

SPİNAL KORD TRAVMALARINDA TOPIKAL DİPYRON'UN ETKİNLİĞİ

Celal Bağdatoğlu* • Ayşe Karataş** • Hasan Çağlar Uğur**
Hakan Ergün*** • Ayhan Attar** • Mustafa Sargon**** • Nihat Egemen**

ÖZET

Diphyron; non-steroidal antiinflamatuvar ajanlar içerisinde pironolon grubunda yer alır. Güçlü analjezik, antipiretik ve spazmolitik etkiye sahiptir. Spinal kord travmalarındaki kliniğin oluşmasında, travmanın şiddetinin artmasından sorumlu olan vasküler spazmın rolü oldukça büyüktür. Tavşanlarda yapılan bu deneysel çalışmada, değişik dozlardaki dipyron'un spinal kord travmalarının tedavisindeki etkinliği araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: Spinal kord travması, dipyron, vasospazm

SUMMARY

Application of Diphyron on the Treatment of Spinal Cord Traumas

Diphyron is a non-steroidal antiinflammatory agent belonging to pironolon group. It has analgesic, antipiretic, and spasmolytic effects. Vascular spasm which is responsible for the increase of the impact of the trauma has an extensive role in constituting the clinic of the spinal cord traumas. This experimental study aims at investigating the effects of the application of diphyron in varied doses on the treatment of spinal cord traumas in rabbits.

Key Words: Spinal cord trauma, dipyron, vasospasm

Diphyron klinik kullanımında metamizol, noramydopirin, methanosolayte sodium olarak da bilinmektedir. Dipyron'un rutin klinik kullanımında analjezik ve antipiretik etkisi çok iyi bilinmekle beraber spazmolitik etkisi ile ilgili yapılmış çalışmalar sınırlıdır. Dipyron, kendisi veya metaboliti aracılığı ile düz kaslarda gevşeme yapar (1). Dipyron oddi sfinkterindeki tonusu azaltarak safra yollarındaki basıncı düşürür (2,3). Arter peristaltizminin arttığı durumlarda ise kasılma frekansını yavaşlatır (4). Dipyron'un damar düz kasları üzerindeki gevşetici etkisinin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Spinal kord travmalarında mekanik yaralanmanın dışında bu yaralanmanın şiddetini arttıran ikincil mekanizmaların varlığı düşünülmektedir. Bu ikincil mekanizmalar içinde en önemlilerinden birisi travma alanını besleyen arteriollerin düz kas hücrelerindeki spazmdır. Bu spazmı çözebilecek medikal tedavi seçeneklerinin travmanın şiddetini azaltabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirurji Araştırma Labo-

ratuar'ında gerçekleştirilmiştir. Araştırma deneysel spinal kord travmasına uğratılmış deneklerin spinal kordlarının değişik dozlardaki dipyron'a verdikleri yanıt gösterilmeye çalışılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Hayvan Hakları Komitesinin kuralları doğrultusunda gerçekleştirildi. Araştırmada ağırlığı 2000-3000 gr arasında olan Yeni Zellanda Albino tipi 20 tavşan kullanıldı. Anestezide barbiturat türevi olmayan ketamin hidroklorür 10 mg/kg ve preanestezik olarak thiazine hidrokloride 0.15 mg/kg uygulandı. Aseptik şartlarda kulak venlerinden kanüle edilen deneklere uygun dozda intravenöz mayi başlandı. Daha sonra femoral arter ortaya konarak arteriyel monitörizasyon sağlandı. Daha sonra cerrahi mikroskop altında torakal 3-4 total laminektomi TUR yardımıyla yapıldı. Anevrizma klibi (Yaşargil FE 762) kullanılarak toplam 30 saniye sürecek şekilde spinal kord travması oluşturuldu. Tüm deneklere

* Öğretim Görevlisi, Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirurji Anabilim Dalı, Mersin

** Araştırma Görevlisi, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroşirurji Anabilim Dalı, Ankara

*** Öğretim Görevlisi, Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara

**** Öğretim Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Ankara

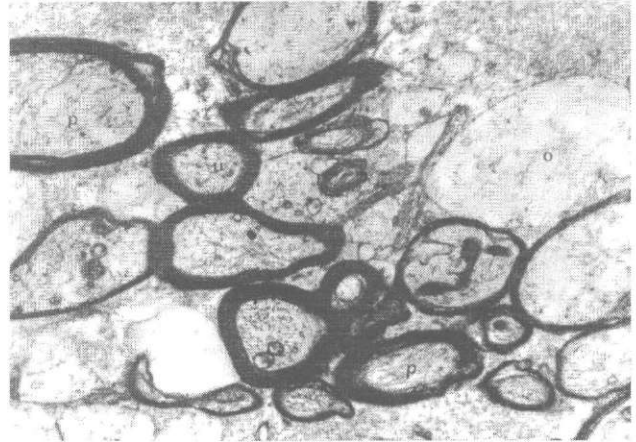
post operatif 15. dakikada 200 mg dipyrone topikal uygulandı. 1. gruptaki toplam 5 deneye saf dipyrone, ikinci gruptaki toplam 5 deneye $10^{-2}\mu$ dipyrone, 3. gruptaki toplam 5 deneye 10^{-4} ve 4. gruptaki toplam 5 deneye 10^{-5} dipyrone uygulandı. Denekler daha sonra postoperatif 24. saatte derin anestezi ile uyutuldu. Her gruptan 4 deneye atriya yerleştirilen kateterden %10'luk formol ve her gruptan kalan 1'er deneye %2'lik gluteraldehit verilerek direk canlı dokuda tespit yapıldı. Formol ile tesbit edilen dokular ışık mikroskopisi ile, gluteraldehit ile tesbit edilen dokular ise elektron mikroskopisi ile incelendi. C2-L1 arası çıkarılan spinal kordlar gluteraldehitli ve formollü solüsyonlarda korundu. Alınan dokular %2.5'lük gluteraldehit çözeltisi içinde fikse edildi ve SPB tampon çözeltisi (ph 7.4) ile yıkayıp %1'lik osmiyum tetroxide çözeltisi ile post fiksasyon işlemine alındı. Bu işlemi takiben dokular SPB tampon çözeltisi ile tekrar yıkandı. Daha sonra düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru değişen alkol serilerinde dehidrate edildi ve propilen oksitin ile yıkandı. Daha sonra epoksi-nesin gömme materyali ile propilen oksitin değişen oranlarda karıştırılması ile elde edilen karışımlara dokular gömüldü ve dokular 24 saat etüvde bekletildi. Bir LKB-Nova ultramikrotomda, bir cam bıçakla yaklaşık 2μ olan yarı ince kesitler ve 60 nm kalınlığında olan ultra ince kesitler alındı. Ultra ince kesitler bakır ızgaralarda toplanarak uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlanmaları sağlandı. Fotoğraflar JEOM 1200 EX transmission elektron mikroskopunda çekildi.

SONUÇLAR

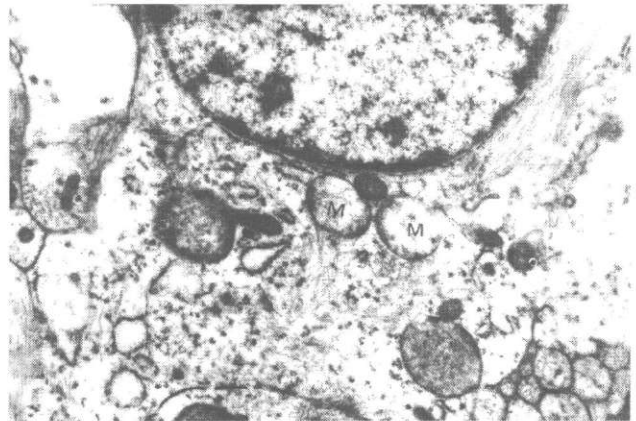
Saf dipyrone uygulanan grupta (grup1), miyelinli aksonlarda genel olarak orta derecede aksonal dejenerasyon bulguları izlendi. Küçük çaplı miyelinli aksonların az bir kısmı normal iken büyük kısmında miyelin katmanlarında ayrılma ve bunların az bir kısmında da kesinti olduğu izlendi. Orta çaplı miyelinli aksonların pek çoğunun miyelin katmanlarında ayrılma ve kesinti izlendi. Büyük çaplı miyelinli aksonların hepsinde aksonal dejenerasyon bulguları mevcut idi. Bu aksonların pek çoğunun miyelin katmanlarında kesinti mevcuttu. Miyelinli aksonların arasında ve nöronlar çevresinde ödemli sahalar mevcut idi (intersellüler ödem). Bu grupta akson-miyelin ayrılmasına rastlanmadı. Nöronların stoplazmasında yer alan mitokondrielerin çoğu ve bu gruptaki arteriol ve venüllerin endotelinde yer

alan mitokondrielerin hepsi ileri derecede ödemli idi (Şekil 1,2,3,4).

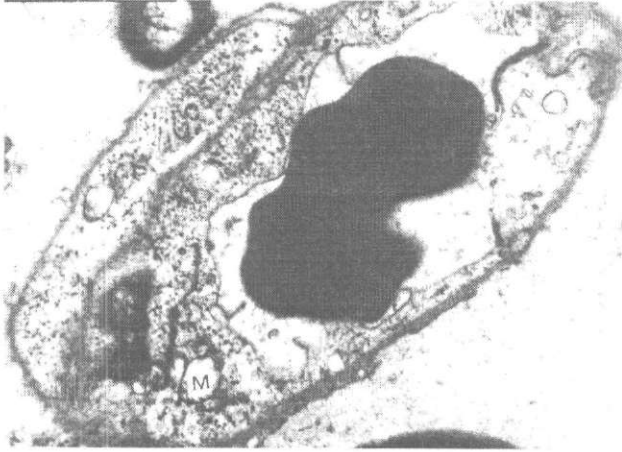
10^{-3} grubu: Bu gruptaki (grup2) miyelinli aksonlarda orta derecede aksonal dejenerasyon bulguları mevcuttu. Küçük çaplı miyelinli aksonlar içerisinde normal olanların sayısı saf dipyrone grubundan daha fazla idi. Geriye kalanların ise miyelin katmanlarında ayrılma mevcut idi. Orta çaplı miyelinli aksonların normal olanların sayısı saf dipyrone grubundan fazla idi. Bu grupta da orta çaplı miyelinli aksonların katmanlarında ayrılma ve kesinti gibi aksonal dejenerasyon bulguları izleniyordu. Büyük çaplı miyelinli aksonların pek çoğunda aksonlarda dejenerasyon mevcuttu. Aksonal dejenerasyon bulguları izlenen büyük



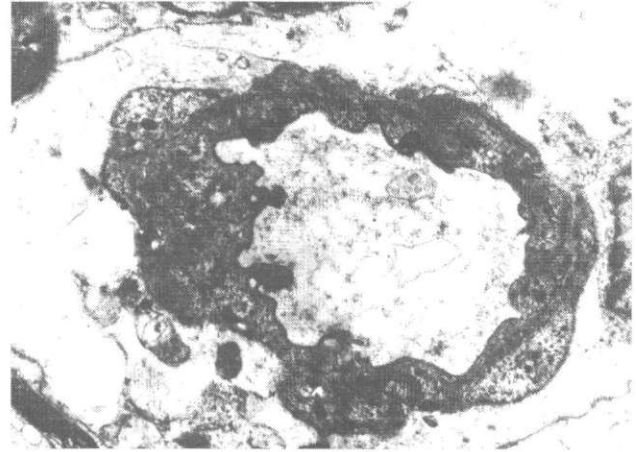
Şekil 1: d) Elektron mikroskopisinde ($\times 7.500$) dejenere miyelinli aksonlar
n) Normal görünümünde birkaç miyelinli akson
o) Miyelinli aksonlar ve nöronlar arasında ödemli alanlar



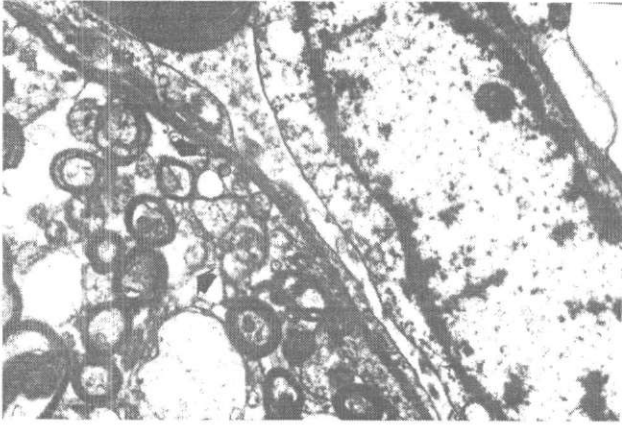
Şekil 2: m) Elektron mikroskopisinde ($\times 12.000$) nöron sitoplazmasında bulunan mitokondrielerde şişme



Şekil 3: Elektron mikroskopisinde (x7.500) arteriöl endoteliumdaki mitokondrilerde şişme



Şekil 5: Elektron mikroskopisinde (x7.500) 10⁻³ grubunda arteriöl görünümü



Şekil 4: M) Elektron mikroskopisinde (x7.500) venül mitokondrisinde şişme miyelinli akson



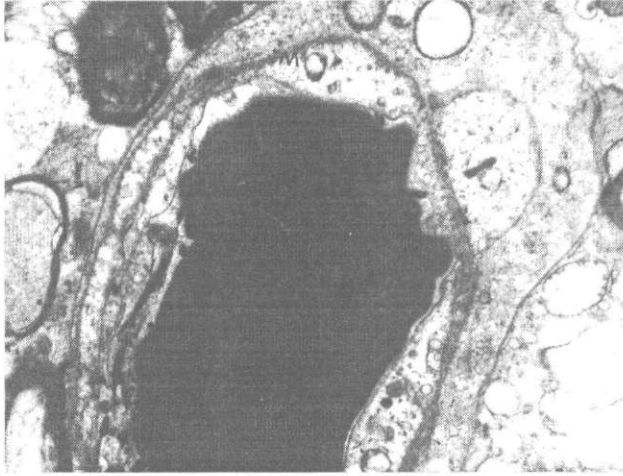
Şekil 6: M) Elektron mikroskopisinde (x7.500) venüde şişmiş mitokondri

çaplı miyelinli aksonların pek çoğunda miyelin katmanlarında kesinti, bir kısmında ise miyelin katmanlarında ayrılma mevcut idi. İntersellüler ödem bu grupta da mevcuttu. Fakat bu ödem saf dipyron grubundan daha az idi. Akson-miyelin ayrılmasına rastlanmadı. Nöronlardaki ödemli mikrokondri sayısı ve ödemin derecesi saf dipyron grubundan daha az idi. Bu gruptaki arteriöl ve venüllerin endotelinde yer alan mitokondrilerin bir kısmı ileri derecede, bir kısmı ise orta derecede ödemli idi (Şekil 5,6).

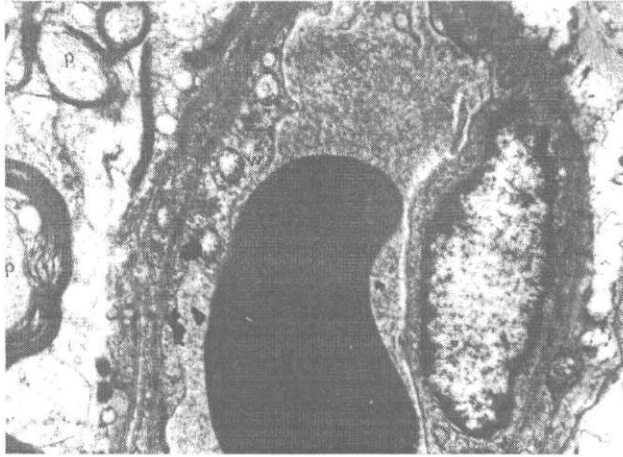
10⁻⁴ grubu: Bu grupta (grup3) izlenen bulgular 10⁻³ grubu ile aynı idi (Şekil 7,8).

10⁻⁵ grubu: Bu gruptaki (grup4) miyelinli aksonlarda orta derecede aksonal dejenerasyon bulguları mevcut idi. Küçük çaplı miyelinli aksonların içeisinde nor-

mal olanların sayısı yaklaşık 10⁻³ kadardı. Aksonal dejenerasyon bulgusu gösterenlerde ise miyelin katmanlarında ayrılma mevcuttu. Çok azında ise miyelin katmanlarında kesinti izlenmekteydi. Orta çaplı miyelinli aksonların normal olanların sayısı 10⁻³ grubu gibi idi. Aksonal dejenerasyon bulguları gösterenlerde ise miyelin katmanlarında ayrılma ve kesinti gibi bulgular izleniyordu. Büyük çaplı miyelinli aksonların pek çoğunda aksonal dejenerasyon bulguları izleniyordu. Bunların pek çoğundaki patoloji miyelin katmanlarında kesinti, bir kısmında ise miyelin katmanlarında ayrılma mevcut idi. İntersellüler ödem bu grupta da mevcut idi. Fakat ödemin derecesi -3 ve -4 gruplarında daha az idi. Akson miyelin ayrılmasına rastlanmadı. Bu gruptaki nöronlar incelendiğine mitokondrilerin



Şekil 7: M) Elektron mikroskopisinde (x7.500) arteriolde şişmiş mitokondri
o) İntrasellüler ödem



Şekil 8: M) Elektron mikroskopisinde (x7.500) arteriolde ve venülide şişmiş mitokondri
d) Dejenere miyelinli aksonlar

ultrastrüktürel olarak en iyi durumda oldukları izlendi. Arteriol ve venüllerin endotelinde yer alan mitokondrilerin bir kısmı ileri derecede, bir kısmı ise orta derecede ödemli idi. Bazı alanlarda ultrastrüktürel olarak normal mitokondrilere de rastlandı (Şekil 9,10,11,12).

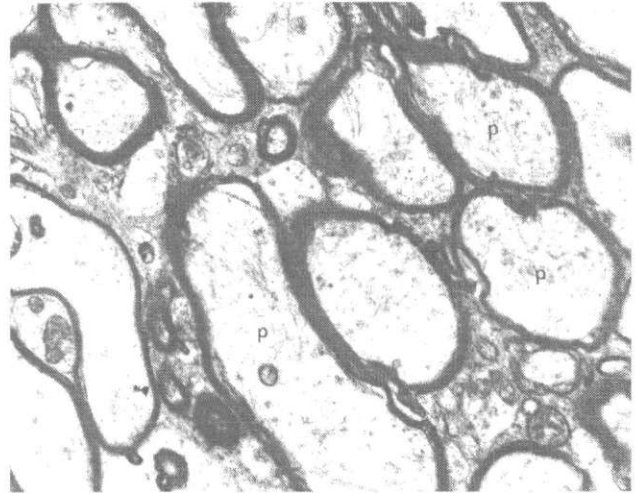
Ultrastrüktürel skorlama yöntemi Tablo 1'dedir.

Yapılan skorlamaya göre elde edilen sonuçlar Tablo 2'dedir.

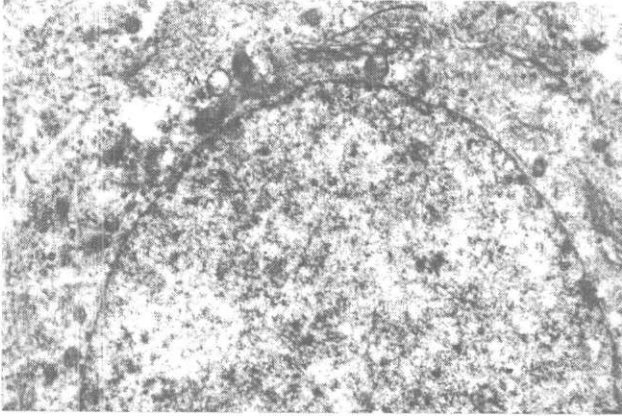
Elde edilen istatistiksel değerler Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve Grup I ile Grup IV arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p < 0.01$) Grup III ve Grup IV arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.5$)

Tablo 1.

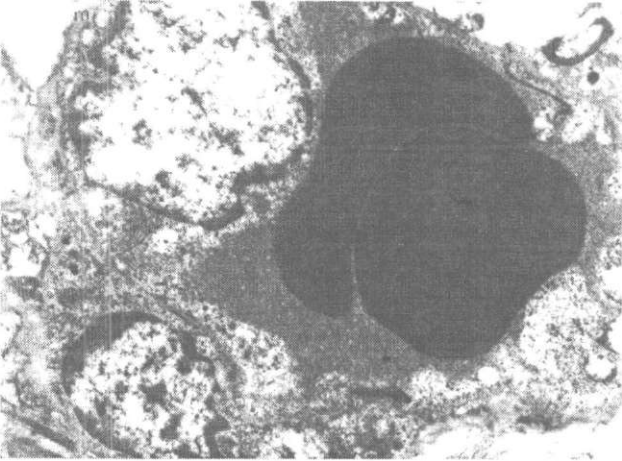
A) İntersellüler Ödem	
YOK	0
+	1
++	2
B) Büyük Çaplı Myelinli Aksonların Aksonal Dejenerasyonu	
Myelin Katmanları Normal	0
Myelin Katmanlarında Ayrılma	1
Myelin Katmanında Kesinti	2
Geniş Pal Peteği Görünümü	3
C) Orta Çaplı Myelinli Aksonlarda Aksonal Dejenerasyon	
Myelin Katmanları Normal	0
Myelin Katmanlarında Ayrılma	1
Myelin Katmanında Kesinti	2
Geniş Pal Peteği Görünümü	3
D) Küçük Çaplı Myelinli Aksonlarda Aksonal Dejenerasyon	
Myelin Katmanları Normal	0
Myelin Katmanlarında Ayrılma	1
Myelin Katmanında Kesinti	2
Geniş Pal Peteği Görünümü	3
E) Nöronlardaki Mitokondri Hasarı	
Normal	0
Hafif Ödemli	1
Belirgin Ödem ve Yapı Kaybı	2
F) Arteriol Duvarında Yer Alan Endotel Hücrelerindeki Mitokondri Hasarı	
Normal	0
Hafif Ödemli	1
Belirgin Ödem ve Yapı Kaybı	2
G) Venül Duvarında Yer Alan Endotel Hücrelerindeki Mitokondri Hasarı	
Normal	0
Hafif Ödemli	1
Belirgin Ödem ve Yapı Kaybı	2



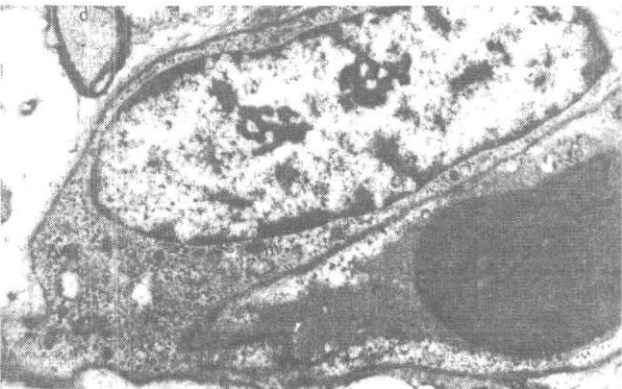
Şekil 9: d) Elektron mikroskopisinde (x7.500) orta derecede dejenerasyon gösteren aksonlar



Şekil 10: M) Elektron mikroskopisinde (x12.000) nöron sitoplazmasında orta derecede şişme gösteren mitekondri



Şekil 11: M) Elektron mikroskopisinde (x7.500) arteriöl endotel-yumunda şişme gösteren mitekondri



Şekil 12: M) Elektron mikroskopisinde (x7.500) venül endotel-yumunda şişme gösteren ve normal (m) mitekondriiler, (d) miyelinli aksonlarda dejenerasyon

Tablo 2. Skorlaşma sonuçları

1) Saf Dipyron

Saf Dipyron	Sayılan Madde	Genel Skor	Ortalama Skor
A	x 2500 büyütmede 50 farklı saha	46	46/50 = 0.92
B	50 myelinli akson	83	83/50 = 1.66
C	50 myelinli akson	76	76/50 = 1.52
D	50 myelinli akson	62	62/50 = 1.24
E	50 mitokondri	99	99/50 = 1.98
F	50 mitokondri	100	100/50 = 2
G	50 mitokondri	100	100/50 = 2

2) 10⁻³ µ Grubu

10 ⁻³	Sayılan Madde	Genel Skor	Ortalama Skor
A	x 2500 büyütmede 50 farklı saha	40	40/50 = 0.80
B	50 myelinli akson	77	87/50 = 1.54
C	50 myelinli akson	70	70/50 = 1.40
D	50 myelinli akson	57	57/50 = 1.14
E	50 mitokondri	88	88/50 = 1.76
F	50 mitokondri	84	84/50 = 1.68
G	50 mitokondri	86	86/50 = 1.72

4) 10⁻⁴ Grubu

10 ⁻⁴	Sayılan Madde	Genel Skor	Ortalama Skor
A	x 2500 büyütmede 50 farklı saha	39	39/50 = 0.78
B	50 myelinli akson	78	78/50 = 1.56
C	50 myelinli akson	68	68/50 = 1.36
D	50 myelinli akson	56	56/50 = 1.12
E	50 mitokondri	86	86/50 = 1.72
F	50 mitokondri	82	82/50 = 1.64
G	50 mitokondri	85	85/50 = 1.70

3) 10⁻⁵ Grubu

10 ⁻⁵	Sayılan Madde	Genel Skor	Ortalama Skor
A	x 2500 büyütmede 50 farklı saha	29	29/50 = 0.58
B	50 myelinli akson	75	75/50 = 1.50
C	50 myelinli akson	62	62/50 = 1.24
D	50 myelinli akson	49	49/50 = 0.98
E	50 mitokondri	51	51/50 = 1.02
F	50 mitokondri	76	76/50 = 1.52
G	50 mitokondri	72	72/50 = 1.44

TARTIŞMA

Spinal kord travmaları günümüzde her boyutu ile önemini korumaya devam etmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar doku destrüksiyonunun iskemiye bağlı olabileceğini düşündürmektedir (5,6). Histopatolojik olarak beyaz ve gri cevherde 24 saat içinde gelişen hemoraji çok önemlidir. Travma sonrası olayın ciddiyetini arttıran en önemli nedenlerden birisi olan post travmatik iskeminin önlenmesi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (7). Bugün için lipid peroksidasyonunu önleyerek koruyucu etkisi gösterilen yüksek doz steroid dışında, etkinliği kanıtlanmış bir ajan yoktur. Bu çalışmada kullanılan dipyrone'un spinal korddaki koruyucu etkinliğinin mekanizması açıklanamamakla beraber, bu etkinliğin spazmolitik etki nedeni ile oluştuğunu destekler nitelikte bulgular elde edilmiştir.

Deneysel spinal kord yaralanması sonrası histopatolojik çalışmalar, spinal kord otodestriksiyonuna yönelik önemli bilgiler vermektedir. Spinal kord yarala-

namsı sonrası 24. saatte oluşan ilerleyici hemorajiler tesbit edilmiştir. Travma sonrası patolojik olarak kordda hemorajik nekroz, lipid peroksidasyonu, lipid hidrolizi, kalsiyumun ekstrasellüler potasyum iyonunun ise intrasellüler olarak azalması, doku oksijenasyonundaki düşmeye bağlı olarak iskemi, ödem, inflamasyon, polimorf nüveli lökositlerde nöronofaji izlenir. Tüm bu olgulardan sorumlu olan gerçek mekanizma bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar olayın genellikle mekanik ve vasküler komponentlerin birlikte etkisiyle olduğunu göstermektedir. Kord travması sonrası olayı tetikleyen ikincil mekanizmaların önlenmesi travmanın ciddiyetini bir ölçüde engelleyebilir. Dipyrone'un 10^{-3} grubundan başlayarak daha etkili olan dozundaki koruyucu etkisinin mekanizmasının vasküler düz kas hücreleri üzerine olan etkisi dolayısıyla oluştuğu düşünülmektedir. Bu savın desteklenmesi için kord damar duvarı düz kas hücrelerinin çap ölçümleri için yapılan çalışmamız devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Lewy M, Zylber KE, Rosankranz B. Clinical pharmacokinetics of dipyrone and its metabolites. *Clin Pharmacokinetics*, 1995;28:216-231.
2. Neil-Dwyer G, Mee E, Dorrance D, Lowe D. Early intervention with nimodipine in subarachnoid haemorrhage. *Eur Heart J*, 1987;8:41-47
3. Ergun H, Ayhan H, Tulunay FC. Pharmacological characterization of metamizol-induced relaxation in phenylephrine precontracted rabbit thoracic aorta smooth muscle. *Gen Pharmacol*, 1999; in press
4. Pluto RM, Oldfield EH, Boock RJ. Reversal and prevention of cerebral vasospasm by intracarotid infusion of nitric oxide donors in a primate model of subarachnoid haemorrhage. *J Neurosurg*, 1997;87:746-751.
5. Griffith IR. Spinal cord blood flow after acute experimental cord injury in dogs. *J Neurol Sci*, 1976;27:247-259.
6. Young W, Flamm ES. Effects of high dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials, and extracellular calcium in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg*, 1982;57:667-673
7. Attar A, Tuna H, Sargon M, Yüceer N, Türker K, Egemen N. Early protective effects of iloprost after experimental spinal cord injury. *Neurolog. Research*, 1998;20:353-359.