

# Tavşanlarda Oluşturulan Medulla Spinalis İskemi Reperfüzyon Modelinde Diltiazem, İnsülin Ve C Vitamininin Nöroprotektif Etkileri

THE NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF DILTIAZEM, INSULIN AND VITAMIN C IN A RABBIT MEDULLA SPINALIS ISCHEMIA AND REPERFUSION MODEL

Nagihan DAMAR<sup>1</sup>, Sevda ÖZKARDEŞLER<sup>2</sup>, Uğur KOCA<sup>2</sup>, Ömür MAVİOĞLU<sup>2</sup>, Zahide ELAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

**Amaç:** Bu çalışmada tavşan medulla spinalis iskemi modelinde diltiazem, kristalize insülin ve C vitamininin nöroprotektif etkilerinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve yöntem:** Yeni Zelanda tipi 24 adet beyaz tavşan randomize olarak dört gruba ayrıldı (her grupta n=6). Grup 1'de diltiazem kullanıldı. Grup 2'de diltiazeme ek olarak kan glukoz düzeyini 60-100 mg dl<sup>-1</sup> arasında tutabilecek dozda 2-10 U sa<sup>-1</sup> hızında intravenöz (İV) kristalize insülin infuze edildi. Grup 3'de Grup 2'deki ilaç tedavisine ek olarak iskemi öncesinde 500 mg İV C vitamini uygulandı. Dördüncü Grup'ta herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Otuz dakikalık suprarenal iskemi modeli yaratıldı. İskemi öncesi (bazal değer), iskeminin 5., 15. ve 30. dakikaları ile reperfüzyonun 5. ve 15. dakikasında arteriyel kan örnekleri alınarak kan gazları, potasyum, laktat ve glukoz değerleri çalışıldı. Postoperatif 1., 18. ve 24. saatlerde sağ kalım ve Tarlow skorlama sistemi kullanılarak nörolojik durum değerlendirildi.

**Bulgular:** Zamana bağlı olarak kan pH değerlerindeki azalmanın ve kan laktat değerlerindeki artışın, tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (p<0,05). Grup 1 ve 4'deki kan pH düşüşünün diğer gruplara kıyasla anlamlı olduğu saptandı. Kan laktat düzeyi artışının Grup 4 ile diğer gruplar ve Grup 1 ile Grup 2 ve 3 karşılaştırılınca, anlamlı olduğu saptandı (p<0,05). Yirmi dördüncü saatin sonunda Grup 4'deki tüm hayvanlar paraparezik iken kristalize insülin uygulanan gruplarda herhangi bir nörolojik defisit gelişmediği belirlendi. İlk saatte paraparezik olan diltiazem grubundaki tavşanlarda 24. saatin sonunda parapareziye doğru bir iyileşme olduğu gözlemlendi.

**Sonuç:** Tavşan medulla spinalis iskemi reperfüzyon modelinde, diltiazem ön tedavisi ile sınırlı bir nöroproteksiyon sağlanırken, öntedaviye insülin ve C vitamini eklenmesi ile daha iyi bir nöral korunma sağlanabileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Medulla spinalis korunması, parapleji, diltiazem, kristalize insülin, C vitamini, iskemik hasar

## SUMMARY

**Objective:** The neuroprotective effects of diltiazem, insulin and vitamin C on medulla spinalis ischemia and reperfusion, were investigated.

**Material and method:** Twenty four New Zealand white rabbits were used. Animals were randomly divided into four groups. In Group 1 (n=6), diltiazem was used. In Group 2 (n=6), in addition to diltiazem, regular insulin was infused intravenously at a rate of 2-10 U h<sup>-1</sup> to achieve a blood glucose level between 60-100 mg dl<sup>-1</sup>. In Group 3 (n=6), following the procedure that had been used in Group 2, 500 mg intravenous bolus vitamin C was administered before ischemia. In Group 4 (n=6) no medication was used. Arterial blood

## Sevda ÖZKARDEŞLER

108/27 Sk. No:29 D.2

Doğa Apt.

Esenyalı, İZMİR, 35350

Ev: (232) 2469283

İş: (232) 4122848

GSM: (542) 2435046

Faks: (232) 2590541

e-posta: [s.ozkardes@deu.edu.tr](mailto:s.ozkardes@deu.edu.tr)

Öz: Verilerin bir bölümü XXXVII. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuştur.

gases, potassium, lactate, glucose values were evaluated before the surgical intervention

and 5., 15., 30. minutes following clamping and 5., 15. minutes after unclamping of the aorta. Neurological status was assessed via Tarlow Scoring System at the 1, 18 and 24<sup>th</sup> hours.

**Results:** Significant decrease in blood pH values and increase in blood lactate values were obtained throughout the study in all groups. Decreases in blood pH in groups 1 and 4 were statistically significant compared to group 2 and 3. Increases in blood lactate levels were statistically significant when group 4 was compared with the other groups and when group 1 was compared with either groups 2 or 3 ( $p<0.05$ ). We did not observe any neurological deficit at the end of 24 hours in groups which insulin was used ( $p<0.05$ ). All animals were paraplegic in the group 4. The animals in group 1 were paraplegic at the first hour and they developed paraparesia at the 24<sup>th</sup> hour.

**Conclusion:** We conclude that although diltiazem pretreatment provides some neuroprotective effects against spinal cord ischemia and reperfusion injury, adding insulin and vitamin C to diltiazem pretreatment causes more effective neuroprotection.

**Key words:** Medulla spinalis protection, paraplegia, diltiazem, insulin, vitamin C, ischemic injury

Aort cerrahisinde aortik kross-kelepç uygulanması sırasında paraparezi ve parapleji gibi ciddi nörolojik hasarlar gelişebilmekte ve bu komplikasyonlar kalıcı olabilmektedir. Nörolojik hasar gelişme riskini arttıran en önemli faktörler torasik ve torakoabdominal hastalığın yaygınlığı ve morfolojisi, aortik kross-kelepç uygulama yeri ve süresidir (1-6).

Önceki çalışmalarda, atriyo-femoral by-pass, intratekal magnezyum sülfat uygulaması, major interkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu, serbest radikal temizleyicilerinin kullanımı, sistemik olarak uygulanan kortikosteroidler, sistemik ya da epidural soğutma, barbitüratlar gibi anestezi ajanları iskemiyeye bağlı medulla spinalis disfonksiyonunu önlemeye yönelik olarak kullanılmış koruma yöntemlerinden bazılarıdır (7-12). Ancak, halen bu koruma yöntemlerinin tek başına veya birarada kullanımının nörolojik komplikasyonların gelişmesini önleme konusundaki etkinliği kesin olarak gösterilememiştir. Günümüzde hala medulla spinalis iskemisi sonrası nörolojik hasar gelişme insidansı %4 - 38 arasında değişmektedir (13).

Medulla spinalis hasarı sonrası görülen nöron kaybının asıl mekanizması hakkında bilgilerimiz de kesin değildir (3). Bununla birlikte medulla spinalis iskemisinde üç fizyopatolojik mekanizmanın rol oynadığı ileri sürülmektedir;

- Artmış hücre içi kalsiyum konsantrasyonu,
- Serbest oksijen radikallerinin birikimi,
- Hiperglisemiye bağlı olarak oluşan laktatın hücre dışında birikmesi (3).

Kalsiyum kanal blokerlerinin kullanılması ile hücre içi kalsiyum metabolizmasının değişebileceği; buna bağlı olarak da santral sinir sisteminin hücre içi kalsiyumu azalacağı için iskemiyeye karşı korunacağı ve iskemiyi takiben daha çok hücrenin canlı kalacağı ileri sürülmektedir (10). Hiperglisemi ile ilgili olarak yapılan daha önceki çalışmalarda kan glukoz düzeyindeki düşüklüğün iskemisi sonrasında oluşan laktik asit ve olası diğer metabolik ürünlerin birikimini engellediği, sonuç olarak da medulla spinalis hasarının önlenemediği gösterilmiştir (14-16). C vitamininin ise serbest radikal oluşumunu engelleyerek lipid peroksidasyonunu azaltıp etkili olduğu bildirilmiştir (17-19). Bu çalışmada, tavşan medulla spinalis iskemi reperfüzyon (I/R) modelinde diltiazem, insülin ve C vitamininin kombine kullanımının nöroprotektif etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREK VE YÖNTEM

Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Araştırmaları Etik kurulu onayı alındıktan sonra, 1,5-2,5 kg ağırlığında Yeni Zelanda tipi 24 adet beyaz tavşan kullanılarak gerçekleştirildi. Hayvanlar, randomize olarak eşit deney hayvanı sayılı dört gruba ayrıldılar. Sekiz saatlik açlık sonrası tüm hayvanlara intramusküler (IM) 5 mg kg<sup>-1</sup> xylazin ve im 35 mg kg<sup>-1</sup> ketamin ile anestezi uygulandı. Spontan solunumları korunan tavşanlara çalışma boyunca nazal kanül ile 2 L dk<sup>-1</sup> oksijen verildi. Tavşanların kulak venine 24 gauge (G) kanül yerleştirildi ve 5 ml kg<sup>-1</sup> sa<sup>-1</sup> hızında %0,9 NaCl infüzyonu uygulandı. Kulak arterlerinden birine 24 G kanül yerleştirip bir transdüser aracılığı ile kan basıncı ve kalp atım hızı takipleri yapıldı (Biopac MP 30 model) aynı zamanda ar-

teriyel kan örnekleri alındı. Deneklerde rektal ısı takibi yapıldı ve ısının 38,5 °C civarında sabit tutulması sağlandı. Anestezi altındaki tavşanlar operasyon masasına alındı ve steril şartlar altında orta hattan laparotomi yapılarak abdomen açıldı. Sol böbreğe ulaşıp, sol renal arter eksplore edildi. Sol renal arter rehberliğinde diyafragmanın hemen altından aortaya ulaşıldı. Aortik oklüzyon öncesi tüm tavşanlara 100 U kg<sup>-1</sup> heparin intravenöz (İV) olarak verilerek antikoagülasyon sağlandı. Sol renal arterin abdominal aortadan çıktığı düzeyin hemen üzerine, 30 dakika süreyle kross-klemp uygulandı. 30 dakika sonra klemp kaldırılıp, 15 dakikalık reperfüzyon dönemi beklendikten sonra batin kapatıldı ve hayvanlar, spontan göz açma ve ekstremitelerde hareket çabası başladığında kafeslerine alındı.

Grup 4 (n=6) dışındaki tüm gruplarda iskemisinin hemen öncesinde 0,1 mg kg<sup>-1</sup> İV diltiazem uygulanıp reperfüzyonun ilk 15 dakikasına kadar 2 µg kg<sup>-1</sup> dk<sup>-1</sup> dozunda İV diltiazem infüzyonuna devam edildi. Grup 1 (n=6)'de sadece diltiazem kullanıldı. Grup 2 (n=6)'de diltiazeme ek olarak reperfüzyonun ilk 15. dakikasına dek, kan glukoz düzeyi 60-100 mg dl<sup>-1</sup> arasında olacak şekilde 2-10 U sa<sup>-1</sup> hızında İV kristalize insülin infüzyonu yapıldı. Grup 3 (n=6)'de Grup 2'deki uygulamalara ek olarak iskemiden hemen önce 500 mg İV C vitamini verildi. Grup 4'de herhangi bir ilaç tedavisi uygulanmadı.

Kan gazları, potasyum, laktat ve glukoz analizleri cerrahi işlem öncesi (bazal değer), kross- klempin 5., 15., 30. dakikaları ile reperfüzyonun 5. ve 15. dakikalarında değerlendirildi. Sağ kalım ve Tarlow skalası (14) (0: hiç hareket yok, 1: yavaş hareket, 2: sadece oturabiliyor, 3:

güçsüz zıplıyor, 4: normal zıplıyor) ile nörolojik durum postoperatif 1., 18. ve 24. saatlerde değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirme hem gruplararası hem de grup içinde zamana bağımlı olarak yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede Tarlow skorları için "Mann Whitney U testi" ni takiben Kruskal Wallis testi, diğer parametrelerde tekrarlayan ölçümler için Varyans analizi kullanıldı. Hemodinamik parametreleri ve nörolojik durumu değerlendirmek için korelasyon analizleri yapıldı. p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Gruplar arasında, çalışma süresi boyunca ortalama arter basıncı ve kalp atım hızı ve bazal kan pH değerleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı. Çalışma boyunca parsiyel arteriyel oksijen basıncı (PaO<sub>2</sub>) değerleri gruplar arasında farklı değildi ve deney hayvanlarının hiçbirinde hipoksemi gözlenmedi.

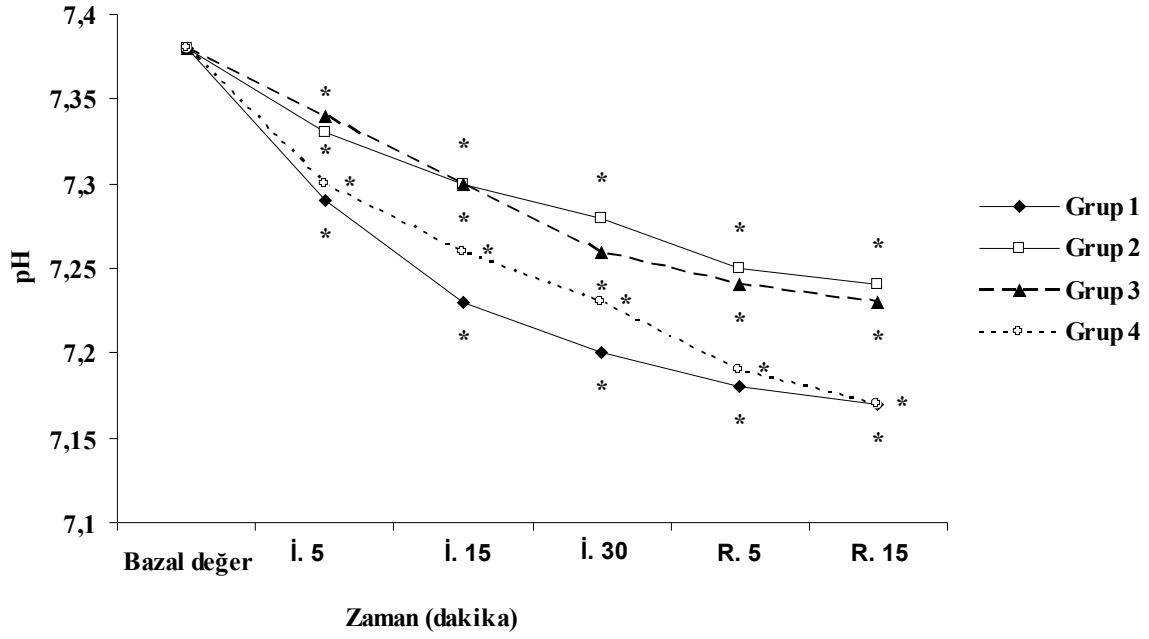
Kan pH değerleri tüm gruplarda zamana bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde azaldı (p<0,05) (Grafik 1). Grup 1 ve 4'deki kan pH düşüşlerinin diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (p<0,05). Grup 1 ve 4 ve Grup 2 ve 3 ikili olarak karşılaştırıldıklarında aralarında kan pH değerleri açısından istatistiksel fark saptanmadı (Tablo I).

Kan laktat düzeyi tüm gruplarda zamana bağlı olarak anlamlı ölçüde arttı (p<0,05) (Grafik 2). Grup 4'deki kan laktat düzeyi artışı diğer gruplara kıyasla anlamlıyken (p<0,05), Grup 1'deki kan laktat düzeyi artışının da Grup 2 ve 3'e kıyasla anlamlı olduğu saptandı (p<0,05). Grup 2 ve 3 arasında ise anlamlı fark saptanmadı (Tablo II).

**Tablo I.** Tavşanların kan pH değerlerinin karşılaştırılması

|        | Bazal       | İskemi (dakika) |              |              | Reperfüzyon (dakika) |              |
|--------|-------------|-----------------|--------------|--------------|----------------------|--------------|
|        |             | 5               | 15           | 30           | 5                    | 15           |
| Grup 1 | 7,38 ± 2,51 | 7,29 ± 2,60*    | 7,23 ± 2,13* | 7,20 ± 1,75* | 7,18 ± 1,63*         | 7,17 ± 2,48* |
| Grup 2 | 7,38 ± 3,97 | 7,33 ± 2,73     | 7,30 ± 2,06  | 7,28 ± 1,89  | 7,25 ± 1,78          | 7,24 ± 1,78  |
| Grup 3 | 7,38 ± 2,28 | 7,34 ± 1,22     | 7,30 ± 1,47  | 7,26 ± 1,70  | 7,24 ± 1,63          | 7,23 ± 1,41  |
| Grup 4 | 7,38 ± 2,51 | 7,30 ± 4,02*    | 7,26 ± 1,71* | 7,23 ± 2,28* | 7,19 ± 1,49*         | 7,17 ± 1,01* |

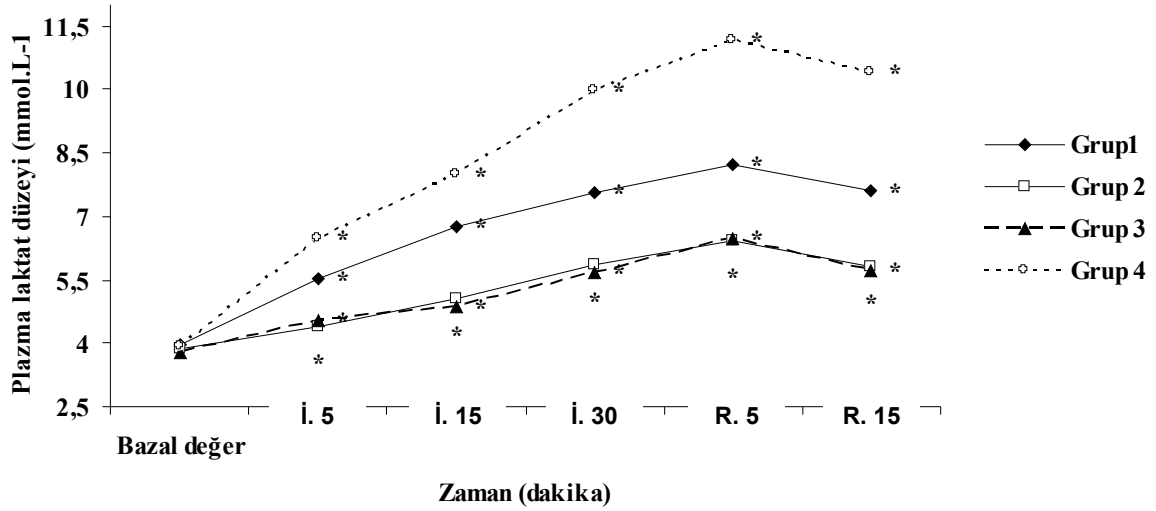
\*p<0,05: Grup 1 ve 4'deki kan pH değerleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında



Grafik 1. Tavşanların kan pH değerlerinde saptanan değişim

İ: İskemi, R: Reperfüzyon

\*p&lt;0,05: Bazal değerle karşılaştırıldığında



Grafik 2. Tavşanların kan laktat düzeylerinde saptanan değişim

İ: İskemi, R: Reperfüzyon

\*p&lt;0,05: Bazal değerle karşılaştırıldığında

**Tablo II.** Tavşanların kan laktat değerlerinin karşılaştırılması (mmol L<sup>-1</sup>)

|        | Bazal       | İskemi (dakika)          |                          |                          | Reperfüzyon (dakika)     |                          |
|--------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|        |             | 5                        | 15                       | 30                       | 5                        | 15                       |
| Grup 1 | 3,97 ± 0,51 | 5,53 ± 0,53 <sup>a</sup> | 6,76 ± 0,78 <sup>a</sup> | 7,58 ± 0,92 <sup>a</sup> | 8,20 ± 0,78 <sup>a</sup> | 7,60 ± 0,80 <sup>a</sup> |
| Grup 2 | 3,86 ± 0,41 | 4,41 ± 0,48              | 5,05 ± 0,60              | 5,85 ± 0,77              | 6,40 ± 0,88              | 5,80 ± 0,83              |
| Grup 3 | 3,78 ± 0,65 | 4,55 ± 0,84              | 4,86 ± 0,88              | 5,68 ± 0,94              | 6,46 ± 0,76              | 5,71 ± 0,97              |
| Grup 4 | 3,93 ± 0,39 | 6,45 ± 0,35*             | 7,96 ± 0,23*             | 9,96 ± 0,70*             | 11,13 ± 1,02*            | 10,38 ± 0,75*            |

\*p<0,05: Grup 4'deki kan laktat değerleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında,

<sup>a</sup>p<0,05: Grup1'deki kan laktat değerleri Grup 2 ve 3'deki kan laktat değerleri ile karşılaştırıldığında

Grup 4'deki serum potasyum düzeyi artışının hem grup içinde zamana bağlı olarak, hem de diğer gruplara kıyasla anlamlı olduğu gözlemlendi (p<0,05) (Tablo III). Grup 1 ve 4'deki kan glikoz düzeyi artışları diğer gruplara kıyasla anlamlı bulundu (p<0,05) (Tablo IV).

Tavşanlara ait Tarlow skorları Grafik 3'de gösterildi. Grup 4'deki tüm tavşanlar postoperatif 1., 18. ve 24. saatte paraplejik idi (Tarlow skoru = 0). Grup 4'deki Tarlow

skorları, diğer gruplara kıyasla, tüm değerlendirme zamanlarında anlamlı olarak düşük bulundu (p<0,05). Grup 1'deki Tarlow skorları, Grup 2 ve 3'e kıyasla, tüm değerlendirme zamanlarında anlamlı ölçüde düşük bulundu (p<0,05). Grup 1,2 ve 3'de postoperatif 18. ve 24. saatlerdeki Tarlow skorlarındaki iyileşme postoperatif 1. saate kıyasla anlamlıydı (p<0,05) (Tablo V). 4 grupta da sağ kalım oranı %100 olarak belirlendi.

**Tablo III.** Tavşanların serum potasyum değişiklikleri (mEq L<sup>-1</sup>)

|        | Bazal       | İskemi (dakika) |              |              | Reperfüzyon (dakika) |              |
|--------|-------------|-----------------|--------------|--------------|----------------------|--------------|
|        |             | 5               | 15           | 30           | 5                    | 15           |
| Grup 1 | 3,11 ± 0,40 | 2,86 ± 0,31     | 3,16 ± 0,35  | 3,51 ± 0,40  | 3,61 ± 0,47          | 3,56 ± 0,44  |
| Grup 2 | 3,26 ± 0,33 | 3,11 ± 0,24     | 3,33 ± 0,29  | 3,35 ± 0,35  | 3,45 ± 0,33          | 3,41 ± 0,37  |
| Grup 3 | 3,26 ± 0,32 | 3,20 ± 0,44     | 3,30 ± 0,26  | 3,40 ± 0,35  | 3,41 ± 0,33          | 3,35 ± 0,36  |
| Grup 4 | 3,08 ± 0,28 | 3,25 ± 0,18*    | 3,68 ± 0,21* | 4,03 ± 0,24* | 4,13 ± 0,24*         | 3,98 ± 0,22* |

\*p<0,05: Grup 4'deki serum K<sup>+</sup> değerleri hem diğer gruplarla hem de bazal değerle karşılaştırıldığında

**Tablo IV.** Tavşanların kan glukoz değerlerinde saptanan değişim (mg dl<sup>-1</sup>)

|        | Bazal         | İskemi (dakika) |                 |                 | Reperfüzyon (dakika) |                 |
|--------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|-----------------|
|        |               | 5               | 15              | 30              | 5                    | 15              |
| Grup 1 | 101,00 ± 5,71 | 134,50 ± 16,50* | 148,00 ± 17,70* | 158,5 ± 20,90*  | 169,30 ± 28,20*      | 166,60 ± 27,30* |
| Grup 2 | 95,50 ± 6,12  | 89,16 ± 8,84    | 86,83 ± 5,15    | 90,00 ± 5,58    | 89,00 ± 6,89         | 85,66 ± 9,66    |
| Grup 3 | 96,83 ± 5,56  | 89,00 ± 9,59    | 84,66 ± 12,70   | 85,33 ± 5,08    | 82,50 ± 13,30        | 84,00 ± 6,75    |
| Grup 4 | 97,29 ± 6,61  | 135,60 ± 15,50* | 146,20 ± 14,10* | 157,80 ± 15,20* | 173,80 ± 25,90*      | 170,80 ± 26,10* |

\*p<0,05: Grup 1 ve 4'deki kan glukoz değerleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında

**Tablo V.** Tavşanların Tarlow skorları

|        | 1. saat                   |                           |                           | 18. saat |          |          | 24. saat |          |          |
|--------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|        | 1. saat                   | 18. saat                  | 24. saat                  | 1. saat  | 18. saat | 24. saat | 1. saat  | 18. saat | 24. saat |
| Grup 1 | 0,33 ± 0,51 <sup>#§</sup> | 1,16 ± 1,16 <sup>#§</sup> | 1,16 ± 1,17 <sup>#§</sup> | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| Grup 2 | 2,66 ± 0,51 <sup>#</sup>  | 3,33 ± 0,81 <sup>#</sup>  | 3,33 ± 0,81 <sup>#</sup>  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| Grup 3 | 2,16 ± 1,17 <sup>#</sup>  | 3,16 ± 0,75 <sup>#</sup>  | 3,33 ± 0,81 <sup>#</sup>  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| Grup 4 | 0                         | 0                         | 0                         | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |

\*p<0,05: 1. saat değerleri ile karşılaştırıldığında

<sup>#</sup> p<0,05: Grup 4 ile karşılaştırıldığında

<sup>§</sup> p<0,05: Grup 2 ile karşılaştırıldığında

<sup>°</sup> p<0,05: Grup 3 ile karşılaştırıldığında

## TARTIŞMA

Yetersiz distal perfüzyon, torakal veya torakoabdominal aort cerrahisinde kross-klemp uygulamasının kaçınılmaz bir sonucudur. Bu tip iskemik bir hasardan böbrekler, karaciğer, barsaklar ve medulla spinalis gibi birçok organ etkilenebilmektedir (17). Bugün için medulla spinaliste hipoksik iskemik hasara yol açan hücrenel ve moleküler mekanizmalar bütünüyle açıklanamasa da, geriye dönüşümsüz hücrenel hasar sürecinin başlamasındaki en kritik olayın kalsiyum iyon homeostazisinin bozulması olduğu kabul edilmektedir (3,10,17). İskemi esnasında intrasellüler kalsiyum hızla çoğalmakta, artan intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu da nörotoksik eksitator aminoasitler olan glutamat ve aspartat salınımına yol açmaktadır. Medulla spinaliste kalsiyum birikiminin 20 dakikayı aşan iskemii sırasında veya sonrasında geliştiği ve bu birikimin geri dönüşümsüz metabolik ve fonksiyonel bozukluklardan sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle iskemii dönemindeki bu hızlı intrasellüler kalsiyum artışı, primer veya koruyucu girişimlerle iyileştirildiğinde kan akımı kritik düzeyin altına düşse bile çok daha fazla hücre canlı kalabilecektir. Bu amaçla çeşitli çalışmalarda birçok kalsiyum kanal blokeri, santral sinir sistemi ve medulla spinalis iskemisine bağlı olarak gelişen nörolojik hasarlara karşı kullanılmıştır (4,20-22). Kalsiyum kanal blokerlerinin kullanıldığı bu geniş serilerde çalışmacılar hipoksik koşullar oluşmadan önce ilacın hücre membranında yeterli konsantrasyona ulaşmış olması gerektiğini; bu nedenle de ilaç uygulamasının zaman ve dozunun önemli olduğunu vurgulamışlardır (22,23). Danielisova ve ark. medulla spinalis iskemisi öncesi 50 mg.kg<sup>-1</sup> dozunda uyguladıkları voltaja duyarlı kalsiyum kanal blokeri KB-2796 ile hipotansiyon oluşmaksızın anlamlı bir metabolik ve nörolojik düzelme tanımlamışlardır (24). Benzer şekilde, yine bir kalsiyum kanal blokeri olan flunarizin iskemii öncesinde uygulanması ile nörolojik durumda bir iyileşme olduğu gösterilmiştir (25). Gelbfish ve ark. ise, bir başka kalsiyum kanal blokeri olan verapamilin medulla spinalis iskemisi sonrası nörolojik düzelmeye olan etkilerini çalıştıkları bir köpek modelinde, uyarılmış somatosensoriyel motor potansiyelleri monitörize etmişlerdir (26). Bu çalışmacılar, intravenöz verapamili medulla spinalis iskemisinden önce ve iskemii sonrası 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 10. saatler ile reperfüzyon dönemi boyunca uygulamışlardır. Çalışmacılar medulla spinalis hasar mekanizmasını önlemek için

verapamilin uygun bir ilaç olduğunu ve iskemii sonrası gelişen nörolojik hasarı iyileştirdiğini göstermişlerdir.

Burns ve ark. yine bir kalsiyum kanal blokeri olan zikonotidin iskemiden 4 ve 24 saat önce intratekal uygulanmasının nöron koruyucu etkilerini araştırmışlardır (23). Çalışmacılar iskemii öncesinde zikonotid uygulayarak gerçekleştirdikleri akut tedavinin reperfüzyonun ilk 4 saatinde geçici bir nörolojik düzelme sağladığını; ancak, bu koruyucu etkinin 24. saate kadar uzamadığını bildirmişlerdir. Schitteck ve ark. tarafından nimodipin kullanılarak yapılan bir başka çalışmada medulla spinalis iskemisi sonrasında parapleji gelişen deneklerin yarısında 18. saatin sonunda parapareziye doğru bir iyileşme olduğu ve 24. saatin sonunda da bu nörolojik tabloda bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir (22).

Biz bu çalışmada, bir kalsiyum kanal blokeri olan diltiazemi hemen iskemii öncesinde intravenöz yolla 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> dozunda uygulayıp devamında 2 µgr.kg<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup> hızındaki infüzyonu iskemii süresince ve reperfüzyonun 15. dakikasına dek sürdürdük. Literatürle uyumlu olarak Grup 1'deki laktat düzeyleri ve Tarlow nörolojik skorlarının Grup 4'e göre anlamlı olarak daha iyi olduğunu; Burns ve ark.'nın çalışma sonuçlarının aksine 1. saatte paraplejik olan deneklerde 18. saatte parapareziye doğru bir iyileşme gözlemlendiğini ve 24. saatte de bu düzelmeye devam ettiğini saptadık (23). Kalsiyum kanal blokerlerini kullanan diğer çalışmacılar biyokimyasal değişiklikler ve nörolojik düzelmeye bu ilaçların plazma konsantrasyonları ile açıklanabileceğini bildirmişlerdir (22,23). Biz bu çalışmada plazma diltiazem konsantrasyonlarını ölçmedik; ama Grup 1'de Grup 4'e göre gerek laktat ve potasyum seviyelerinde, gerekse nörolojik skorlarda saptadığımız düzelme diltiazem tarafından sağlanmış olası bir nöroprotektif etkiye bağlı olabilir.

Tavşanlarda daha önce yapılmış olan medulla spinalis iskemii reperfüzyon modellerinde hipergliseminin nörolojik hasarlanmayı artırdığı gösterilmiştir (14-16). Robertson ve ark. deneysel bir çalışmada kan glukoz düzeyini insülin infüzyonu ile 65 ± 25 mg.dl<sup>-1</sup> (3,5815 ± 1,3775 mmol.L<sup>-1</sup>) düzeyinde tutarak bu değerlerin elektrofizyolojik düzelmeye ve ekstrasellüler laktat konsantrasyonlarına olan etkilerini araştırmışlardır (15). Bu çalışmacılar insülin ile sağlanan bu glukoz değerleri ile elektrofizyolojik derlenmenin anlamlı düzeyde daha iyi olduğunu göstermişler ve

bu durumun özellikle erken reperfüzyon döneminde hipergliseminin önlenmesine bağlı olarak laktik asit üretiminde görülen azalmayla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Hipergliseminin iskemik hasarın mekanizmasındaki rolü kesin olarak açıklanmamış olsa da, bu klinik tabloya hipergliseminin tek başına veya basit ozmotik etkiyle değil, ilişkili metabolik ürünlerin tümüyle, özellikle de dokulardaki laktat birikimi ile yol açtığı ileri sürülmüştür (14). İskemi sonrası oluşan laktik asidozis ve olası diğer metabolik ürünlerin zararlı etkileri, glukozun anaerobik metabolizması tarafından elde edilen ek enerjinin sağladığı yararları aşmaktadır. Araştırmacılar iskemiden önce çok, iskemisi sırasında ve sonrasındaki plazma glukoz düzeylerinin nörolojik skorları etkilediğini ve bu durumun iskemik hasarda etkili ana faktör olduğunu ileri sürmektedirler (14,16). Özellikle reperfüzyon döneminde gözlenen yüksek laktat konsantrasyonlarının kan glukoz düzeyleri ile belirgin bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (15). Erken reperfüzyon döneminde zirveye ulaşan laktat konsantrasyonları olası iki mekanizma ile açıklanmaya çalışılmıştır:

- 1) Sistemik hipotansiyona sekonder olarak oluşan medulla spinalis hipoperfüzyonu;
- 2) İskemiye takiben aerobik metabolizmanın tekrar düzelebilmesi için henüz yeterli zamanın geçmemiş olması.

Çalışmacılar en iyi nörolojik düzelmeyi sağlayacak optimal kan glukoz düzeylerinin, ılımlı hipoglisemi olarak değerlendirdikleri  $3,5815 \pm 1,3775 \text{ mmol L}^{-1}$  arasında olduğunu bildirmişlerdir (15). Bu çalışmanın major limitasyonu tek başına insülin kullanılan grubunun olmamasına rağmen, literatürdeki verilere dayanarak, Grup 2 ve 3'deki düşük kan laktat konsantrasyonlarını ve nörolojik iyiliğin insülin ile hipergliseminin önlenmesine bağlı olabileceği düşünülebilir. Ekstrasellüler potasyum düzeylerindeki artış iskemiyeye bağlı geri dönüşümsüz hasar oluşmuş nöronlardan potasyumun hücre dışına çıkışı ile açıklanmaktadır (3). Çalışmamızda sadece Grup 4'de istatistiksel olarak anlamlı potasyum yüksekliği saptanmıştır. Bu sonuçlar diğer üç grupta kullanılan ilaçların potasyum artışını önlemede etkin olduğunu düşündürmektedir, ancak bu üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Serbest oksijen radikallerine bağlı gelişen lipid peroksidasyonu, "reperfüzyon hasarı" olarak adlandırılan "iskemi sonrası nöron hasarı"nda önemli bir faktör olarak

gösterilmiştir (3,17). Kendi kendini sınırlayabilen lipid peroksidasyonu, nöronal dokuya da sıçrayabilen sirkumferansiyel bir hasarlanmaya yol açabilmekte, mikrodozlaşımın bozulmasıyla birlikte myelin ve aksonlarda da geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmektedir (3,17). Son yıllarda medulla spinalis korunmasında popülaritesi giderek artan bir ilaç olan C vitamini, serbest oksijen radikallerine bağlı olarak gelişen lipid peroksidasyonunu azaltarak etki göstermektedir (18,19). Ueno ve ark. soğuk ringer laktat solüsyonu ile birlikte metil prednizolon ve mannitol uyguladıkları tavşan medulla spinalis iskemisi modelinde, bu ajanlara C vitamini ve E vitamini eklenmesi durumunda, deneklerin hiçbirinde spastik parapleji gelişmediğini, bu yüzden de bu kombinasyonun mükemmel bir koruma sağladığını bildirmişlerdir (19). Tetik ve ark. da benzer bir deneysel modelde bu ilaçları başarı ile kullandıklarını rapor etmişlerdir (18). Son iki çalışmanın da ortak yönü C vitamininin direkt olarak iskemik aortik segmente verilmesidir. Çalışmamızda diltiazem+insülin uygulamasına C vitamininin eklendiği Grup 3'te gerek biyokimyasal verilerde gerekse nörolojik parametrelerde Grup 2'ye kıyasla anlamlı bir farklılığın oluşmadığı saptanırken, Grup 1 ve 4'e göre oluştuğu saptanmıştır. Grup 1 ve 4'e kıyasla Grup 3'deki biyokimyasal ve nörolojik parametrelerdeki iyiliğin sadece C vitaminine mi yoksa sadece insüline mi bağlı olduğu ya da bir sinerjik etkinin sonucu olarak oluşup oluşmadığı, bizim verilerimize göre açık değildir. Fakat, Grup 2 ve 3 arasında istatistiksel farklılık bulunmaması nedeniyle parametrelerdeki iyiliğin altında yatan esas etmenin insülin uygulaması olduğu düşünülebilir. Bu varsayım, medulla spinalis iskemisinde C vitamininin nöroprotektif etkilerine dikkat çeken literatür verileri ile çelişmektedir. Biz literatürden farklı olan bu sonuçların C vitamininin iskemik segmente uygulanmayıp sadece sistemik olarak kullanılmasından kaynaklandığını ve asıl korunmanın belki de bu ilaçların direkt olarak iskemik alana ya da bu alanı besleyen arterlere verilmesiyle sağlanabildiğini düşünmekteyiz. Sonuç olarak, bu çalışmanın verilerine göre; diltiazemin tek başına sınırlı koruma sağladığı; diltiazem uygulaması yanısıra kan glukoz düzeyinin normal sınırlarda tutulmasının daha etkin bir koruma sağladığı kanısındayız. Histopatolojik incelemelerin yapılmaması da çalışmanın sonuçlarını bir miktar sınırlamaktadır. Bu nedenle aynı çalışma protokolünün insülin grubu da oluşturularak, ilaçların kan düzeylerini ve histopatolojik değerlendirmeyi

de içecek şekilde genişletilerek uygulanmasının klinik uygulamalara ışık tutacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. Breckwoldt W, Genco C, Connolly RJ, Cleveland RJ, Diehl JT. Spinal cord protection during aortic occlusion: Efficacy of intrathecal tetracaine. *Ann Thorac Surg*. 1991; 51: 959-963.
2. Erlich M, Knolle E, Ciovica R, et al. Memantine for prevention of spinal cord injury in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117: 285-291.
3. Gelman S. The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. *Anesthesiology* 1995; 82: 1026-1060.
4. Gharagozloo F, Larson J, Dausmann MJ, Neville RF, Gomes MN. Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Chest* 1996; 109: 799-809.
5. Herold JA, Roanoke Va, Kron IL, Langenburg SE, Blackbourne LH, Tribble CG. Complete prevention of postischemic spinal cord injury by means of regional infusion with hypothermic saline and adenosine. *Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 536-542.
6. İlhan A, Koltuksuz U, Özen S, Uz E, Ciralik H, Akyol Ö. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 1999; 16: 458-463.
7. Naslund TC, Hollier LH, Money SR, Facundus EC, Skenderis BS. Protecting the ischemic spinal cord during aortic clamping. *Ann Surg* 1992; May: 409-414.
8. Simpson JI, Eide TR, Schiff GA et al. Intrathecal magnesium sulfate protects the spinal cord from ischemic injury during thoracic aortic cross-clamping. *Anesthesiology* 1994; 81: 1493-1499.
9. Hamilton IN, Hollier LH. Adjunctive therapy for spinal cord protection during thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1998; 10: 35-39.
10. Mauney MC, Blackbourne LH, Langenburg SE, et al. Prevention of spinal cord injury after repair of the thoracic or thoracoabdominal aorta. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 245-252.
11. Qayumi AK, Janusz MT, Jamieson WRE, Lyster DM. Pharmacologic interventions for prevention of spinal cord injury caused by aortic crossclamping. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104:256-261.
12. Rokkas CK, Sundaresan S, Shuman T. Profound systemic hypothermia protects the spinal cord in a primate model of spinal cord ischemia. *Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106:1024-1035.
13. Haan P, Kalkman JC, Jacobs M. Pharmacologic neuroprotection in experimental spinal cord ischemia. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology* 2001; 13: 3-12.
14. Drummond JC, Moore S. The influence of dextrose administration on neurologic outcome after temporary spinal cord ischemia in the rabbit. *Anesthesiology* 1989; 70: 64-70.
15. Robertson CS, Grossman RG. Protection against spinal cord ischemia with insulin induced hypoglycemia. *J Neurosurg* 1987; 67: 739-744.
16. Le May DR, Zelenock GB, and D'Alecy LG. The role of glucose uptake and metabolism in hyperglycemic exacerbation of neurological deficit in the paraplegic rat. *J Neurosurg* 1989; 71: 594-600.
17. Tetik Ö, Gürbüz A. Spinal Kord Korunması. *Journal of Turkish Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2000; 8: 587-592.
18. Tetik Ö, İslamoğlu F, Yağdı T, et al. An intraaortic solution trial to prevent spinal cord injury in a rabbit model. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 22: 175-179.
19. Ueno T, Furukawa K, Katayama Y, Suda H, Itoh T. Spinal cord protection: development of a paraplegia-preventive solution. *Ann Thorac Surg* 1994; 58: 116-120.
20. Brawn K, Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases: Threat and defense. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980; 492: 9-18.
21. Lazdunski LL, Heurteaux C, Vaillant N, Widmann C, Lazdunski M. Riluzole prevents ischemic spinal cord injury caused by aortic crossclamping. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117: 881-889.
22. Schitteck A, Bennink BW, Cooley DA, Langford LA. Spinal cord protection with intravenous nimodipine. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104: 1100-1105.
23. Burns LH, Jin Z, Bowersox SS. The neuroprotective effects of intrathecal administration of the selective N-type calcium channel blocker ziconotide in a rat model of spinal ischemia. *J Vasc Surg* 1999; 30: 334-343.
24. Danielisova V, Chavko M. Comparative effects of the N-Methyl-D-Aspartate antagonist MK-801 and the calcium channel blocker KB-2796 on neurologic and metabolic recovery after spinal cord ischemia. *Experimental Neurology* 1998; 149: 203-208.
25. Johnson SH, Kraimer JM, Graiber GM. Effects of



flunarizine on neurological recovery and spinal cord blood flow in experimental spinal cord ischemia in rabbits. *Stroke* 1993; 24: 1547-1553.

26. Gelbfish JS, Philips T, Rose DM, Wait R, Cunningham JN. Acute spinal cord ischemia: prevention of paraplegia with verapamil. *Circulation* 1986; 74: 15-10.