlerinden Malondialdehit (MDA)'in kantitatif olarak hesaplandığı Tiobarbitrik asit (TBA) yöntemi ile belirlendi.

Çalışmanın sonunda ortalama MDA değeri, tedavi grubunda 17610±3166 nmol/gm-doku, kontrol grubunda ise 21430±6227 nmol/gm-doku olarak saptandı. İstatistiksel açıdan iki grubun ortalaması arasında anlamlı bir fark bulunamadı (p:07).

Anahtar Kelimeler: Medulla spinalis travması, Posttravmatik iskemi,
Lipid peroksidasyon, DMSO, Tavşan

SUMMARY

EFFECT OF DIMETHYLSULFOXIDE (DMSO) ON LIPID PEROXIDATION IN EXPERIMENTAL ACUTE SPINAL CORD TRAUMA

This study was done on 20 farm rabbits, weighing from 1600 to 2400 gm. The animals were divided into two groups as treatment and control. The compression model of medulla spinalis trauma at the level of T₇-T₈, was produced by using Yaşargil's aneurysm clip.

Each animal received a single bolus injection of 10% DMSO solution (0.1 gm/kg) in the treatment group and the same amount of serum saline solution in the control group intraperitoneally within first minute after trauma.

* Uzm. Dr., Keşan Devlet Hastanesi, KEŞAN

^b Doç.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, EDİRNE

^c Yrd.Doç.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, EDİRNE

^d Araş. Gör. Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, EDİRNE

* Bu çalışma, 7. Türk Nöroşirürji Kongresinde sözel bildiri olarak sunulmuştur.

The formation of lipid peroxidation during the progression of trauma was determined by using of TBA method which MDA was calculated quantitatively as end-product.

At the end of the study ; average amount of MDA was calculated as 17610 ± 3166 nmol/gm-tissue in the treatment group and 21430 ± 6227 nmol/gr-tissue in the control group. As the result, we could say that there was no significant correlation between two groups statistically.

Key Words : Spinal Cord Injury, Posttraumatic Ischemiae, Lipid peroxidation, DMSO, Rabbit.

GİRİŞ

Gelişen teknoloji iş ve trafik kazalarının hem sayısını hem de ciddiyetini arttırmaktadır. Kazalardaki bu artış, sinir sistemi travmalarındaki artışı da beraberinde getirmektedir. Kafa travmalarına oranla mortalitesi düşük olmakla birlikte, medulla spinalis travmaları; gerek insanı tekerlekli sandalyeye bağımlı kılmakla, gerekse kişiyi, aileyi ve toplumu maddi-manevi olumsuz etkilemekle büyük ve ciddi bir toplumsal sorun olma özelliğini taşırlar. Tedavi ve bakım masrafları ile iş gücü kaybı özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemli bir yük oluşturmaktadır.

Günümüzde hızla gelişme gösteren cerrahi teknik ve tanı yöntemlerine karşın, medulla spinalis travmalı hastaya gerekli tıbbi yardımın yapılamaması, gelişen patolojik sürecin iyi anlaşılmasını ve dolayısıyla etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilememiş olmasına bağlanabilir.

Özellikle 1970'li yıllardan bu yana ikincil mekanizmalardaki faktörlerin ortaya konması birçok farmakolojik gelişmeyi beraberinde getirmiş ve araştırmacıları bu konu üzerinde daha da yoğun çalışmaya itmiştir (1).

Bu çalışmada, deneysel medulla spinalis travması oluşturularak, özellikle son yıllarda deneysel çalışmalarda yoğun olarak kullanılan, ancak insanlarda kullanımı henüz kısıtlı olan (2), bir oksijen radikal temizleyicisi Dimetil Sülfoksit (DMSO)'in lipid peroksidasyonuna etkisi biyokimyasal parametrelerin ışığı altında araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma, ağırlığı 1600-2400 gm arasında değişen, cinsiyet farkı gözetmeksizin, sağlıklı 20 adet çiftlik tavşanında gerçekleştirildi. Deney hayvanları kontrol ve tedavi olmak üzere eşit sayıda iki gruba bölündü.

Cerrahi İşlem: Deney hayvanları, 40 mg/kg Thiopentane Sodium (Pentothal-Abbott) ile intraperitoneal anestezi uygulandıktan sonra prone pozisyonunda tespit edildi. Daha sonra alt servikal bölgeden başlayıp tüm torakal bölgeyi içine alan flep şeklinde cilt - ciltaltı insizyonu yapıldı. Paravertebral adale grubu iki taraflı olarak faset eklemleri dış yanına kadar sıyrıldı. Orta torakal bölgeden alt torakal bölgeye doğru beş seviye laminektomi ve iki yanlı fasetektomi uygulandı. Bu esnada medulla spinalis ve

Tablo I. Kontrol ve tedavi grubunda spektrofotometredeki değer ile nmol MDA/gm-doku değerleri.

Spektrofotometri Değerleri		MDA Değeri (nmol/gm-doku)	
K	T	K	T
0.153	0.117	23900	18200
0.114	0.090	22500	14000
0.152	0.110	23700	17200
0.181	0.119	28200	18700
0.066	0.099	10300	15400
0.160	0.097	25000	15100
0.098	0.095	15300	14800
0.196	0.109	30600	17000
0.112	0.151	17500	22100
0.111	0.142	17300	22100
Ortalama		21430	17610
SD(±)		6227	3166

köklerin anatomik bütünlüğü korundu. Tüm deneklerde, T₇-T₈ seviyesinde kapanma basıncı 110 gm olan düz Yaşargil anevrizma klibinin (Aesculap, FE-710) sagittal planda kompresyonu ile medulla spinalis travması oluşturuldu. Klip 60 saniye süre ile kapalı tutulduktan sonra tüm deneklerde sirküler şekilde subpial hemoraji alanı gözlemlendi.

Travma oluşturulduktan 60 saniye sonra tedavi grubuna 0.1 gm/kg %10'luk DMSO, kontrol grubuna aynı hacimde serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı. Travma sonrası 1. saatte medulla spinalis; travma bölgesi ortada kalacak şekilde dört segment boyunca çıkarılarak MDA tayinine dek enzimatik reaksiyonları durdurmak amacıyla -80 derecede donduruldu.

Histopatolojik değişiklikleri görmek amacıyla aynı bir tavşanda da aynı metod ile medulla spinalis travması oluşturuldu. Travma sonrası 1. saatte medulla spinalis çıkarılarak %10'luk formaldehid içinde tespit edildi. Rutin takip işlemleri sonrasında oluşturulan parafin bloklardan kesitler alınıp Hematoksilen - Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Lipid peroksidasyon düzeyinin tayini için, reaksiyon son ürünlerinden MDA 'in kantitatif olarak hesaplandığı Tiobarbitürik asit (TBA) testi yöntem olarak seçildi (3). Bu amaç ile soğuk zincirde korunan medulla spinalis örnekleri %10 'luk Triklor asetik asit (TCA) içine alındı ve UltraTurrax doku homojenizatöründe 2 dakika süre ile karıştırılıp % 10 'luk homojenat haline getirildi. Bu homojenat, +4 derecede 15 dakika süre ile 3000 devir/dakika 'da santrifüje edildi. Oluşan süzüntüden 1 cc alınarak aynı miktarda TBA ile karıştırıldı. Kaynayan su banyosunda 15 dakika tutulan karışımdan spektrofotometrede (Schimadzu UV - 150 - 02) 532 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri okundu. Bulunan sonuçlar 1.56×10^5 M-1 cm-1 spesifik katsayısının kullanılması ile nmol MDA/gm-doku cinsinden değerlere çevrildi.



Resim I. Gri maddede belirgin küçük kanama alanları ve mikrokavitasyon ile ak maddede ödem görünümü (Hematoksilen-Eosin x 160).

İstatistiksel Analiz: İstatistiksel değerlendirmede denek sayısının 30 'dan az olması nedeniyle Mann-Whitney U testi kullanıldı. p değerinin % 5'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma sonunda kontrol ve tedavi grubuna ait spektrofotometrede okunan değer ile nmol MDA/gm-doku değerleri tablo I'de gösterilmiştir. Tedavi grubundaki 10 tavşanın nmol/gm-doku cinsinden ortalama MDA değeri (17610 ± 3166), kontrol grubuna oranla (21430 ± 6227) daha düşük olmasına karşın, istatistiksel açıdan Mann-Whitney U testi ile değerlendirildiğinde, iki grup ortalaması arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p:0.07$). Histopatolojik incelemede ise; gri maddede belirgin küçük kanama alanları ve mikrokavitasyon ile ak maddede ödem saptandı (Resim-I).

TARTIŞMA

Akut Medulla Spinalis yaralanmasında travmanın mekanik etkisi ile oluşan primer yaralanma dışında, hemen ilk birkaç dakika içinde başlayan ve sonuçta oluşacak klinik tabloyu belirleyen sekonder yaralanmanın önemi anlaşılmıştır. Primer yaralanmayı takiben gelişen en erken bulgu, hücre dışı Ca^{++} 'un hücre içinde birikmeye başlamıştır. Hücre içi Ca^{++} birikmesi birçok mekanizmayı başlatması yanında, ayrıca vasküler düz kas hücrelerinde kontraktibilitiyi artırarak mikrovasküler spazma neden olmakta ve sonuçta medulla spinalis kan akımının azalması ile iskemi süreci başlamaktadır. Diğer taraftan hücre içi Ca^{++} artışı, kalsiyuma bağımlı membran fosfolipaz enzim aktivitesini artırarak araşidonik asit yıkım ürünlerinden özellikle PGF_2 ve TxA_2 nin metaboliti olan TxB_2 seviyesini yükseltmektedir. Bu yıkım ürünleri, neden oldukları vazokonstriksiyon ve trombosit agregasyonu ile iskemi oluşumunu kolaylaştırırlar. Yapılan deneysel çalışmalar, bu süreci engelleyen Ca^{++} kanal blokerleri ve araşidonik asit metabolizması inhibitörlerinin medulla spinalis kan akımını düzelttiğini göstermiştir (4).

Son yıllarda güncel olan serbest oksijen radikalleri de özellikle oluşturdukları lipid peroksidasyonu ile posttravmatik medulla spinalis iskemisinden sorumlu tutulmuşlardır. Gelişen peroksidasyon reaksiyonları sonucu hücre membranının yapısal bütünlüğü bozulur. Bunun sonucunda hücrede ; yüzeyel reseptör fonksiyonları, membrana bağlı enzimlerin aktivitesi, nörotransmitter salınması, ATP ve protein sentezlenmesi ile membran geçirgenliğinde değişkenlik sonucu hücre içi-dışı iyonların dağılımı bozulmaktadır (5,6).

Sekonder yaralanmada, irreversibl myelin ve akson hasarı ile sonuçlanan bu dinamik sürecin, serbest radikal oluşumu ile ilgisi bilinmektedir. Biz çalışmamızda, deneysel medulla spinalis travmasından sonra bir serbest radikal temizleyicisi olan DMSO'in otodestruktif süreci önlemedeki etkinliğinin araştırılmasını amaçladık.

Bilindiği gibi literatürde pek çok deneysel medulla spinalis travma modeli mevcuttur. Bunlardan Rivlin ve Tator 'un tarif ettiği klip ile kompresyon modeli, insanlarda oluşan travma ile benzerlikler göstermesi ve standardizasyonunun kolay olması nedeniyle seçildi (7).

Travma şekli olarak sagittal planda kompresyon, anterior spinal arterin primer yaralanma dışı bırakılması amacıyla uygulandı.

Travma sonrası uygulanan DMSO miktarının literatürde, 1 mg / kg ile 4.5 gm / kg arasındaki dozlarda bildirilmekle birlikte, ilacın doza bağımlı hipotansif etkisi nedeniyle (8) otoregülasyonu bozulmuş medulla spinalisin kan akımını azaltmaktan kaçındığımız için düşük doz vermeyi uygun gördük.

Kullanılan DMSO 'in etkinliğinin objektif ve standart parametreler ile ortaya konulması istendiği için, MDA'in kantitatif hesaplandığı TBA testi yöntem olarak

seçildi. Travma sonrası lipid peroksidasyonu ilk 1 saat içinde başladığı için medulla spinalis örnekleri 1. saat sonunda alındı.

Coles ve arkadaşları (9) aort oklüzyonu sırasında 0.1 gm/kg DMSO uygulamasının kontrol grubuna oranla iskemiye azalttığı ve fonksiyonel düzelmeye sağladığını göstermiştir. Brayton (10) medulla spinalis ve serebral dokunun travmatik ve iskemik lezyonlarında DMSO'nin her zaman yarar sağlamadığını, ilacın uygulama zamanının etkili olduğunu bildirmiştir. Özellikle belirgin doku hasarı olmadan önce verilen DMSO'nin etkili olduğu düşünülmektedir.

Kajihara ve arkadaşları (11), yüksekte ağırlık düşürme modeli ile oluşturdukları deneysel medulla spinalis travmasında 4.5 gm/kg'a ulaşan dozlarda DMSO uygulamasının kontrol grubuna oranla belirgin fonksiyonel düzelmeye sağladığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda DMSO 'in etkisiz kalması birkaç faktöre bağlanabilir. Verilen doz yetersiz olabilir. Denek sayısının az olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınmamış olabilir. İlacın verilmiş anı uygun bir zaman dilimi olmayabilir veya daha az bir olasılıkla, medulla spinalis örnekleri alındığında serbest oksijen radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonu henüz yeterli düzeyde değildir.

Sonuç olarak ; deneysel medulla spinalis travmasında 1. dakikada % 10 'luk 0.1 gm / kg DMSO uygulanmasının lipid peroksidasyonuna etkisi yetersiz bulundu. Ancak yine de DMSO'in;

1-Değişen konsantrasyon ve dozda

2-Travma öncesi ve sonrası değişen zaman dilimlerinde kullanılması.

3-Ve sonuçların biyokimyasal parametreler dışında, histopatolojik ve klinik parametrelerle de desteklenmesi, ilacın fizyopatolojik süreçteki etkinliğinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Collins WF.: *A review and update of experiment and clinical studies of spinal cord injury.* Paraplegia. 21:204-219, 1983.
2. Kulalı A, Akar M, Baykut L: *Dimethyl Sulfoxide in the management of patient with brain swelling and increased intracranial pressure after severe closed head injury.* Neurochirurgia 33(6):177-180, 1990.
3. Özer F, Pamir N, Yalçın AS et al: *The effect of lidocaine on spinal cord lipid peroxide levels in acute spinal cord injury.* Turkish Neurosurgery, suppl 1:3-4, 1989.
4. Hall ED, Wolf DL: *A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanism of posttraumatic spinal cord ischemia.* J Neurosurg 64:951-961, 1986.

5. **Braugler JM, Hall ED:** *Central nervous system trauma and stroke. I. Biochemical considerations for oxygen radical formation and lipid peroxidation.* Review article. *Free Radical Biology & Medicine* 6:289-301, 1989.
6. **Hall ED, Braugler JM:** *Central nervous system trauma and stroke. II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation.* *Free Radical Biology & Medicine* 6:303-313, 1989.
7. **Rivlin AS, Tator CH:** *Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma.* *J Neurosurg* 49:844-853, 1978.
8. **Varma RK, Kaushal R, Thomas GP et al:** *Evaluation of dimethyl sulfoxide as a solvent in pharmacological.* *Indian Journal of Experimental Biology* 25:758-760, 1987.
9. **Coles JC, Ahmed SN, Mehta HU, Kaufmann JCE:** *Role of free radical scavenger in protection of spinal cord during ischemia.* *Ann Thorac Surg.* 41:551-556, 1986.
10. **Brayton CF.:** *Dimethyl sulfoxide (DMSO): A review.* *Cornell Vet.* 76:61-90, 1986.
11. **Kajihara K, Kawanaga H, de la Torre JC, et al:** *Dimethyl Sulfoxide in the treatment of experimental acute spinal cord injury.* *Surg Neurol* 1:16-22, 1973.