

DENEYSSEL MEDULLA SPİNALİS TRAVMASINDA DİKLOFENAK SODYUMUN KLİNİK VE PATOLOJİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

THE EVALUATION OF CLINICAL AND PATHOLOGICAL EFFECTS OF DICLOPHENAC SODIUM IN EXPERIMENTAL MEDULLA SPINALIS TRAUMA

Dr. Alparslan ŞENEL*, Dr. Ömer YILDIZ*, Dr. Levent YILDIZ*, Dr. Cengiz ÇOKLUK**, Dr. Levent TÜMKAYA**,
Dr. Ömer İYİĞÜN**, Dr. Arif ÖNDER**, Dr. Fahrettin ÇELİK**, Dr. Cemil RAKUNT**

ÖZET: Spinal travmalarda medulla spinalisteki sekonder hasarın bir dizi biyokimyasal reaksiyon sonucu oluştuğu bilinmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu reaksiyon zincirini durdurmaya yönelik birçok farmakolojik ajan denenmiştir. Bu çalışma ağırlık düşürülerek oluşturulan tavşan deneysel medulla spinalis modeli üzerinde yapıldı. Daha önceki yıllarda antienflamatuar teoriden yola çıkılarak nonsteroidal antienflamatuar ilaçlar medulla spinalis travmalarında kullanılmış ve kısmen faydalı oldukları görülmüştür. Bu çalışmada kullandığımız diklofenak sodyum bu ilaçlara göre daha lipofilik ve santral sinir sistemine daha kolay geçebilmektedir. Bu çalışmanın amacı medulla spinalis travmasından sonra oluşan nöronal doku hasarını ve bunun sonucu olarak gelişen nörolojik bozukluğun diklofenak sodyum ile ne kadar düzeldiğini araştırmaktır. Sonuç olarak bu çalışmada diklofenak sodyumun tavşanda ağırlık düşürme yöntemiyle oluşturulan deneysel spinal kord travmasında nörolojik defisitlerde %15.6 oranında iyileşme sağladığı görüldü. Diklofenak sodyum ile %27.75 oranında histopatolojik düzelme sağlandığı gözlemlendi. **Anahtar Kelimeler:** Antienflamatuar ilaç, diklofenak sodyum, spinal kord travması.

SUMMARY: Secondary medulla spinalis injuries after spinal trauma is the result of many biochemical reactions. In the recent studies, many pharmacological agents was used for the prevent of these reaction chains. Non-steroidal antienflamatory drugs was used in and showed that particularly usefull in the experimental spinal cord injury model. Diclophenac sodium, a non-steroidal antienflamatory drug is known that more lypophilic and penetrable to central nervous system than others was used in our study for the preventing of secondary biochemical cord injuries in the experimental rabbit weight dropped-spinal cord injury model. The aim of this study is the investigation of the ameliorative effect of diclophenac sodium in the neurological deterioration due to spinal cord injuries. In our study, the neurological recovery is 15.6% and histopathological recovey is 27.75%, these results are significant statistically as compared with untreated controls.

Key Words: Antienflamatory drug, diclophenac sodium, spinal cord trauma.

Medulla spinalis travması nöroşirürji pratiğinde sık karşılaşılan durumlardandır. Bu alanda yapılan tüm klinik ve deneysel çalışmalara rağmen hastalığın kesin tedavisi sağlanamamış, palyatif sınırlar içerisinde kalmıştır (16).

İlk yaralanma sırasında oluşan kompresyon, laserasyon, kemik, disk ve yabancı cisimlerin spinal kordda oluşturdukları hasar primer hasar olarak bilinmektedir. Bu primer hasarı takiben medulla spinaliste gelişen bir dizi biyokimyasal olaylar zinciri kordun daha fazla zarar görmesine neden olmaktadır. Bu olaylar zincirine sekonder hasar adı verilmektedir (24,25).

Literatürde nonsteroidal antienflamatuar ilaçların

medulla spinalis travmalarında sekonder hasarın azaltılmasında etkin oldukları bildirilmektedir (13,14). Bizler bu çalışmada lipofilik ve santral sinir sistemine daha çabuk geçme özelliğine sahip bir ilaç olan diklofenak sodyumun deneysel spinal kord travmasında klinik ve patolojik etkilerini inceledik.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 18 adet erişkin, ağırlıkları 2-2.5 kg arasında değişen Yeni Zellanda tipi dişi beyaz tavşan kullanıldı. Deney hayvanlarına %4 kloral hidrattan 0.09 ml/kg dozunda intraperitoneal verilerek genel anestezi sağlandı. T12'ye total laminektomi yapıldı. Bu mesafeye ağırlık düşürme yöntemi ile 30 cm'den steril bir tüp içerisinden 10 gramlık ağırlık sağlam dura üzerine düşürülerek 300 gr-cm'lik hasar oluşturuldu.

Femoral artere polietilen kateter yerleştirilerek işlem süresince ve travma sonrası civalı manometre ile arteriyel

* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fakültesi, Nöroşirürji, Patoloji

** Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji
Anabilim Dalları,

Yazışma Adresi: Dr. Alparslan ŞENEL

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji
Anabilim Dalı 55139 SAMSUN

kan basıncı monitörizasyonu ve arteriyel kan gazı ölçümleri yapıldı. PaCO₂ basıncı 34-40 mmHg, PaO₂ basıncı 100-110 mmHg ve ortalama arteriyel kan basıncı 90-110 mmHg arasında seyretti. Tavşanların altına blanket yerleş tirilerek rektal termometre ile vucut ısısı ölçümleri yapıldı. Vucut ısısı 36.5-37.5 santigrad derece arasında tutuldu.

Deney tavşanlarından birinci gruba travmadan hemen önce 3 mg/kg İM diklofenak sodyum verildi. İkinci grup kontrol grubu olup posttravmatik dönemde serum fizyolojik 2cc İM verildi. Deney hayvanları üç hafta sü resince izlendi. Klinik değerlendirme Tarlov skalasına göre yapıldı (Tablo I).

Tablo I: Tarlov skalası

Grade 0	Hiç hareket yok
Grade 1	Minimal adale kontraksiyonu
Grade 2	Çok hafif çekme hareketi
Grade 3	Bacaklarını çekiyor
Grade 4	Yürüyor ancak defisitli
Grade 5	Normal

Deney tavşanları üç hafta sonra 8 mg/kg İM Xylazin ile sedatize edilip eter ile genel anestezi verilerek spontan solunuma bırakıldı. Daha sonra torakatomiyi takiben sol ventriküle önce heparin verilip sonra serum fizyolojik mayı takıldı. Sağ atrium açıldı ve kan boşalırken sol ventriküle dokuların tesbiti için %10'luk formalin solüsyonu infüzyonu yapıldı. Denekler öldükten sonra eski insizyonlarından açılıp T12 düzeyindeki medulla spinalis segmenti çıkarıldı.

Histopatolojik inceleme için %20'lik tamponlanmış nötral formalinde 24 saat fikse edilen medulla spinalis segmentlerinin rutin doku takip işleminden geçirilmesi sonucu elde edilen parafin blokların 4-6 mikrometrelik kesitleri Hematoksilin ve Eozin ile boyandı. Tüm gruplara ait örneklerin mikroskopik incelemesi I. Damjanov kriterlerine göre değerlendirildi (Tablo II).

Tablo II: I. Damjanov kriterleri.

Grade 0	Normal
Grade 1	Hafif derece lezyon; hemosiderin yüklü makrofaj, köpük makrofaj toplanması, beyaz cevherde vakuolizasyon ile birlikte sinir hücrelerinin kaybı.
Grade 2	Orta derece lezyon; santral kord kaviteyasyonları, köpük makrofajlar içeren kistik lezyonlar.
Grade 3	Şiddetli lezyon; gri ve beyaz cevherde şiddetli kistik nekrozlar.

İstatistiksel analiz için Mann Whitney U testi kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen tavşanların spinal kord travması öncesi fizyolojik parametreleri Tablo III de travma sonrası parametreleri ise Tablo IV de gösterilmektedir.

Travmadan üç hafta sonraki klinik değerlendirme amacıyla kullanılan Tarlov skorları ve histopatolojik değerlendirme amacıyla kullanılan I. Damjanov skorları Tablo V de gösterilmektedir.

Diklofenak sodyum grubunda klinik olarak nörolojik defisitlerde %15.6 oranında iyileşme saptanırken, kontrol grubunda ise nörolojik defisitlerde değişiklik gözlenmedi. İki grup Tarlov skalasına göre karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p = 0.005$).

Diklofenak sodyum grubunda histopatolojik olarak %27.75 oranında iyileşme sağlanırken (Resim 1) kontrol grubunda düzelme görülmemiştir (Resim 2). Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0.015$).

TARTIŞMA

Medulla spinalis travması nöroşirürji pratiğinde sık karşılaşılan, mortalite ve morbiditesi yüksek, klinik durumlardan birisidir (16). İnsan medulla spinalis travmasında oluşan fizyopatolojik mekanizmalara benzetmek için değişik deneysel modeller geliştirilmiştir. Bununla ilgili ilk fizyopatolojik çalışma 1890 yılında Schamus tarafından tavşan medulla spinalisinde travma sonucu gelişen patolojik değişiklikler incelenerek yapılmıştır.

Spinal travmalarda travmanın neden olduğu primer hücresel hasarın dışında bir dizi biyokimyasal reaksiyon da sekonder olarak nöronal hasardan sorumlu tutulmaktadır (7,18,19). Travma sonrası sekonder nöronal hasardan sorumlu tutulan biyokimyasal değişiklikler glutamat toksisitesi, nörotransmitter artışı, araşidonik asit, serbest radikal üretimi, prostoglandin salınımı, lipid peroksidasyon ürünleri, endojen opiyatlar ve sitokinazlar olarak sıralanmaktadır (2,3,7,18,19,24,25).

Literatürde sekonder nöronal hasarın önlenmesi için pek çok değişik madde kullanılmıştır. Bunlar arasında kortikosteroidler, non-glukokortikoid 21 aminosteroidler, opiyat antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri, antioksidanlar, troid releasing hormon (TRH), siklooksijenaz inhibitörleri, proteaz inhibitörleri, adrenerjik antagonistler ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri (MK-801) sayılabilir (1,4,5,6,8,9,10,11,12,21,23,27,28).

Bizim çalışmamızda sekonder hasarın önlenmesine yönelik olarak bir nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç olan diklofenak sodyum kullanılmıştır.

Enflamatuvar ajanlar hasar bölgesinde destrüktif etkiye sahiptirler (3,20,24,25). Prostaglandin ve lökotrienler enflamatuvar hücrelerin toplanması ve doku harabiyetinin başlamasından sorumlu tutulmaktadır. Medulla spinalis

Tablo III: Çalışmaya dahil edilen tavşanların travma öncesi fizyolojik parametreleri.

Gruplar*	Sayı	PaCO ₂	PaO ₂	pH	O.A.K.B** (mmHg)
Kontrol	9	35.4 ± 5.2	103.2 ± 4.8	7.34 ± 0.02	95 ± 10
MS	9	35.2 ± 4.3	104.3 ± 5.4	7.38 ± 0.06	101 ± 9

*Sonuçlar ortalama ± SD olarak verildi.

** Ortalama arteriyel kan basıncı

Tablo IV: Çalışmaya dahil edilen tavşanların travma sonrası fizyolojik parametreleri.

Gruplar*	Sayı	PaCO ₂	PaO ₂	pH	O.A.K.B** (mmHg)
Kontrol	9	34.2 ± 3.1	101.2 ± 8.3	7.31 ± 0.02	85 ± 8
MS	9	33.4 ± 3.2	102 ± 7.4	7.33 ± 0.04	96 ± 10

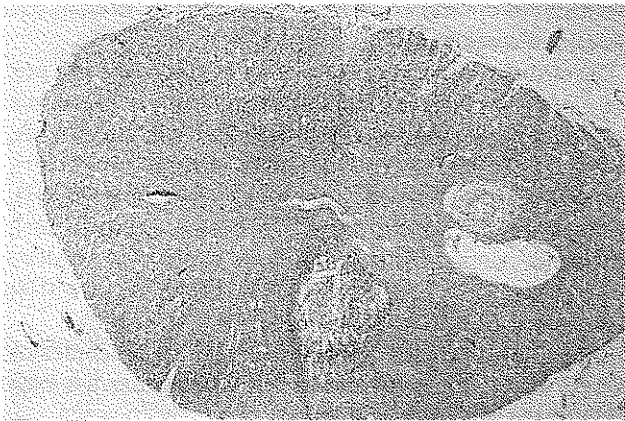
*Sonuçlar ortalama ± SD olarak verildi.

** Ortalama arteriyel kan basıncı

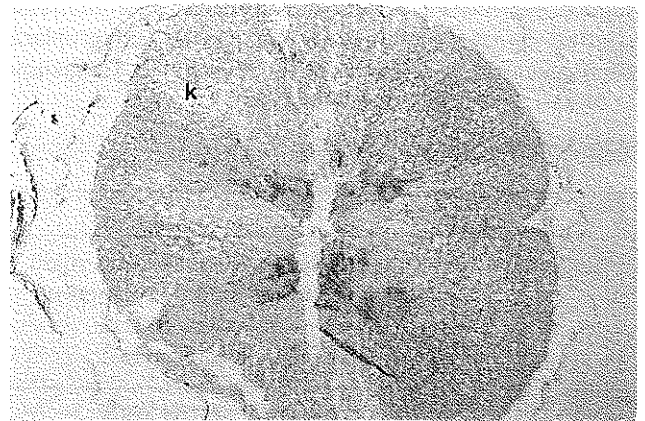
Tablo V: Grupların Tarlov ve I. Damjanov skorları

Gruplar	Sayı	Tarlov skoru*	I. Damjanov skoru*
Kontrol	9	0.11 ± 0.11	2.89 ± 0.11
MS	9	0.78 ± 0.22	1.89 ± 0.20

*Sonuçlar ortalama ± SD olarak verildi.



Resim 1. Diklofenak sodiyum tedavisi uygulanan tavşanların travmatik spinal korduna ait histopatolojik görünüm (H&E x25).



Resim 2. Kontrol grubu tavşanlarının travmatik spinal korduna ait histopatolojik görünüm k; kistik nekroz (H&E x25).

travması sonrasında kanda bradikinin, prostaglandin, lökotrien, platelet aktive edici faktör (PAF) ve serotonin miktarı artar (2,15,20). Deneysel çalışmalarda indometazin, ibuprofen, meklofenamit kullanılmış ve siklooksijenaz enzim inhibisyonu yoluyla enflamatuar cevabı azaltıkları böylelikle sekonder spinal kord yaralanmasında yararlı etkilerinin olduğu bildirilmektedir (13,14).

Nonsteroidal antienflamatuar ilaçlar siklooksijenazı inhibe ederek prostaglandin sentezini azaltmaktadırlar. Nonsteroid antienflamatuar ilaçların diğer etkileri arasında lizozomal membranların stabilizasyonu, enflamasyon mediatörlerinin (histamin, serotonin, lizozomal enzimler) serbest bırakılmasının ve aktivitelerinin inhibe edilmesi, enflamasyon odağına hücre geçişinin engellenmesi ve oksijen radikallerinin nötrale edilmesi sayılabilir.

Diklofenak sodyum antienflamatuar, analjezik ve antipiretik etkisi olan nonsteroidal antienflamatuar bir ilaçtır. Öncelikle siklooksijenazı inhibe ederek araşidonik asit türevi olan prostaglandinlerin sentezini önlemektedir. Diklofenak sodyumun bundan başka araşidonik asit salınımını baskı altına alıp bunun olasılıkla trigliseridlerle bağlanmasını sağlayarak azalmasına yol açtığı ve böylece lipooksijenaz siklusunda da değişiklik yaptığı bildirilmektedir (22). Diğer nonsteroidal antienflamatuar ilaçlar gibi diklofenak sodyum da insan trombosit agregasyonunun ikinci fazını in vitro inhibe etmektedir (17). Hidrofilik ilaçlar genellikle kan-beyin bariyerini geçemezler. İndometazin ve diklofenak sodyum gibi lipofilik ilaçlar ise daha kolay santral sinir sistemine geçerler.

Demopoulos ve ark. (13), travma sonrası spinal kordda gelişen iskeminin hipoksi sonucu ortaya çıkan serbest radikaller ile lipid peroksidasyon ürünlerine bağlı olduğunu bildirmektedirler. Serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyon ürünleri travmayı takiben ilk bir saat içerisinde ortaya çıkmaktadır (13). Saunders ve ark. (20) ise araşidonik asitin travmadan sonraki beş dakika içerisinde artmaya başladığını bununla birlikte Prostaglandin F_{2a} (PGF_{2a}) ve tromboksan-B₂(TXB₂)'ninde arttığını bildirmişlerdir.

Lipid peroksidasyonunun en sık görüldüğü yer gri cevherdir (26). Demir ve bakır komplekslerine dönüşen lipid peroksidatif lezyonlar gri cevherde peteşiyal kanamalara neden olmaktadır (26). Böylece irreversibl myelin ve akson hasarı ortaya çıkabilir.

Diklofenak sodyum analjezik ve antipiretik aktiviteleri olan bir nonsteroidal antienflamatuar ilaçtır. Güçlü bir siklooksijenaz enzim inhibitörü olup aynı zamanda trombosit agregasyonunun ikinci fazını in vitro inhibe etmektedir.

Elde edilen sonuçlar diklofenak sodyumun travmatize medulla spinaliste klinik ve histopatolojik iyileşmeye kısmen katkıda bulunduğunu göstermiş, ancak tam bir iyileşme olmamıştır. Bu sonuçlar diğer çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde travmatize medulla spinaliste gelişen

olayların multifaktoriyel olduğu kanaatini uyandırmıştır. Dolayısı ile bu konuda yapılacak araştırmaların amacı sinerjik etki gösteren tedavileri araştırmak ve kombine tedavi yöntemlerini geliştirmek olmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Bracken MB, Shepard MJ. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury. *J Neurosurg* 76: 23-31, 1992.
2. Braughler JM, Pregenzer IF. Novel 21-aminosteroids as potent inhibitors of iron dependent lipid peroxidation. *J Biol Chem* 262: 10438-10440, 1987.
3. De La Torre JC. Spinal cord injury: Review of basic and applied research. *Spine* 6: 315-335, 1981.
4. Faden AI, Demediuk P, Panter SS, Vink R. The role of excitatory aminoacids and NMDA receptors in traumatic head injury. *Science* 244: 798-800, 1989.
5. Faden AI, Jacops TP. Endorphins in experimental spinal injury; therapeutic effect of naloxane. *Ann Neurol* 10: 326-332, 1981.
6. Faden AI, Jacobs TP. Effects of TRH analogs on neurologic recovery after experimental spinal trauma. *Neurology* 35: 1331-1334, 1985.
7. Faden AI, Simen RP. A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol* 23: 623-626, 1988.
8. Faden AI, Yum SW, Lenke M, Vink. Effects of TRH analog treatment on tissue cations, phospholipids and energy metabolism after spinal cord injury. *J Pharmacol Exp Ther* 255(2): 608-614, 1990.
9. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The effect of nimodipine and dextran on axonal function and blood flow following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 71: 403-416, 1989.
10. Hall ED. Effects of the 21-aminosteroid U-74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 68: 462-465, 1988.
11. Hall ED, Braughler JM. Effects of a single large dose of methylprednisolone sodium succinate on experimental posttraumatic spinal cord ischemia dose response and time action analysis. *J Neurosurg* 61: 124-130, 1984.
12. Hall ED, Braughler JM: Evaluation on intensive methylprednisolone sodium succinate dosing regimen in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 67: 102-105, 1987.
13. Hall ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the patophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg* 64: 951-961, 1986.
14. Hallenbeck JM, Jacobs TP. Combined PG12, indomethacin and heparin improves neurological recovery after spinal trauma in cats. *J Neurosurg* 58: 749-754, 1983.

15. Koç RK, Akdemir H, Kurtsoy A, Paşaoğlu H, Kavuncu I, Paşaoğlu A, Karaküçük I. Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. comparison of treatment with Ginkgo biloba, TRH and methylprednisolone. *Resarch in Experimental Medicine* 195(2): 117-123, 1995.
16. Kraus JF, Franti CE, Riggins RS. Incidence of traumatic spinal cord lesions. *J Chronic Disease* 28: 471-492, 1975.
17. Kruze D, Fehr K, Menninger H, Boni A. Effect of antirhematic drugs on neuronal protease from human leucocyte granules. *Z Rheumatol* 33: 337-346, 1976.
18. Panter SS, Yum SW. Alteration in extracellular amino acids after traumatic spinal cord injury. *Ann Neurol* 27: 96-99, 1990.
19. Rothman SM, Olney JW. Glutamate and pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19: 105-111, 1986.
20. Saunders RD, Anderson DK, Horrocks LA. Arachidonic acid and lipid metabolism following spinal cord trauma. *Soc Neurosci Abst* 10: 998, 1984.
21. Schanne FAX, Kane AB. Calcium dependence of toxic cell death; a final common pathway. *Science* 206: 700-702, 1979.
22. Scholer DW, Boettcher I, Schweizer A, et al. Pharmacology of diclophenac sodium. *Am J Med* 80(spp 4B): 34-38, 1986.
23. Stokes BT, Fox P, Hollinden G. Extracellular calcium activity in the injured spinal cord. *Exp Neurol* 80: 561-572, 1983.
24. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 37:291-302, 1991.
25. Tator CH, Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with special emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 75: 15-26, 1991.
26. Torre JC. Spinal cord injury review of basic and applied resarch. *Spine* 6:15-334, 1981. *ochirurgie* 37:291-302, 1991.
27. Tymianski M, Charlton MP, Carlen PL, et al. Secondary calcium overload indicates early neuronal injury which precedes staining with viability indicators. *Brain Res* 607: 319-323, 1993.
28. Young W, Yen V, Blight A. Extracellular calcium ionic activity in experimental spinal cord contusions. *Brain Res* 253: 105-113, 1982.