

# Reperfüzyon travmasında akut spinal şokun etkisi

(Tavşanlarda deneysel çalışma)

Osman Uğur Çalpur<sup>(1)</sup>, Hakan Gürbüz<sup>(2)</sup>, Erkan Yamak<sup>(2)</sup>, Mahmut Yüksel<sup>(3)</sup>, Gülara Hüseyinova<sup>(4)</sup>, Aydın Akgün<sup>(5)</sup>

Bu deneysel çalışmada akut spinal şokun reperfüzyon travmasındaki etkisi araştırıldı. Reperfüzyon travması tavşanların alt ekstremitelerine turnike uygulaması ile meydana getirildi. Çalışmada sintigrafik, histokimyasal ve ultrastrüktürel yöntemler kullanıldı. Akut spinal şok evresinde reperfüzyon travmasının, dokularda daha ciddi ve geri dönüşümsüz harabiyete yol açtığı gözlemlendi. Akut spinal şok grubunda, serbest oksijen radikallerinin daha yoğun oluşmasının bu sonuca yol açtığı düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Reperfüzyon travması, serbest oksijen radikalleri, malondialdehid, perfüzyon sintigrafisi, ultrastrüktür, akut spinal şok

## The effect of acute spinal shock on the reperfusion trauma (Experimental study in rabbits)

In this experimental study, the effect of acute spinal shock on the reperfusion trauma was investigated. The reperfusion trauma in rabbits was performed by using lower limb tourniquets. In this study, scintigraphic, histochemical and ultrastructural methods were used. It was observed that reperfusion trauma at the acute spinal shock stage causes more serious and irreversible damages. We concluded, that the high concentration of oxygen radicals in acute spinal shock group is responsible for this.

**Keywords:** Reperfusion trauma, free oxygen radicals, malondialdehid, perfusion scintigraphy, ultrastructure, acute spinal shock

Reperfüzyon travması, belli bir süre kansız kalan dokunun yeniden kanlanmasını takiben oluşan, doku için yıkıcı bir dönemdir. Bu dönemde dokularda serbest oksijen radikalleri; hücre ATP stoğunun hipoksantine dönüşmesi, reperfüzyonla ortama oksijenin gelmesi ve iskemiye bağlı proteaz aktivitesinin neticesinde bir dizi reaksiyonlar sonucu meydana gelir (Şekil 1) (4). Bu evrede, hücrenin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozan ana etken serbest oksijen radikalleridir (9, 10, 15, 18).

## Gereç ve Yöntem

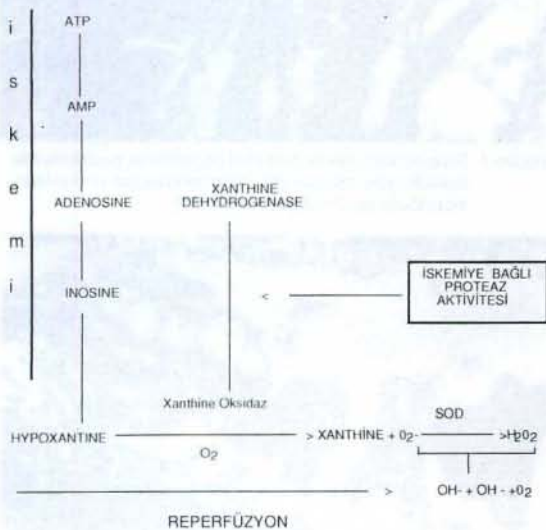
Dörder tavşandan oluşan iki grup denekle çalışıldı. Kontrol grubu nörolojik defisiti olmayan tavşanlardan oluşturuldu. Deney grubu ise, T11-12 seviyesinden meduller kesi yapılarak akut spinal şok oluşturulan tavşanlardan oluşturuldu.

Reperfüzyon travması, tavşanların her iki alt ekstremitelerine ikişer saatlik turnike uygulanması ile meydana getirildi. Turnike çözülmesi ile aynı anda intravenöz Tc-99 MIBI ile alt ekstremiteleri perfüzyon sintigrafileri çekildi (0. dakika sayımı). Sayım işlemi 45. dakikada tekrarlandı. Alt ekstremitelerin sintigrafik sayımının yanı sıra, kıyaslama için kafa sayımları da yapıldı.

45. dakika sintigrafik sayımını takiben M. tibialis anterior kasından alınan doku parçasında indirekt yolla serbest oksijen radikali varlığı araştırıldı.

Serbest oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonu sonucu oluşturduğu malondialdehid, tiyobarbütirik asit lipid peroksidasyonu sonucu oluşturduğu malondialdehid, tiyobarbütirik asit (TBA) yöntemi n.mol/gr cinsinden tespit edildi (3).

Ayrıca tibialis anterior kas doku örneklerinden yapılan ultrastrüktürel incelemelerde; hücrelerdeki hasarın derinliği ve geri dönüşümlülüğü, her iki grup arasında kıyaslanarak incelendi.



Şekil 1: Reperfüzyon travmasında, serbest oksijen radikali oluşumu

(1) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

(2) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

(3) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

(4) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Uzman Doktor

(5) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi

K o n t r o l g r u b u	Denek	Zaman	Ekstremitte perfüzyonları*		Kafa ölçümleri*	Bacak/kafa ortalama oranı		
			sağ	sol		sağ	sol	
1.	Tavşan	0. dk	1227/ 608/2	1687/ 649/ 2	2663 /391/ 6	0.33	0.33	
		45. dk	848/ 679/1	1659/ 543/2	5307 /466 /11	0.09	0.18	
	2.	Tavşan	0. dk	1126/ 309/ 3	528 / 295/1	6469 /472 /13	0.23	0.076
			45. dk	316 / 290/ 1	733 / 349/2	6220 /450 /13	0.076	0.15
3.	Tavşan	0. dk	1348/ 627/ 2	631 /627/1	2785 /455/6	0.33	0.16	
		45. dk	1169/ 546/2	398/ 546/0	6188 /462 /13	0.15	0	
4.	Tavşan	0. dk	1476 /1725 /0	2195/ 1725 /1	6166 /476 /12	0	0.083	
		45. dk	1008/ 976 /1	1796 /1817 /0	5266 /452 /11	0.09	0	
D e n e y g r u b u	Tavşan	0. dk	2882/ 459/6	9665 /515 /18	5273 /614 /8	0.75	2.25	
		45. dk	725 / 392 /1	1681 /347 /4	5133 /534 /9	0.11	0.44	
	2.	Tavşan	0. dk	1508 /113 /14	2678 /481 /5	5284/ 556 /9	1.55	0.55
			45. dk	881 /722 / 1	1879 /722 /2	10158 /636 /15	0.066	0.13
3.	Tavşan	0. dk	9296 /785 /11	14203 /862 /16	2645 /402/6	1.83	2.66	
		45. dk	3198 /778 / 4	4926 864 5	3108 /406 /7	0.57	0.71	
4.	Tavşan	0. dk	9098/ 827 /11	3120418 /7	2600 /514/5	2.2	1.4	
		45. dk	5176/ 1960 /1	5400 /1800 /3	1124 / 311/3	0.33	1	

Tablo 1: Tavşanların perfüzyon sintigrafisi sonuçları  
(\* Sayım/Alan/Ortalama/ (Count/Cell/Average))

	Nörolojik defisiti olmayan *		Akut spinal şok *	
	sağ	sol	sağ	sol
1. Tavşan	9984	7332	16224	15288
2. Tavşan	6708	7644	12168	13728
3. Tavşan	7956	8424	16848	1404
4. Tavşan	7644	8892	13572	1513

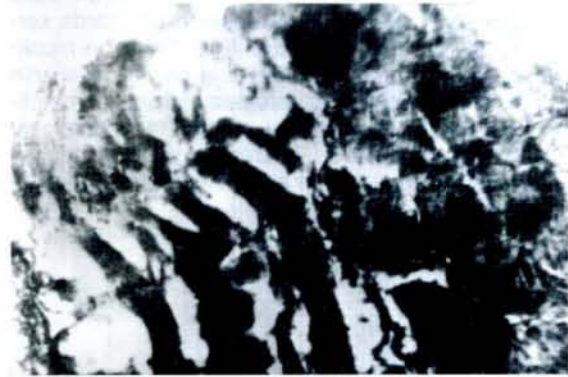
Tablo 2: Malondialdehid miktarları  
(\* nmol/gr cinsinden)

## Bulgular

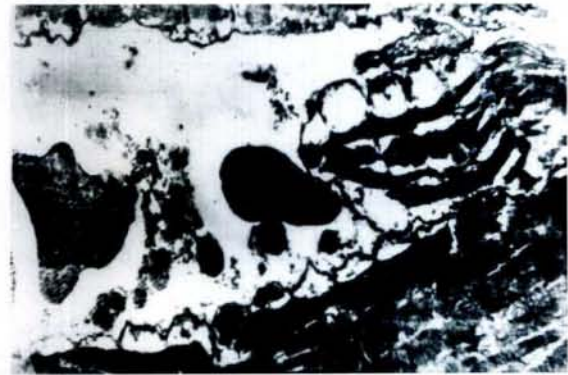
Her iki grubun 0. ve 45. dakika perfüzyon sintigrafisi sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Bacak ve kafa ölçümleri ortalamaları her iki grupta oranlanmıştır. Sonuçlar "Student'in t testi" ile istatistik açıdan kıyaslanmış ve spinal şok grubu lehine anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Spinal şok grubunda, adale perfüzyonunun fazla olduğu tespit edilmiştir.

TBA (Tiyobarbütrik asit) yöntemiyle araştırılan malondialdehid miktarları n.mol/gr cinsinden Tablo 2'de verilmiştir. Sonuçlar Student'in t testi ile kıyaslandığında, spinal şok grubunda malondialdehid miktarının istatistik açıdan anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Bu sonuçlar spinal şok grubunda serbest oksijen radikali varlığının diğer gruba oranla fazla olduğunu bize göstermiştir. Akut spinal şoklu tavşanların tibialis anterior kas dokularının ultrastrüktürel incelemelerinde, myositlerde çok belirgin destrüktif değişiklikler görülmüştür. Bu değişiklikler, myositlerin sitoplazmalarında ve hücreler arasında yaygın ödem ile karakterizedir. Myositlerin sitoplazmalarındaki ödem myofibrilleri disosiyasyon, disklerde parçalanmaya yol açarak kasılma gücünde azalmaya yol açmaktadır. Myositlerin çoğunun dikkati çekecek ölçüde parçalandığı görülmüştür. Sarkosomlar genişlemiş, matrisleri berraklaşmış, kristalleri

destrüksiyona uğramış ve bazılarında kaybolmuştur. Dış mitokondrial membranlarda parçalanma görülmüştür (Resim 1, 2, 3).



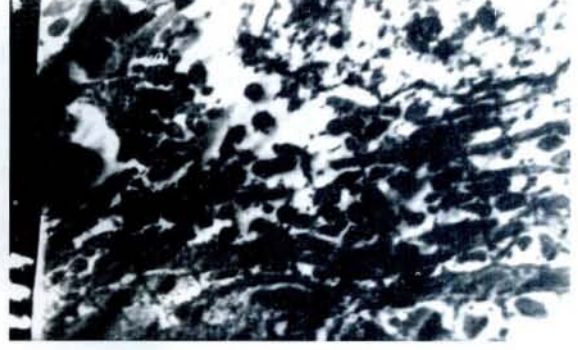
Resim 1: Sitoplazmada derin destrüktif değişiklikler myofibrillerde destrüksiyon, disosiasyon, homojenizasyon ve disklerin bozulduğu görülmektedir (x 10 000)



Resim 2: Myositlerin arasında yaygın ödem ve eritrositlerin toplanması görülmüyor. Sarkolemma bozulmaktadır. (X 10 000)



Resim 3: Sarkoplazmada ödem, mitokondrilerde derin destrüktif değişiklikler. Myofibriller parçalanmış (X 15000)



Resim 4: Myositte iskemi bulguları; çekirdek membranı sağlam, nükleoplazma berraklaşmış, sitoplazma ödemli, myofibrillerde destrüksiyon ve disosiyasyon tespit ediliyor. diskler sağlam, mitokondrilerin homojenizasyonu ve sayısında artış gözleniyor (X5000)



Resim 5: Myositler arasında ödem izlenmektedir. Hücre membranlarının elektron yoğunluğu myofibril homojenizasyonu, disklerin bütünlüğü korunmaktadır (X5000)



Resim 6: Myosit sitoplazmasında ödem, myofibril sayısında artış izlenmektedir (X 1000)

Nörolojik defisiti olmayan tavşanların ultrastrüktürel incelemelerinde myositlerde iskemi bulguları görülmekle beraber; ödemin diğer gruba oranla çok yoğun olmadığı ayrıca myosit sarkolemmalarının daha az etkilenmiş olduğu gözlemlendi (Resim 4, 5, 6).

## Tartışma

Turnike ortopedik cerrahlar tarafından kullanılan yaygın bir yöntemdir. Cerrahın kansız bir ortamda çalışmasına olanak sağlayan bu yöntem, aynı zamanda reperfüzyon travmasına da yol açar. Bu travmanın ana etkeni olan serbest oksijen radikalleri, miktarları oranında dokunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozarlar. Bu ise istenmeyen bir durumdur (7, 8, 9, 10; 11, 15, 17, 18, 20).

Serbest radikaller geniş bir ailedir ve çeşitli yollarla oluşurlar. Bizim için ise serbest radikallerin en önemlisi serbest oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikallerinin en önemli oluşum yolu ise, iskemik dokuların reperfüzyonudur (16).

Serbest oksijen radikalleri iki yöntemle dokularda araştırılır. Bunlardan direkt olarak serbest oksijen radikal tespiti zahmetli ve zordur. Bu nedenle serbest oksijen radikali tespitinde, indirekt bir yöntem olan tiyobarbütürik asit ile malondialdehid araştırılması sıklıkla kullanılmaktadır. Malondialdehid ise serbest oksijen radikalının lipid peroksidasyonu sonucu oluşturduğu hücre içi bir maddedir (3). Biz bu çalışmamızda,

dokularda serbest oksijen radikali varlığını literatür ışığı altında tiyobarbütürik asit yöntemi ile araştırdık.

Serbest oksijen varlığını araştıran çalışmalarda zaman faktörü ile malondialdehid miktarlarındaki değişimler incelenmiştir. Demediuk ve arkadaşları 1985'te (5), Saunders ve arkadaşları 1987'de (19), İzgi ve arkadaşları 1990'da (14) yaptıkları çalışmalarda malondialdehid miktarlarının hem kontrol deney gruplarında 45.-60. dakikada maksimal seviyeye ulaştığını, 120 dakika sonrasında düşüş gösterdiğini saptamışlardır. Bizde çalışmamızda bu bilgileri değerlendirerek 45. dakika deney ve kontrol gruplarında malondialdehid miktarını araştırdık. Amacımız her iki grup arasındaki malondialdehid miktarları açısından ilişkiyi araştırmaktır. Deney grubunda malondialdehid miktarının yüksek olması daha ciddi doku yıkımına yol açacaktır. Malondialdehid miktarının daha sonra düşmesi doku hasarını etkilemediğinden zaman içindeki seyri araştırılmadı, sadece 45. dakika miktarları ile kıyaslama yapıldı.

Serbest oksijen radikalleri membran fosfolipidlerinden araşidonik asit ortaya çıkarır. Araşidonik asitten hücre fonksiyonlarını bozacak prostoglandin ve HETE'ler meydana gelir (2, 6, 12). Serbest oksijen radikalleri hücre membranındaki Na-K ATP'az gibi enzimlerin çalışmasını bozar (15). Ayrıca, protein sentezini ve nükleik asit metabolizmasını da bozarlar (9). Bütün bu yıkıcı faaliyetlere ilaveten serbest oksijen radikalleri, kemotaksik bir etkiyle makrofajları ortama

çekerek, yıkıcı etkiye de yol açar (10). Serbest oksijen radikalleri bütün bu yollarla hücre ölümüne yol açıp; hepatik siroz, radyasyon enteriti ve reflow fenomen gibi çeşitli hastalıkların etyolojisinde rol oynar (3, 9, 13).

Akut spinal şok evresinde vazomotor reflekslerin felci söz konusudur (1). Bu durum ise adale perfüzyonunu artırıcı bir etkidir. Çalışmamızda akut spinal şok evresindeki tavşanların adale perfüzyonlarının arttığını tespit ettik. Bu artış adaleye daha fazla oksijen getirerek, serbest oksijen radikali oluşumunu arttırmıştır. Serbest oksijen radikali aktivitesi spinal şok grubunda daha yüksek bulunmuştur.

Deney grubundaki ultrastrüktürel incelemede, yüksek miktardaki oksijen radikalleri nedeniyle; doku yıkımı daha ciddi ve geri dönüşümsüz olmuştur. Nörolojik defisiti olmayan grupta ise, büyük oranla iske miye bağlı geri dönüşümlü yapısal bozukluklara rastlanmıştır.

## Sonuç

Akut spinal şok evresinde, vazomotor refleks felcine bağlı adale kanlanması artmaktadır. Artan kanlanma daha fazla oksijenin reperfüzyon esnasında dokulara gelmesini sağladığından, akut spinal şoktaki tavşanlarda daha fazla serbest oksijen radikali oluşmuştur. Fazla miktarda oluşan serbest oksijen radikali ise; nörolojik defisiti olmayan tavşanlara göre akut spinal şok grubunda daha ciddi doku harabiyetine yol açmıştır.

## Kaynaklar

1. Ashley, EA., Laskin, LM.: Evidence of autonomic dysreflexia during functional electrical stimulation in individuals with spinal cord injuries. *Paraplegia*. 31: 593-606, 1993.
2. Braugler, JM., Hall, ED.: Central nervous system trauma and stroke. I. Biomechanical consideration for oxygen radical formation and lipid peroxidation. *J. Free Radic Biol Med*. 6: 289-301, 1989.
3. Casini, MF., Ferrali, M., Pompella, A.: Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *AJP* 1123: 3, 520-531, 1986.

4. Cord, JM.: Oxygen derived free radicals in post ischemic tissue injury. *Eng. J. Med*. 312: 159-163, 1985.
5. Demediuk, P., Saunder, RD., Clendenon, NR.: Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Prog. Brain Res*. 63: 211226, 1985.
6. Del Maestro, RF., Björk, J., Artfors, KE.: Increase in microvascular permeability induced by enzymatically generated free radicals. *Microvascular Res*. 22: 255-270, 1981.
7. Ferreira, R., Burgos, Millie, J.: Effect of supplementing cardioplegic solution with deferoxamina on reperfused human myocardium. *J. Thorac Cardiovascular Surg*. 100: 708-714, 1990.
8. Frascerali, M., Oppido, PA., Rocchi, L., Delfini, R.: Chronic damage after spinal trauma in rat; neurophysiological and ultrastructural investigations. *Journal of neurosurgical sciences*. 34: 1, 1-6, 1990.
9. Freeman, BA., Crapo, D.: Biology of disease-free radical tissue injury. *Laboratory investigations*. 47: 412-426, 1982.
10. Fridovich, I.: The biology oxygen radicals. *Science* 201: 875-880, 1978.
11. Gavin, JB., Maxwell, L.: Interrelations of ultrastructure and function in the microvasculature of normal and ischaemic myocardium. *J. Electron Microscop*. 429-438, 1991.
12. Hall, ED., Braugler, JM.: Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *J. Free Radical Biol Med*. 6: 3033-313, 1989.
13. Hills, C.: Ultrastructural changes in the capillary bed of the rat cerebral cortex in anoxic-ischemic brain lesions. *Brit J Exper Path*. 44: 4, 531-550, 1964.
14. Izgi, N., Bozboğa, M., Hamamcioğlu, MK.: The effects of selenium and alfa tocopherol on the free radicals in an experimental model of acute spinal cord injury. *Turkish Neurosurgery*. 1: 119-123, 1990.
15. Kim, MK., Akere, T.: Oxygen free radicals; cause of ischemia reperfusion injury to cardia Na-K ATPase. *The American physiological society*. H: 252-257, 1987.
16. Korhuis, R.: The role of oxygen derivated free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. *Circulation*. 57 (4): 599-609, 1985.
17. Maxwell, L., Gavin, J.: Anti-Oxidant therapy improves microvascular ultrastructure and perfusion in postischaemic myocardium. *Microvase Res*. 43, 255-266, 1992.
18. Pryor, WA.: Oxy-Radicals and related species: Their formation, lifetimes, and reactions. *Ann. Rev. Physiol*. 48: 657-667, 1986.
19. Saunders, RD., Dugan, LL., Demediuk, P.: Effects of methylprednisolone and the combination of alfa tocopherol and selenium on arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation in traumatized spinal cord tissue. *J. Neurochem*. 49, 24-31, 1987.
20. Tsao, PS., Aok, N., Lefer, DJ.: Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation*. 82: 1402-1412, 1990.

## Yazışma adresi:

Doç. Dr. Osman U. Çalpur  
Trakya Üniv. Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı  
Edirne, Türkiye