

Deneysel Kafa Travmasında Laktik Asidozun Lipid Peroksidasyonuna Etkisi

The Effect Of Lactic Acidosis On Lipid Peroxidation In Experimental Head Injury

CENGİZ KUDAY, CEYHAN ÖZBEK, MURAT HANCI, MUSTAFA UZAN, MEHMET YAŞAR KAYNAK, FATMA ÖZLEN, KORAY GÜMÜŞTAŞ, AHMET BELGE, EMİNE KÖKOĞLU

I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı, (CK, CÖ, MH, MU, MYK, FÖ),
Biyokimya Anabilim Dalı, (KG, AB, EK), İstanbul

Özet : Sıçanlarda oluşturulan deneysel kafa travması modelinde hiperliseminin yarattığı aşırı laktik asidozun doku yıkım zincirinin son basamağı olan lipid peroksidasyonuna etkisi incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda travma sonrası dönemde hiperliseminin laktik asidozu belirgin şekilde artırdığı gözlenirken lipid peroksidasyonundaki artış, istatistik anlamlılık boyutunda olmamıştır. Dolayısı ile bu iki süreç arasında anlamlı bir bağlantı kurulamamıştır.

Anahtar Kelimeler : Kafa travması, laktik asidoz, lipid peroksidasyonu

Summary : This study was designed to evaluate the effect of increased lactic acidosis which was induced by hyperglycemia, on lipid peroxidation which is last stage of tissue damage in experimental head injury in rats. The results show that hyperglycemia resulted in significantly increased levels of tissue lactic acidosis in the posttraumatic period but correlation between high levels of lactic acidosis and lipid peroxidation was not statistically significant.

Key Words : Head injury, lipid peroxidation, lactic acidosis

GİRİŞ

Kafa travmalarının tedavisi konusundaki çalışmalar insanlık tarihi kadar eski olmasına rağmen gerek fizyopatolojisinde gerekse tedavisinde birçok nokta tam olarak açıklanamamıştır. Özellikle ağır kafa travmalarında ikincil beyin hasarının oluşumunda başlıca etken olan lipid peroksidasyonun engellenmesi yada azaltılabilmesi günümüzde en çok araştırılan konulardan birisidir (5). Lipid peroksidasyonu doku yıkım zincirinin son halkası olması nedeniyle bu durumu açıklığa kavuşturulabilmesi için zincirin daha önceki halkalarının çözülebilmesi gerekmektedir.

Kafa travmaları konusunda son yıllarda oluşum mekanizması ve nöral dokuya olan etkisi kısmen de olsa aydınlatılabilmiş bir başka konu da travma sonrası dönemde ortaya çıkan beyin dokusu laktik asidozudur (1). Laktik asidozun doku yıkımını artırdığı dolayısı ile engellenmesi gereken bir süreç olmasına karşın hangi yolla doku yıkımını artırdığı açıklıkla ortaya konulamamıştır (6).

Bu noktadan yola çıkarak travma sonrasında beyin dokusu laktik asidozu ile doku yıkımının son basamağı olan lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

GEREÇLER VE YÖNTEM

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıbbi Araştırma Merkezinden elde edilen 26 adet 200-250 g ağırlığında Sprague Dawley cinsi, aynı yaş grubunda erkek sıçanlar kullanıldı. Tüm sıçanlardan kuyruk venası yolu ile 1 ml kan alınarak bazal kan şekeri düzeyleri saptandı. İlk iki gruba Hall tarafından kullanılan (8) alete eşdeğer olan bir alet ile 38 cm yükseklikten 100 g ağırlık serbest düşmeye bırakılarak standart kafa travması oluşturuldu. Üçüncü grup ise kontrol grubu olarak kullanıldı ve bu grupta travma oluşturulmadı. Travmadan hemen sonra 1. gruba (n=10) intraperitoneal olarak 5 cc % 20 dekstroz, 2. gruba (n=10) ise 5 cc % 0.9 sodyum klorür verildi, 3. gruba (n=6) ise herhangi bir sıvı verilmedi. Birinci

saatin sonunda tüm deneklerden alınan kan örneklerinden spektrofotometrik olarak kan şekeri düzeyleri ölçüldü. Yapılan ölçümler sonrası sıçanlar öldürüldü. Çıkarılan beyinler serum fizyolojik içinde -70°C 'de derin dondurucuda 7 gün saklandı. Beyin total homojenatında laktik asid tayini UV-enzimatik kit yöntemi ile Boehringer-Mannheim (7) lipid peroksid oluşum miktarı ise TBA (tiyobarbitürik asit) yöntemi ile ölçüldü (13).

BULGULAR

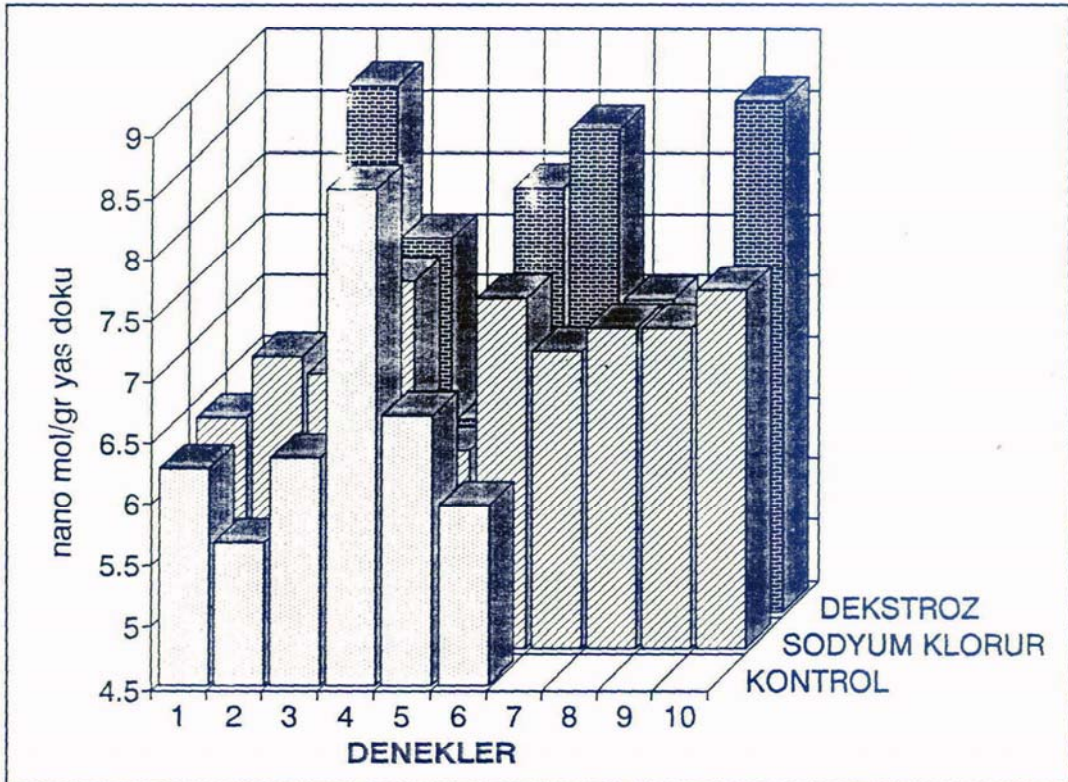
Kontrol grubu olarak kullanılan sıçanlarda 1. saatte ölçülen kan şekeri 159 ± 10 mg/dL, %0.9 sodyum klorür uygulanan gruptaki sıçanlarda 164 ± 15 mg/dL, %20 dekstroz uygulanan grupta ise 375 ± 31 mg/dL olarak saptandı. Kafa travması uygulanıp travma sonrası dönemde %0.9 sodyum klorür veya %20 dekstroz tatbik edilen sıçanlarda ve kafa travması yapılmayan kontrol gurubu sıçanlarda ölçülen serebral doku laktik asit ve malonil dialdehid düzeyleri incelendi. İncelemelerde SPSS PC istatistik çözüm paketi kullanıldı.

Her gruptaki laktik asidoz ve malonil dialdehid düzeyleri temel alınarak ve olgu sayısı gözönünde tutularak ANOVA testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Malonil dialdehid:

Serebral dokuda malonil dialdehid düzeyi ölçüldüğünde kontrol grubunda $6.561.02$ nmol/g yaş doku, travma sonrası %20 dekstroz verilen grupta: 7.14 ± 1.37 nmol/g yaş doku, travma sonrası %0.9 sodyum klorür verilen grupta $6.940.44$ nmol/g yaş doku bulundu. Kontrol grubu ile %0.9 NaCl grubu karşılaştırıldığında $F = 1.06$, $p = 0.32$; kontrol grubu ile dekstroz gurubu karşılaştırıldığında $F = 0.76$, $p = 0.39$; %0.9 sodyum klorür grubu ile %20 dekstroz grubu karşılaştırıldığında $F = 0.17$, $p = 0.67$ olarak saptandı.

Travma sonrası dönemde sodyum klorür ve dekstroz verilen gruplarda ölçülen malonildialdehid düzeylerinin gerek birbirleriyle gerekse kontrol grubuyla karşılaştırılmasında istatistik anlamlılık boyutunda farklılık göstermedikleri gözlemlendi (Grafik 1).



Grafik 1 : Dokuda malonil dialdehid düzeyleri kontrol grubunda 6.56 ± 1.02 nmol/g, sodyum klorür uygulanan grupta 6.94 ± 0.44 nmol/g, dekstroz uygulanan grupta 7.14 ± 1.02 nmol/g olarak ölçüldü.

Laktik Asit:

Serebral dokuda laktik asit ölçüldüğünde kontrol grubunda 3.420.37 mikromol/g yaş doku bulundu. Travma sonrası dönemde sodyum klorür verilen grupta 4.960.58 mikromol/g yaş doku, travma sonrası dönemde dekstroz verilen grupta 6.950.79 mikromol/g yaş doku bulundu. Kontrol grubu ile % 0.9 sodyum klorür grubu karşılaştırıldığında $F = 33.46$, $p = 0.00001$; kontrol grubu ile dekstroz grubu karşılaştırıldığında $F = 101.26$, $p = 0.00001$ olarak saptandı. % 0.9 sodyum klorür grubu ile dekstroz grubu karşılaştırıldığında $F = 40.42$, $p = 0.00001$, olarak saptandı (Grafik 2). Travma sonrası dönemde sodyum klorür ve dekstroz verilen gruplarda ölçülen laktik asit seviyelerinin gerek birbirleriyle gerekse kontrol grubuyla karşılaştırılmasında istatistik olarak çok ileri derecede anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi.

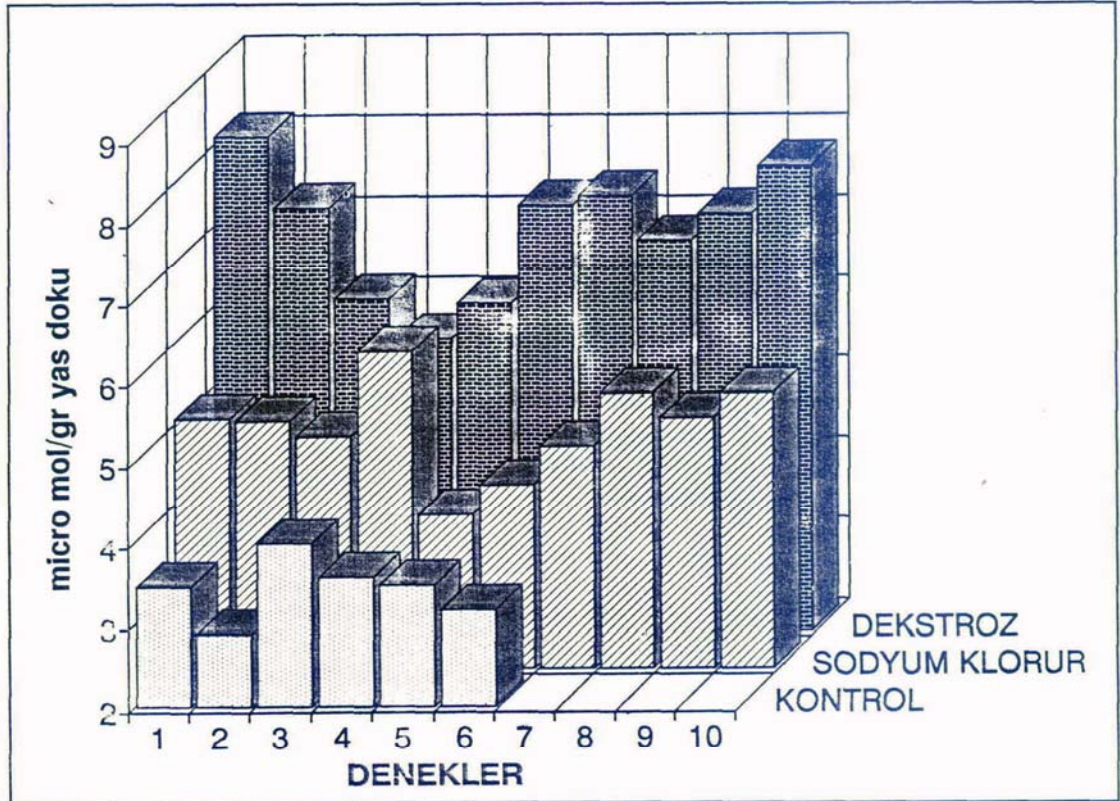
Korelasyon:

Travma sonrası dönemde lipid peroksidasyonun indirekt göstergesi olan malonil dialdehid düzeyi ile

doku laktik asit düzeyi arasındaki korelasyon incelendiği zaman (-0.0602) düzeyinde korelasyon saptanmış olup, bu durum pratik olarak lipid peroksidasyonu ile laktik asidozun birbirinden bağımsız olarak ortaya çıktığını, diğer bir deyişle anlamlı bir bağlantının bulunmadığını göstermektedir.

TARTIŞMA

Kafa travmasından sonra ortaya çıkan tablonun fizyopatolojisi ve yeni tedavi yöntemlerinin araştırılması için klinik ve otopsi çalışmalarının yanı sıra deneysel kafa travması modellerine de gerek vardır. Deneysel kafa travması oluşturma modelleri akselerasyon ve kompresyon olmak üzere iki genel gruba ayrılmaktadır (10). Akselerasyon modelinde sabit duran kafaya hareketli bir nesnenin çarpması veya aksine hareket halindeki kafanın sert engele çarpması ile oluşturulmaktadır. Kompresyon modeli ise sabitlenmiş kafatası üzerine mekanik güçlerin uygulanması esasına dayanmaktadır. Bizde bu çalışmamızda bir kompresyon modeli olan Hall aygıtı ile kafa travmasını gerçek-



Grafik 2 : Dokuda laktik asit düzeyleri kontrol grubunda 3.42 ± 0.37 $\mu\text{mol/g}$, sodyum klorür uygulanan grupta 4.96 ± 0.58 $\mu\text{mol/g}$, dekstroz uygulanan grupta 6.95 ± 0.79 $\mu\text{mol/g}$ olarak ölçüldü.

leştirdik. Kafa travması sonrası oluşan hiperglisemi hipoksik şartlar altında glikozun, anaerobik glikolizisi sonucunda laktik asidoz oluşumuna sebep olur ayrıca dışarıdan verilen dekstroz hiperglisemi ve laktik asidozu daha da artırır. Laktik asidoz sonrası hücre içerisinde hidrojen iyonlarının biriktiği bunun sonucunda da intrasellüler asidozun meydana geldiği daha önce bildirilmiştir. İntrasellüler asidozun hücre içine Ca^{+2} girişini arttıran lipolizise, sitotoksik yağ asitleri ile glutamatın salınımına sebep olan bir olaylar zincirini aktive ettiğine inanılır (12). Bu olaylar zinciri lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır. Lipid peroksidasyonu, son ürünleri olan lipid hidroperoksidlerinin aldehit, karbonil bileşikleri, etan ve propana dönüşmesi ile sonuçlanır. Biz de çalışmamızda daha önceden hiç bakılmamış olan beyin dokusundaki laktik asid miktarını ölçerek doku pH'sını, lipid peroksidasyonunun son ürünlerden olan malonil dialdehidin ölçümü ile de lipid peroksidasyonunu saptadık.

Busse ve ark.(4) ve Aydın ve ark. (2) kafa travması geçiren hastalar üzerinde yaptığı çalışmalar sonucunda beyin omirilik sınırında hiperglisemi sonrası oluşan laktik asidozun travma sonrası ilk 24 saat içerisinde maksimum seviyelerde olduğu ortaya konmuştur. Lipid peroksidasyonun değerlendirilmesi amacı ile yapılan çalışmalarda ise sıçanlarda malonil dialdehid düzeylerinin travmanın 15. dakikasına yükselmeye başlayıp 1.saate maksimum düzeylerde olup 2.saate ise düşmeye başladığı gösterilmiştir (11). Laktik asid miktarı ve malonil dialdehid ölçümleri için biz de travma sonrası 1. saate denekleri feda ederek doku örnekleri aldık.

Travma oluşturulmayan kontrol grubu ile travma sonrası %0.9 sodyum klorür ve yine travma sonrası %20 dekstroz verilen gruplar doku laktik asidozisi açısından değerlendirildiğinde istatistiksel anlamda farklılık mevcuttur; kontrol grubu ile %0.9 sodyum klorür grubu karşılaştırmasında bu anlamlılık ileri derecede ($p < 0.00001$) olup %0.9 sodyum klorür ve %20 dekstroz verilen gruplar karşılaştırıldığında ise doku laktik asidozisinin %20 dekstroz grubunda daha fazla olduğu gösterilmiştir ($p < 0.00001$). Bu veriler bize travmanın laktik asidozise sebep olduğu ve hipergliseminin de oluşan bu laktik asidozisi arttırdığı yönündedir. Beyin dokusunda ciddi kafa travması sonucu lipid peroksidasyonu oluşmaktadır ve serebral perfüzyon bozukluklarıyla sıkı ilişkisi olduğu bilinen sekonder travma sonrası beyin hasarının son

ortak yolunda lipoperoksidasyonu anahtar bir faktördür (3). Akut medulla spinalis ve beyin hasarında erken lipid peroksidasyonu ile ilgili deliller tiobarbitürik asit reaksiyonundan elde edilebilir (peroksidiye edilmiş doymamış yağ asitlerinin artmış konsantrasyonlarda yıkım ürünleri). Medulla spinalis hasarı ve beyin hasarı malonil dialdehidin artmış üretimini göstermiştir (9). Çalışmamızda elde edilen malonil dialdehid ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel anlam gösteren fark saptanmamakla birlikte travmanın malonil dialdehid düzeyini arttırdığı ve özellikle %20 dekstroz verilen grupta en yüksek düzeylere ulaştığı gözlenmiştir. Malonil dialdehid ile laktik asid düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı korelasyon izlenmemiştir.

SONUÇ

Doku laktik asidozisi ile lipid peroksidasyonu arasında istatistik anlamlılık düzeyinde korelasyon olmaması:

1. Oluşturulan kafa travması ve hiperglisemi laktik asidozise sebep olurken lipid peroksidasyonu yaratmamıştır.
2. Oluşturulan kafa travması ve hiperglisemi laktik asidozise sebep olurken lipid peroksidasyonuna da sebep olmuş ancak devreye giren savunma sistemleri tarafından artması engellenmiştir.
3. Laktik asidoz ile lipid peroksidasyonu arasında bir bağlantı yoktur şeklinde açıklanabilir.
4. Oluşturulan kafa travması ve hipergliseminin laktik asidozu ileri derecede arttırması ve malonil dialdehid düzeylerinde de istatistiksel anlamlılık boyutuna ulaşmamakla birlikte buna paralel bir artış gözlenmesi nedeniyle başka bir araştırmacı (12) tarafından da belirtildiği gibi laktik asidoz ile lipid peroksidasyonu arasında bir bağıntı olduğu düşünülebilir. Lipid peroksidasyonunda laktik asidoza paralel artış olmaması ise lipid peroksidasyonunda devreye giren savunma sistemleri tarafından önlenmesi ile açıklanabilmektedir. Varılan bu sonuçların klinik uygulaması kafa travmalarında laktik asidoz oluşumunun engellenmesi için hipoksi ve hipergliseminin önlenmesi ile artabilecek lipid peroksidasyonunun mümkün olan en aşağı düzeyde tutulmasıdır.

KAYNAKLAR

1. Anderson BJ, Marmarou A: Isolated stimulation of glycolysis following traumatic brain injury. Hoff JT, Betz AL (eds): Intracranial Pressure VII içinde Berlin, Springer-Verlag, s. 575, 1989
2. Aydın IH, Alemdağ S, Tümer B, Aydın Y, Akın V, Ak HE: Kafa travmalarında laktik asidin prognostik değeri. Atatürk Ü. Tıp Bül 17: 443-453, 1985
3. Bochicchio M, Latronico N, Zani DG, Mariotti M, Morandini L, Acquarolo AM, Candiani A: Free radical-induced lipoperoxidation and severe head injury. A clinical study. Intensive Care Med 16:444-447, 1990
4. Busse O, Feinster H, Dorndrof W : Die Bedeutung der Laktatkonzentration im Zerebrospinalen Liquor für die Prognose des Hirninfarkes. Med Welt 29,31: 1234-1238, 1980
5. Caron MJ, Hovda DA, Becker DP: Changes in the treatment of head injury (ed.) Eisenberg HM, Aldrich EF, Neurosurgery Clinics of North America içinde W.B Saunders Co Harcourt Brace Jovanovich, Inc, Philadelphia s. 483-491, 1991
6. Demopoulos HB, Flamm ES, Selikman ML, Pietronigro DD: Oxygen free radicals in central nervous system ischemia and trauma. Author AP (ed): Pathology in Oxygen içinde New York, Academic Press, s. 127-155, 1982
7. Gawehn K: In methods of enzymatic analysis (Bergmeyer HU, ed.) 3 rd ed, Vol VI, pp:588-592. Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel, 1984
8. Hall ED, Yonkers PA, McCall JM, Braughler JM: Effects of the 21-aminosteroid U74006F on experimental head injury in mice. J Neurosurg 68:456-461, 1988
9. Ikeda Y, Long DM: The molecular basis of brain injury and brain edema: The role of oxygen free radicals. Neurosurgery 27:1-11, 1990
10. Mustafa F: Deneysel kafa travmasında nimodipinin etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1992
11. Siesjö BK, Wieloch T: Cerebral metabolism in ischaemia: Neurochemical basis for therapy. Br J Anaesth 57:47-62, 1985
12. Slater TF: Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. Method Enzymol 105:283-293, 1984
13. Saunders RD, Dugan LL, Demediuk P, et al: Effects of methyl prednisolone and the combination of alfa tocoferol and selenium on arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation in traumatized spinal cord tissue. J Neurochem 49:24-31, 1987