

Spinal Kord İskemisi ve Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde İntraaortik Katalaz Kullanımı: Deneysel Çalışma

Gökhan İPEK, Ergun DEMİRİSOY, Harun ARBATLI, Mehmet BALKANAY, Vakur OLGAÇ, Mesut ŞİŞMANOĞLU, Ömer İŞİK, Cevat YAKUT

Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi, İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Onkolojik Patoloji Bilim Dalı, İstanbul

Bu deneysel çalışmada, spinal kordda iskemi ve reperfüzyon hasarını önlemek için intraaortik katalaz verilmesinin etkileri araştırıldı. Spinal kord kan akımının temel kaynağı infrarenal aorta olan Yeni Zelanda türü beyaz tavşanlar kullanıldı. Kontrol grubundaki 8 tavşanda aorta sol renal venin altından ve iliak bifürkasyonun üzerinden 30 dakika süresince herhangi bir koruyucu işlem yapılmaksızın klempe edildi (grup I). Deney grubunda ek olarak aortik oklüzyondan hemen önce ve klempin kaldırılmasından sonra 10.000 U/kg intraaortik katalaz verildi (grup II; n=8). Operasyondan 24 ve 48 saat sonra spinal kord fonksiyonları Tarlov derecelendirmesine göre değerlendirildi. Kontrol grubundaki 8 hayvandan 7'sinde alt ekstremitte parapleji vardı (grade 0). Bir hayvanda hafif eklem hareketleri mevcuttu (grade I). Deney grubundaki hiçbir hayvanda komplet parapleji görülmedi. Bu gruptaki hayvanlardan üçü grade 4, dördü grade 3 ve biri ise grade 2 nörolojik derecede idi. Hayvanlar 48 saat sonra sakrifiye edildi ve histolojik inceleme için spinal kordları çıkarıldı. Sonuç olarak intraaortik katalaz verilmesinin, tavşan modelinde iskemi sonucu gelişebilecek nörolojik hasarı azalttığı görüldü.

GKD Cer Derg 1997;5:83-87

Intraaortic Catalase Administration to Prevent Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury

The effects of intraaortic catalase infusion to prevent spinal cord ischemia-reperfusion injury was investigated in this experimental study. White New Zealand rabbits while New Zealand rabbits were used, whose primary source of blood supply to the spinal cord is the infrarenal used, whose primary source of blood supply is infrarenal aorta. Aorta was clamped below the left renal vein and above the iliac bifurcation for 30 minutes in 8 control rabbits (group I) without any protective measures. Adjunctive intraaortic catalase 10.000 U/kg was given just before aortic occlusion and after releasing the clamp in the experimental group (group II; n=8). Spinal cord function was assessed 24 and 48 hours after the operation according to Tarlov scale. Seven of the animals in the control group had complete lower extremity paraplegia (grade 0). One animal had slight joint movements (grade 1). No complete paraplegia was observed in the experimental group. Three animals were in grade 4, four animals were in grade 3, and one animal was in grade 2 neurological status. Animals were sacrificed and spinal cords were harvested after 48 hours for histologic examination. In conclusion, the administration of intraaortic catalase reduced the neurologic injury secondary to spinal cord ischemia in the rabbit model.

Torasik ve torakoabdominal aorta cerrahisi sırasında spinal iskemiye bağlı olarak oluşan parapleji ciddi bir komplikasyon olmaya devam etmektedir. Hastalığın yaygınlığına ve morfolojisine, operasyon endikasyonuna, hastanın yaşına, kros-klemp süresine ve rekonstrüksiyon tipine bildirilen nörolojik komplikasyon oranları % 6.5 ile % 40 arasında değişmektedir.^(1,2) İskemiye bağlı olarak gelişen spinal kord hasarının önlemek amacıyla yapılan çok sayıda deneysel ve klinik çalışma neticesinde

birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir.⁽³⁾ Uygulanan koruyucu metodlara örnek olarak; aortik şantlar⁽¹⁾, serebrospinal sıvının tek başına⁽⁴⁾ veya diğer metotlarla kombine edilmesi⁽⁵⁻⁷⁾ kalsiyum kanal blokerleri⁽⁸⁾ ve diğer çeşitli farmakolojik ajanların direkt intratekal⁽⁹⁻¹²⁾ veya intravenöz verilmesi olarak sayılabilir.^(7,13,14) Spinal kordda oluşan doku hasarının mekanizması ve olası girişimsel tedaviler sınırlı kalmıştır.

Günümüzde çeşitli organlarda iskemi-perfüzyon hasarının gelişiminde serbest oksijen radikallerinin primer rolü oynadığı artık kabul edilmektedir.

Materyal ve Metod

Bu çalışma İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında yapıldı. Denek olarak 2750 gr-3600 gr arası değişen aralıkta Yeni Zelanda türü 16 adet erkek tavşan kullanıldı. Çalışma sırasında Helsinki Deklerasyonu'nun deney hayvanları ile ilgili maddelerine uyuldu. Denekler iki gruba ayrıldı.

Grup I (kontrol grubu): 8 adet Yeni Zelanda türü erkek tavşanın abdominal aortası, renal venin hemen altından ve iliak bifürkasyonun hemen üzerinden 30 dakika süre ile klempe edildi. Bu gruptaki tavşanlara herhangi bir koruyucu metod uygulanamadı.

Grup II (deney grubu): 8 adet tavşanın abdominal aortası aynı yerlerden döndükten sonra önce distalden klempe edilerek proksimal abdominal aortadan 10.000 U/kg katalaz infüze edildi. Daha sonra proksimale de klempe konularak 30 dakika beklendi. 30. dakika sonunda proksimal klempe açılarak aynı dozda katalaz tekrar verildi ve distal klempe açıldı.

Cerrahi Teknik

Tüm deneklerde anestezi ketamin HCl 40 mg/kg ve fentanil 0.02 mg/kg kombinasyonunun intramusküler olarak verilmesiyle başlatıldı. Anestezinin devamı aynı kombinasyonun 50 ml % 0.9 NaCl solüsyonu içinde intravenöz infüzyon tarzında verilmesi ile sağlandı. Batın traş edildikten ve antiseptik solüsyon ile silindikten sonra steril koşullarda median laparotomi yapıldı. Barsaklar sağa devriye edilerek dışarı alındı. Retroperitonyum açılarak abdominal aorta renal venin altından ve iliak bifürkasyonun üstünden döndü. 150 U/kg IV heparin ile

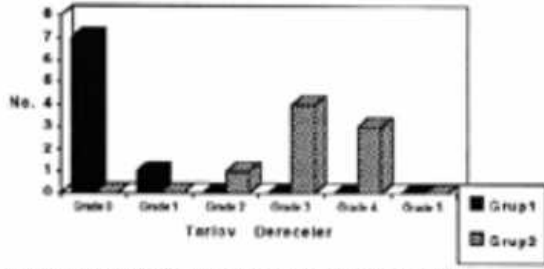
antikoagülasyon sağlandı. Deney grubunda önce distal klempe konularak 10.000 U/kg katalaz, proksimal abdominal aortadan 3 dakika içinde infüze edildi. İğne deliği 8/0 polipropilen ile onarıldı. Hücre içi bir enzim olan katalazın bu şekilde verilmesiyle sistemik verilmeye oranla daha yüksek konsantrasyonda spinal korda ulaşacağı ve optimal fizyolojik bir ortamda etki edeceği düşünüldü. Daha sonra proksimal klempe yerleştirilerek 30 dakika beklendi. 30. dakika sonunda proksimal klempe kaldırılarak spinal kord ve diğer viseral organların perfüze olması sağlandı.

Bu arada yine proksimal aortadan aynı şekilde katalaz verildi ve distal klempe açıldı. Kanama kontrolünü takiben barsaklar batın içine yerleştirildi, batın kasları ve cilt 3/0 ipek sütür materyali ve devamlı dikişlerle kapatıldı.

Bu işlemler sırasında EKG monitörizasyonu yapıldı (Protocol Propaque 106). Ayrıca cerrahi olarak juguler vene yerleştirilen 22G kanülden tüm deneklerde oklüzyon öncesi, oklüzyon sırasında ve sonrasında alınan kan örnekleri ile metabolik değişiklikler incelendi.

Grup I ve grup II'deki deneklerin nörolojik durumları 24. ve 48. saatlerde Tarlov kriterlerine göre değerlendirildi⁽¹⁷⁾. Grade 0: komplet parapleji, grade 1: eklemlerde hafif hareket mevcut, grade 2: destekle ayakta durabilir, grade 3: kendi başına ayakta durabilir, grade 4: zayıf sıçrama yapabilir, grade 5: tam iyileşme. Gruplara göre nörolojik sonuçlar T testi ile değerlendirildi, p değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tüm denekler 24 ve 48. saatlerde nörolojik değerlendirme yapıldıktan sonra intrakardiyak KCI verilerek sakrifiye edildi. Deneklerin torasik ve lomber spinal kordları total olarak çıkarıldı ve histopatolojik değerlendirme için % 10 formalin içine konuldu.



Şekil 1. Tarlov kriterlerine göre nörolojik sonuçlar

Sonuçlar

Hiçbir koruma metodu uygulanmayan kontrol grubu (grup I) tavşanlarda 24. ve 48. saatlerde yapılan nörolojik değerlendirmede 8 denekten 7'sinde komplet parapleji (grade 0) görülürken, bir denekte hafif eklem hareketleri (grade 1) tespit edildi. Deney grubunda (grup II) yapılan nörolojik değerlendirmede ise hiçbir hayvanda komplet parapleji görülmemiş, bir denek grade 2, dört denek grade 3, üç denek ise grade 4 nörolojik durumdaydı ($p<0.05$) (Şekil 1).

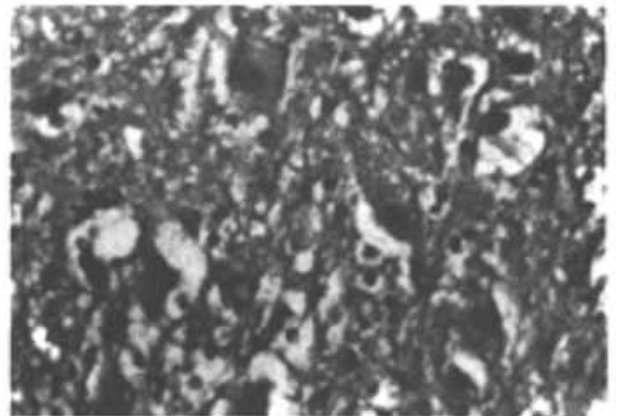
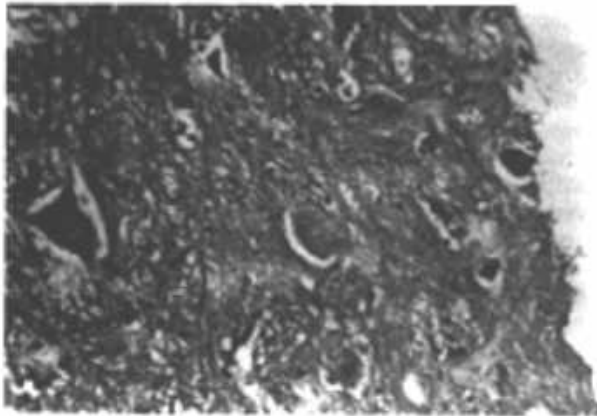
Histopatolojik incelemede, katalaz uygulanan grupta beyaz madde içinde çok sayıda nekrotik hücreler bulunduğu, geniş alanlarda beyaz maddenin dejenere olduğu saptandı. Gri madde içinde ise doğal görünümlü ganglion hücreleri arasında yer yer karyolitik görünümlü nekrotik ya da nekrobiotik ganglion hücreleri görüldü (Resim 1a, b). Katalaz uygulanmayan grupta ise gri maddede ganglion hücreleri arasında çok sayıda nekrotik hücreler ve nekrobiotik görünümlü nöron hücreleri vardır (Resim 2a,b).



Resim 2a, 2b. Karyolizis ve karyoheksis gösteren nekrobiotik ganglion hücreleri (Hemaloksilen EosinX400).

Tartışma

Geçen 10 yıl içerisinde iskemi-reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikallerinin rolü ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, intestinal sistem ve diğer dokular üzerinde serbest oksijen radikallerinin etkileri hakkında geniş bilgiler elde edilmesine rağmen



Resim 1a, 1b. Gri madde içinde bir kısmı nekrobiotik görünümlü ganglion hücreleri (Hematoxilen EosinX400).

spinal kord üzerine olan etkileri konusundaki bilgiler sınırlı kalmıştır. Aorta cerrahisi sonrasında oluşabilecek nörolojik defisit genellikle operasyonlardan hemen sonra ortaya çıkar. Ancak bazen operasyondan sonra nörolojik fonksiyonlar normal iken, ilerleyen günlerde nörolojik defisit ortaya çıkabilir⁽¹⁸⁾. Bu fenomen spinal kord hasarının yalnızca iskemi sırasında değil, aynı zamanda reperfüzyon fazında da geliştiğini düşündürmektedir.

Reperfüzyon hasarı, moleküler oksijenin toksik metabolitleri ile oluşur. Normalde oksijen, karbondioksit ve suya metabolize olur. Hipoksi sonucu, elektron transport sisteminde bozulmaya bağlı olarak reperfüzyon döneminde ani olarak artan oksijen, su ve karbondioksit yerine sitotoksik serbest oksijen radikallerine dönüşmeye başlar⁽¹⁹⁾.

Aerobik hücrelerde oluşan en önemli sitotoksik oksijen metabolitleri, süperoksit anyonu (O₂-), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve serbest hidroksil radikalidir (OH[•]), süperoksit dizmutaz (SOD), O₂- anyonun H₂O₂ ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Katalaz ise yine toksik bir metabolit olan H₂O₂'nin moleküler oksijen ve suya dönüşümünü sağlar⁽²⁰⁾. Serbest oksijen radikallerinin membran lipidlerinin peroksidasyonuna neden olarak membranın kompozisyonunu, morfolojisini ve fonksiyonunu bozduğu düşünülmektedir^(21,22).

Eksojen olarak verilen katalazın intrasellüler ya da ekstrasellüler kompartmanlardan hangisinde etki gösterdiği konusu henüz açıklığa kavuşmamıştır. Yaklaşık molekül ağırlıkları 100.000 - 150.000 Dalton olan LDH ve CPK gibi büyük moleküllü enzimlerin iskemi sırasında hücre içine girebildiği gösterilmiştir. Bu durumda iskemi sırasında daha düşük molekül ağırlığına sahip katalazın da hücre içine girebileceği varsayılabilir. Lim ve ark. yaptıkları benzer çalışmada 30 dakikalık iskemi periyodunda sadece SOD kullanarak anlamlı derecede iyileşme tespit etmişlerdir. Ancak daha uzun süreli iskemi periyodlarında SOD'un etkisiz kaldığını görmüşlerdir⁽²³⁾.

Turrens ve ark. tarafından yapılan çalışmada SOD'un tek başına kullanılması ile sınırlı bir etki görülmüşken, polietilen glikol ile konjuge edilerek kullanıldığında daha etkili olduğu saptanmıştır⁽²⁴⁾.

Bu çalışmada katalaz, benzer çalışmalardan farklı olarak izole aortik segment içine değil, distal klemp konduktan sonra, spinal kord kan basıncı düşmeden intraaortik yolla bolus şeklinde verildi. Katalazın vücut ısısında optimal etki gösterdiği düşünülerek hipotermi uygulanmadı. Nörolojik değerlendirme sonucunda tek başına intraaortik katalaz uygulamasının 30 dakikalık spinal kord iskemisine faydalı olduğu görüldü. Ancak daha uzun süreli iskemik periyodlarda nasıl bir etki göstereceğini söylemek zordur. Katalazın çeşitli moleküller ile konjuge edilmesinin membranları geçişini kolaylaştırarak belki de daha etkili bir koruma sağlayacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak iskeminin hemen öncesinde ve reperfüzyonun başlangıcında intraaortik katalaz uygulamasının, spinal kordun korunmasında faydalı olduğu, bu uygulamanın diğre koruyucu metodlarla kombine edilmesinin aortik cerrahi uygulanan hasta grubunda morbiditeyi azaltacağı kanısındayız.

Kaynaklar

1. Livesay JJ, Cooley DA, Ventemiglia RA, 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, et al: Thoracoabdominal aortic aneurysms: Preoperative and intraoperative factors determining intermediate and long-term results of operations in 605 patients. *J Vasc Surg* 1986; 3:389-404.
3. Svensson LG, Von Ritter CM, Groenevelt HT, 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.
4. McCullough JL, Hollier LH, Nugent M: Paraplegia after thoracic aortic occlusion: Influence of cerebrospinal fluid drainage. *J Vasc Surg* 1988; 70153-60.
5. Woloszyn TT, Marini CP, Coons MS, et al: Cerebrospinal fluid drainage and steroids provide better spinal cord protection during aortic cross-clamping than does either treatment alone. *Ann Thorac Surg* 1990; 49:78-83.
6. Elmore JR, Gloviczki P, Harper CM, et al: Spinal cord injury in experimental thoracic aortic occlusion: Investigation of combined methods of protection. *J Vasc Surg* 1992; 15:789-99.
7. Granke K, Hollier LH, Zdrahal P, Moore W: Longitudinal study of cerebrospinal fluid drainage in polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase in paraplegia associated with thoracic aortic cross-clamping. *J Vasc Surg* 1991; 13:615-21.

8. Schitteck A, Bennink GBWE, Cooley DA, Langford LA: Spinal cord protection with intravenous nimodipine: A functional and morphologic evaluation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104:1100-5.
9. Breckwoldt WL, Genco CM, Connolly RJ, Cleveland RJ, Diehl JT: Spinal cord protection during aortic occlusion: Efficacy of intrathecal tetracaine. *Ann Thorac Surg* 1991; 51:959-63.
10. Maughan RE, Mohan J, Nathan IM, et al: Intrathecal perfusion of an oxygenated perfluorocarbon prevents paraplegia after aortic occlusion. *Ann Thorac Surg* 1992; 54:818-25.
11. Svensson LG, Stewart RW, Cosgrove DM, et al: Preliminary results and rationale for the use of intrathecal papaverine for the prevention of paraplegia after aortic surgery. *S Afr J Surg* 1988; 26:153-60.
12. Svensson LG, Grum DF, Bednarski M, Cosgrove DM, Loop FD: Appraisal of cerebrospinal fluid alterations during aortic surgery with intrathecal papaverine administration and cerebrospinal fluid drainage. *J Vasc Surg* 1990; 11:423-9.
13. Agee JM, Flanagan TL, Blackbourne LH, Kron IL, Tribble CG: Reducing postischemic paraplegia using conjugated superoxide dismutase. *Ann Thorac Surg* 1991; 51:911-5.
14. Cuevas P, Reimers D, Carceller F, Jimenez A: Ischemic reperfusion injury in rabbit spinal cord: Protective effect of superoxide dismutase on neurologic recovery and spinal infarction. *Acta Anat* 1990; 137:303-10.
15. McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1983; 312:159-63.
16. Menache P, Piwnica A: Free radicals and myocardial protection: A surgical viewpoint. *Ann Thorac Surg* 1989; 47:939-45.
17. Tarlov IM: Spinal cord compression: Mechanism of paralysis and treatment. Springfield III, Charles C Thomas, 1957; 147.
18. Hollier LH: Protecting the brain and spinal cord. *J Vasc Surg* 1987; 5:524-8.
19. Kirshner DL, Kirshner RL, Heggeness LM, DeWeese JA: Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion. *J Vasc Surg* 1989; 9:305-8.
20. McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244:6049-55.
21. Plaa GL, Witschi H: Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Ann Rev Pharmacol* 1976; 26:203-17.
22. Majewska MD, Strosznajder J, Lazarewicz J: Effect of ischemia, anoxia and barbiturate anesthesia on free radical oxidation of mitochondrial phospholipids. *Brain Res* 1978; 158:423-34.
23. Lim KH, Conolly M, Rose D, Jacobowitz I, Cunningham JN: Time-response relationship of recombinant superoxide dismutase in the ischemic spinal cord syndrome. *Surg Forum* 1986; 37:443-5.
24. Turrens JF, Crapo JD, Freemann BA: Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutase. *J Clin Invest* 1984; 73:87-95.

Yazışma Adresi: Op.Dr. Gökhan İPEK, Koşuyolu Kalp ve Araştırma Hastanesi, Kalp Damar Cerrahisi, 81300 Kadıköy-İstanbul
