

Orijinal makale

Medulla Spinalisin İskemi-Reperfüzyon Hasarını Önlemede Kullanılan N-Asetil Sisteinin Alt Ekstremit Motor Fonksiyonlarına Etkisi

Kemalettin ERDEM ¹, Celal YAVUZ ², Ömer ÇAKIR ³

¹ Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, BOLU

² Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

³ Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Amaç: Desenden torasik ve torakoabdominal aortaya yapılan başarılı bir operasyonu takiben spinal kord hasarı ağır ve beklenmedik bir komplikasyondur. Bu komplikasyondan korunmak için çeşitli spinal kord koruma metotları ileri sürülmüş fakat hiç birinde tam bir korunma sağlanamamıştır. Çalışmamızda hastalarda sıklıkla kullanılan N-Asetil Sisteinin (NAS) medulla spinalisin iskemik reperfüzyon hasarından korunması üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metot: Üç eşit gruba ayrılmış her grupta 6 tavşan olan toplam 18 tavşanla yapıldı. Grup I (basit operasyon n=6), anestezi ve laparotomi yapıldı, aortik oklüzyon yapılmadı. Grup II (kontrol grubu n=6), farmakolojik ilaç uygulanmayıp sadece renal arterin altında iliyak bifurkasyonun üzerinden abdominal aortaya 45 dakika aortik kross klemp uygulandı. Grup III (NAS grubu), 50 mg/kg NAS infüzyon şeklinde aortik kross-klemp kaldırılmadan 15 dakika önce başlandı ve dört saat süresince devam edildi. Tüm tavşanların alt ekstremit motor fonksiyonları 48 saat sonra Tarlow skoru ile değerlendirildi.

Bulgular: Basit operasyon grubundaki hiçbir tavşanda parapleji gelişmedi. Kontrol grubundaki tavşanların tamamında parapleji gelişti. NAS grubundaki tavşanların skorlaması: tavşanlardan birinde Tarlow 3, ikisinde Tarlow 2, dört tavşanda Tarlow 4 olarak değerlendirildi. NAS uygulanmasının motor fonksiyonlarda anlamlı düzelmeye neden olduğu saptandı (Tarlow Skoru=3,1±1,3, p= 0.002).

Sonuç: Çalışma spinal kordun iskemik reperfüzyon hasarından korunmasında N-Asetil sisteminin koruyucu etkiye sahip olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Deneyisel spinal kord hasarı; N asetil sistein; reperfüzyon hasarı

ABSTRACT

Effects of N-acetyl cysteine in lower extremity motor function in prevention of ischemia-reperfusion injury

Objective: Spinal cord injuries such as paraplegia and paraparesis are still the most devastating complications of surgery for descending thoracic aortic aneurysm. To prevent these complications recommended a variety of spinal cord protection methods but no one achieved a complete protection. The purpose of this study was to investigate the effect of N-acetylcysteine (NAC) on the protection of the spinal cord ischemic reperfusion injury.

Material and Method: Eighteen rabbits were divided into three equal groups, group I (sham-operated), group II (control), and group III (NAC-50 mg/kg). Spinal cord ischemia was induced by clamping the aorta both below the left renal artery and above the aortic bifurcation. Forty-eight hours postoperatively, the motor function of the lower limbs was evaluated in each animal according to Tarlov Score.

Results: The sham-operated rabbits (group I) showed no neurologic deficit (Score=4). Paraplegia (Score=0) developed in all rabbits in the control group (group II). Administration of 50 mg/kg of NAC (group III) resulted in one rabbit in 2, one rabbit in 3 and other four rabbit 4 Tarlov scores. Application of NAC, showed significant recovery of motor functions (Score= 3.1±1.3, p= 0.002).

Conclusion: Our study demonstrated that NAC has a protective effect in prevention of ischemic reperfusion injury of the spinal cord.

Key Words: Experimental spinal cord injury; N-acetylcysteine; reperfusion injury

GİRİŞ

Spinal kord hasarı, desendan aort disseksiyonu ve anevrizma tamir operasyonlarından sonra gözlenen ağır bir komplikasyondur. Torasik aorta operasyonlarından sonra parapleji insidansı %6 ile %40 arasında değişmektedir^{1,2}.

Bu ağır komplikasyonun sebepleri, operasyon sırasında spinal kordu besleyen damarların harabiyeti, arteriyel akımdaki yetersizlik, distal aortadaki düşük perfüzyon basıncı, uzun cross klemp süresi, serebrospinal sıvıdaki yüksek basınç, intra-operatif proksimal hipertansiyon ve post operatif hipotansiyondur^{3,4}. Spinal kordun korunması amacıyla geçici şantlar yada parsiyel baypas^{3,4}, hipotermi^{5,6}, serebral sıvının drenajı⁷ ve farmakolojik ajanlar (steroidler, serbest oksijen radikallerinin

Yazışma adresi:

Dr. Kemalettin ERDEM
Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Bolu
e-mail: drkemalettincvs@yahoo.com
Yazının geldiği tarih : 06.02.2012
Yayına kabul tarihi : 13.03.2012

oluşumunu engelleyen ilaçlar, vazodilatörler vb)^{8,9} farklı çalışmalarda araştırılmıştır.

Ancak tüm bu çalışmalara rağmen parapleji gelişmesini tam olarak önleyen bir metot ya da cerrahi teknik geliştirilememiştir⁴⁻¹¹.

N-Asetil Sistein'de (NAS) bulunan sistein, hücrelerde antioksidan olarak çalışan glutatyonun (GSH) bir prekürsörüdür. Bir tripeptid olan glutatyon, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve organik peroksitlerin GSH perosidaz etkisi ile indirgenmesinde rol almaktadır. Ayrıca, GSH direkt olarak serbest sülfidril grubu aracılığıyla H_2O_2 , süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH) ve alkoksil radikalleri (RO) ile etkilere girebilmekte böylece hücreyi oksidanların, elektrofilik maddelerin, serbest radikallerin hasarına karşı korumada önemli bir rol üstlenmektedir^{12,13}.

Ayrıca doku içinde GSH konsantrasyonunun düştüğü durumlarda glikolitik enzim olan gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz aktivitesinin ve doku ATP içeriğinin azaldığı gösterilmiş ve GSH'nin hücresel enerji durumunu etkileyebileceği ileri sürülmüştür¹³. Tüm bunlara ek olarak GSH iskemide oluşan serbest oksijen radikallerini yıkarak hücreyi reperfüzyon hasarından korumaktadır¹².

Biz bu çalışmamızda, medulla spinalisin iskemireperfüzyon hasarını önlemede, N-Asetil Sisteinin alt ekstremit motor fonksiyonlarına etkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL VE METOT

Çalışmamız ağırlıkları 2,4 ile 3,5 kg olan on sekiz tane Japon beyaz tavşanla yapıldı. Tavşanlar altışarlı 3 eşit gruba ayrıldı. Anestezi için başlangıçta 50 mg/kg ketamin hidrokloride ve 5 mg/kg xylasine intramüsküler verildi, prosedürü takiben gerektiği durumlarda ilk dozunun yarısı ile anesteziye devam edildi. Tavşanlara spontan solunum muhafaza edilerek 2 ml/dk nasal oksijen verildi. Kulak arteri, kulak veni ve femoral arter kanüle edilerek proksimal ve distal kan basınçları monitörize edildi. Tavşanlar üç eşit gruba ayrıldı. Grup I' de (basit operasyon n=6) anestezi ve laparotomi yapıldı, aortik oklüzyon yapılmadı. Grup II (kontrol grubu n=6) bu gruptaki tavşanlara farmakolojik ilaç uygulanmadı. Bu tavşanlara sadece 45 dakika renal arter altından aortik bifurkasyon üzerinden aortik kross klemp uygulandı. Grup III, bu gruptaki deneklere 50 mg/kg NAS infüzyon şeklinde kulak aortik kross-klemp kaldırılmadan 15 dakika önce kulak veninden başlandı ve dört saat süresince devam edildi. Yapmış olduğumuz bu çalışmada denek olarak tavşan kullandık bunun nedeni ise tavşanlarda spinal kordu besleyen Adamski-ewicz arterinin renal arterlerin distalinden çıkıyor

olmasıydı. Tavşanların vücut ısıları rektuma yerleştirilen bir prob ile kontrol edilerek 38-39 °C olması sağlandı.

Sterilizasyondan sonra medyan laparotomiyle abdomene girildi, sol renal arterin altından aortik bifurkasyona kadar abdominal aortanın ekspozuru sağlandı. Renal arterlerin distalinden ve iliak bifurkasyonun proksimalinden abdominal aorta pediatrik klemp ile kleplendi.

Posteriyör mezenterik arterden retrograd olarak spinal kordun beslenmesi pediatrik klemp ile kleplendi. Her bir tavşana aortik kross klemp öncesi 200 İÜ/kg standart heparin verildi. Aortadaki klemplerin kaldırılmasından sonra abdomen tabakalarına uygun olarak kapatıldı.

Postoperatif 48 saat sonra her bir hayvanın alt ekstremitelerindeki motor fonksiyonları yapılan tedaviler dikkate alınmadan objektif olarak Tarlov skoru ile değerlendirildi.

Tarlov 0: Bu hayvanlarda istemli hareket hiç yok. Spastik parapleji mevcut.

Tarlov I: Arka ayaklarda fark edilebilir hareket mevcut.

Tarlov II: Arka ayaklarda iyi hareket vardır fakat hayvanlar ayakta duramamaktadır. Tarlov III: Ayakta durabilir ve yürüyebilir.

Tarlov IV: Tam düzelme vardır.

Nörolojik skorların istatistiksel analizi non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. Tüm veriler ortalama $\pm$ SD olarak açıklandı.

Gruplar arası ve grup içi ortalama değerler repeated measures ANOVA ve post Hoc Tukey testleri kullanılarak karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ seviyesi anlamlı kabul edildi.

Bu deneysel protokol hayvan bakım ve kullanım komitesi tarafından onaylandı. Tüm deney hayvanlarının insancıl bir şekilde tedavi ve bakımları yapıldı.

BULGULAR

Proksimal ve distal arteriyel basınç ölçümleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Aortaya klemp uygulanan tüm hayvanların kross klemp distalindeki ve proksimalindeki basınç ölçümleri (Grup II-III) arasında istatistiksel anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0,05$ ve $p < 0,001$). Tavşanların tamamı operasyon sonrası 48 saat yaşadı. Alt ekstremit motor fonksiyonları değerlendirilirken tavşanların durumları stabildi. Tavşanların değerlendirme şekilleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Kalp hızı ve kalp ritimlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0,05$). Basit operasyon grubundaki tavşanların hiçbirinde operasyondan sonra 48 saat içinde nörolojik defisit saptanmadı.

Tablo1. Proksimal ve Distal Arteriyel Basınç Ölçümleri (* KR: Kalp Ritmi, OPAB: Ortalama Proksimal Arter Basıncı, ODAB: Ortalama Distal Arter Basıncı)

	Bazal			Oklüzyon			Reperfüzyon		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
KR (atım/dk)	186±6	182±7	184±5	191±4	192±5	193±6	190±6	191±4	192±7
OPAB (mmHg)	53,8±6	54,0±5	54,0±7	54,3±4	66,5±4	68,6±7	54,0±4	54,8±3	53,5±5
ODAB (mmHg)	54,0±4	52,8±6	53,0±3	53,8±4	14,0±4	13,3±6	53,0±6	53,1±5	50,8±4

Tablo 2. Post Operatif 48. Saatte Objektif Olarak Tarlov Skoru ile Değerlendirilmesi

Grup	N-Asetil Sistein	N	Tarlov skor yayılımı					Ortalama±SD
			0	1	2	3	4	
I	NO	6	0	0	0	0	6	4
II	NO	6	6	0	0	0	0	0
III	YES	6	0	0	1	1	4	3,5±0,83

Grup II (kontrol grubu)'deki tüm tavşanlarda ise parapleji gelişti. NAS verilen grupta ise bir tavşan tarlov 2, bir tavşan tarlov 3 ve 4 tavşan tarlov 4 olarak değerlendirildi. Tavşanların tarlov skorlama sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Desendan aort cerrahisi esnasında sık gelişen komplikasyonlardan biri olan spinal kord hasarlanması oranlarını daha makul ve kabul edilebilir bir seviyeye getirmek amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Fakat bu çalışmaların hiçbirinde tam bir korunma sağlanamamıştır¹⁴⁻¹⁵.

Svensson ve ark.¹⁶ domuzlarda intraoperatif olarak hidrojen testi ile spinal kord besleyen arterleri tespit ederek, bu arterlerin korunması sonucunda nörolojik defisit sıklığında azalma olduğunu göstermişlerdir. Papaverin ve kalsiyum kanal blokerlerinin vazodilatasyon yaparak spinal kordun beslenmesini arttırdığı tespit edilmiştir^{17,18}. Ca++ kanal blokerleri hücre duvarını stabilize ederek geri dönüşümsüz hücre ölümünden koruduğu bilinmektedir¹⁷⁻¹⁹.

Anestezik ajanlardan tiyopental sinaptik iletiyi bloke ederek ve vasküler düz kasları gevşeterek hayvan deneylerinde nöroprotektif olduğu gösterilmiştir²⁰. NAS'ın iskemide oluşan serbest oksijen radikallerini yıkarak hücreyi reperfüzyon hasarından koruma özelliğini göz önüne alarak biz de çalışmamızda NAS kullanımını tercih ettik. Bulduğumuz sonuçlar NAS'ın spinal iskemi reperfüzyon hasarında da faydalı olabileceğini göstermektedir.

Kouchoukos kros klemp süresi ile parapleji riskini arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir²¹. Bu nedenle özellikle otuz dakikayı aşan durumlarda farklı ya da kombine stratejilerin kullanılmasının gerektiği ileri sürülmüştür. Biz de

çalışmamızda kros klomp süresini 40 dakika olarak aldık.

Deneyisel ve klinik çalışmalar, proksimal hipertansiyonu tedavi etmek için periferik sistemik vazodilatörlerin kullanılabileceğini göstermiştir²².

Serebral damarların vazodilatasyonu sonucu BOS basıncında daha fazla artış ve bunun sonucunda spinal korddaki perfüzyon gradiyenti azalır²³. Çalışmamızda bunu engellemek amacı ile aortaya kros klemp koyduğumuz bölgenin distal ve proksimalindeki basınçları monitörize ettik. Deneklerimiz arasında önemli bir basınç farkı olmadığını gördük.

Shigeru ve ark.²³ tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada aortayı 40 dakika oklüze etmişler. Hiçbir farmakolojik ajan verilmeyen ve hiçbir koruma metodu uygulamayan grupta tavşanların tamamını Tarlov 0 olarak saptamışlardır. Kross klemp süresi 20 dakika olan grupta ise 6 tavşandan 3 tanesi Tarlov 0, 2 tanesi Tarlov 3, bir tanesi de Tarlov 4 olarak değerlendirilmiştir. Bizim çalışmamızda 40 dakika kross klemp koyduğumuz ve hiçbir farmakolojik ajan vermediğimiz grupta da Tarlov skorlaması 0 olarak değerlendirildi ve bu çalışmayla uyumlu olarak bulundu. Aynı çalışmada fenobarbital 20 mg/kg kullanılması sonucunda 6 denekten dört tanesinde Tarlov 4 bir tanesinde 0, bir tanesinde Tarlov 1 olarak bulmuştur. Bizim çalışmamızda ise NAS grubunda bir tavşan tarlov 2 bir tavşan tarlov 3 ve 4 tavşanda tarlov 4 olarak değerlendirilmiştir²³. Shigeru ve ark.'nın yaptığı fenobarbital çalışması ile karşılaştırıldığında NAS'ın daha etkili olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak spinal kord korumasında NAS kullanımı ile daha iyi bir nörolojik sonuç elde edildiği ve NAS'ın reperfüzyon hasarını azalttığı çalışmamızda saptanmıştır.

REFERANSLAR

1. Livesay JJ, Cooley DA, Ventemiglia RA, Montero CG, Warrian RK, Brown DM, et al. Surgical experience in descending thoracic aneurysmectomy with and without adjuncts to avoid ischemia. *Ann Thorac Surg* 1985;39:37-46.
2. Crawford ES, Crawford JL, Safi HJ, Coselli JS, Hess KR, Brooks B, et al. Thoracoabdominal aortic aneurysms: preoperative and intraoperative factors determining immediate and long-term results of operations in 605 patients. *J Vasc Surg* 1986;3(3):389-404.
3. Chuter T, Greenberg RK. Standardized Off-the-Shelf Components for Multibranched Endovascular Repair of Thoracoabdominal Aortic Aneurysms. *Perspect Vasc Surg Endovasc Ther* 2011;23(3):195-201.
4. Büket S, Yagdi T. *Aort Cerrahisi (Aortic Surgery)*. 1st ed. Istanbul: Yüce reklam; 2003. p. 65-132.
5. Pontius RG, Brockman HI, Hardy EG, Cooley DA, DeBakey ME. The use of hypothermia on the prevention of paraplegia following temporary aortic occlusion: experimental observations. *Surgery* 1954;36:33-8.
6. Tabayashi K, Niihori K, Konno H, Mohri H. Protection from postischemic spinal cord injury by perfusion cooling of the epidural space. *Ann Thorac Surg* 1993;56(3):494-8.
7. McCullough JL, Hollier LH and Nugent M. Paraplegia after thoracic aortic occlusion influence of cerebrospinal fluid drainage. *J Vasc Surg* 1988; 7(1):153-60.
8. Wadoud F, Lindemann EM, Arndt CF, Hetzer R, Borst HG. The arteria radicularis magna anterior as a decisive factor influencing spinal cord damage during aortic occlusion. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1984;88 (1):1-10.
9. Svensson LG, Von Ritter CM, Groeneveld HT, Rickards ES, Hunter SJ, Robinson MF, et al. Cross-clamping of the thoracic aorta influence of aortic shunts, laminectomy, papaverine, calcium channel blocker, allopurinol, and superoxide dismutase on spinal cord blood flow and paraplegia in baboons. *Ann Surg* 1986;204:38-47.
10. McCullough JL, Hollier LH, Nugent M. Paraplegia after thoracic occlusion: Influence of cerebrospinal fluid drainage. *J Vasc Surg* 1988;7 (1):153-60.
11. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annal Rev Biochem* 1983; 52:711-60.
12. Sies H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med* 1999; 27:916-21.
13. Parrino PE, Kron IL, Ross SD, Shockey KS, Fisher MJ, Gaughen JR, et al. Spinal cord protection during aortic cross-clamping using retrograde venous perfusion. *Ann Thorac Surg* 1999;67(1):1589-95.
14. Winnekvist A, Bartoli S, Iliopoulos DC, Hess KR, Miller CC, Safi HJ. Spinal cord protection during aortic cross clamping: Retrograde venous spinal cord perfusion, distal aortic perfusion, and cerebrospinal fluid drainage. *Scand Cardiovasc J* 2002;36:6-10.
15. Svensson LG, Crawford ES, Patel V, McLean TR, Jones JW, DeBakey ME. Spinal oxygenation, blood supply localization, cooling, and function with aortic clamping. *Ann Thorac Surg* 1992;54(1):74-9.
16. Schitteck A, Bennink B, Cooley DA, Langford LA. Spinal cord protection with intravenous nimodipine: a functional and morphologic evaluation. *Journal of Thoracic and Cardiovas Surgery* 1992;104(4):1100-5.
17. Isozaki H, Fujii K, Nomura E, Hara H. Calcium concentration in hepatocytes during liver ischaemia-reperfusion injury and the effects of diltiazem and citrate on perfused rat liver. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:291-7.
18. Kobayashi M, Takeda Y, Taninishi H, Takata K, Aoe H, Morita K. Quantitative evaluation of the neuroprotective effects of thiopental sodium, propofol, and halothane on brain ischemia in the gerbil: effects of the anesthetics on ischemic depolarization and extracellular glutamate concentration. *J Neurosurg Anesthesiol* 2007;19(3):171-8.
19. Kouchoukos NT. Spinal cord ischemic injury: is it preventable? *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 1991;3:323-8.
20. Marini CP, Grubbs PE, Toporoff B, Woloszyn TT, Coons MS, Acinapura AJ, et al. Effect of sodium nitroprusside on spinal cord perfusion and paraplegia during aortic cross-clamping. *Ann Thorac Surg* 1989;47(3): 379-83.
21. Nugent M, Kaye MP, McGoon DC. Effects of nitroprusside on aortic and intraspinal pressures during thoracic aortic cross-clamping. *Anesthesiology* 1984;68:69-73.
22. Kazama S, Miyoshi Y, Nie M, Imai H, Lin ZB, Kurata A, et al. Protection of the spinal cord with pentobarbital and hypothermia. *Ann Thorac Surg* 2001;71(5):1591-5.