

TAVŞANDA SPİNAL KORD TRAVMASININ NEDEN OLDUĞU ERKEN OXİDATİF STRESE KARŞI DANTROLENİN MESANE ÜZERİNE KORUYUCU ETKİLERİ

PROTECTIVE EFFECTS OF DANTROLENE AGAINST SPINAL CORD INJURY INDUCED EARLY OXIDATIVE DAMAGE IN RABBIT BLADDER

İbrahim KELEŞ¹, Mehmet Fatih BOZKURT², Abdurrahman Fatih FIDAN³, Mustafa KARALAR¹,
Soner ÇOBAN⁴, Barış DENK³

¹Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

⁴Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şevket Yılmaz Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği

ÖZ

AMAÇ: Spinal kord travmasından sonra mesanede görülen değişiklikler üzerine erken dönem dantrolen tedavisinin etkinliğinin araştırılması.

GEREÇ VE YÖNTEM: Spinal kord travmasının neden olduğu tavşan mesanesindeki oksidatif hasara karşı dantrolenin erken dönemdeki olası koruyucu etkileri araştırıldı. Toplam 38 hayvan 5 gruba ayrıldı, 1. grup kontrol, 2. grup spinal travma (ST), 3. grup ST+dantrolen 0. saat, 4. grup ST+dantrolen 1. Saat ve 5. grup ta ST+dantrolen 4. saat olarak belirlendi. Travmadan 24 saat sonra histopatolojik ve biyokimyasal inceleme yapılmak üzere anestezi altında tavşanların mesaneleri operasyonla çıkartıldı. Mesane dokusu ışık mikroskopunda incelendi. Ayrıca kan ve mesane dokusunda malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH) and nitrik oksid (NO) düzeylerine bakıldı.

BULGULAR: Spinal travma sonrası erken dönemde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında travma oluşturulan grupta ödem ve konjesyonda anlamlı artış vardı. Ödem ve inflamasyonu önlemede 3 ve 4. gruplarda dantrolen daha etkiliydi. Ancak 3, 4 ve 5. gruplarda dantrolenin konjesyonu azaltmadığı görüldü. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında MDA ve NO düzeylerinin yükseldiği GSH seviyesinin ise azaldığı görüldü. Travma sonrası azalan GSH seviyesini normale çekmede dantrolenin her 3 tedavi grubunun etkili olmadığı görüldü. Spinal travma sonrası artan MDA seviyesi 24 saat sonunda 5. grupta en düşük seviyelere indi.

SONUÇ: Erken dönemde verilen dantrolenin mesanede inflamasyon ve ödemi azaltmada etkili olduğu, travma sonrası azalan GSH seviyelerini normale yaklaştırmada ise etkin olmadığı söylenebilir. Sonuç olarak; dantrolen bozulmuş mesane morfolojisini düzeltmede yardımcı olabilir.

ANAHTAR KELİMELEER: Spinal kord travması, Dantrolen, Anti-inflamatuar, Antioxidan

ABSTRACT

OBJECTIVE: To investigate the effects of early dantrolene treatment of changes in bladder characteristics after spinal cord injury (SCI).

MATERIAL AND METHODS: We studied the possible protective effects of dantrolene on SCI-induced oxidative damage in bladder tissues of rabbit. We divided 38 rabbits into five groups; the control group (1), spinal cord injury (SCI) (2.group), SCI+dantrolene 0. Hour (3.group), SCI+dantrolene 1. Hour (4.group), SCI+dantrolene 4. Hour (5.group). After a 24 hour euthanasia the urinary bladder was removed for gross, histological and biochemical evaluation. Bladder tissues were investigated by light microscopy. Furthermore blood and tissue malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) were also determined.

RESULTS: Significant increase in congestion and edema was observed in the early period spinal trauma (SCI) group compared to control group. In groups 3 and 4, dantrolene was more effective in preventing edema and inflammation, whereas in groups 3, 4 and 5, dantrolene did not reduce congestion. MDA levels and NO levels increased and GSH levels were decreased in SCI group compared to controls. Dantrolene was not effective in all three treatment groups to normalize decreased GSH levels after trauma. It was seen that dantrolene was not effective in all three treatment groups to normalize the decreased GSH level after trauma. Increased levels of MDA after spinal trauma were found to be the lowest in group 5 given at the 4th hour of dantrolene.

CONCLUSIONS: It can be concluded that dantrolene given in the early period is effective in reducing inflammation and edema in the bladder and not effective in decreasing post-traumatic GSH levels to normal. As a result; dantrolene may be helpful in correcting impaired bladder morphology.

KEYWORDS: Spinal cord injury, Dantrolene, Anti-inflammatory, Antioxidant

Geliş Tarihi / Received: 03.07.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 22.07.2019

Yazışma Adresi / Correspondence: Doç.Dr.İbrahim KELEŞ

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı
drkeles@hotmail.com

GİRİŞ

Travmatik spinal kord yaralanması direk spinal korda lokalize akut enflamatuvar bir olaya neden olduğu kadar, biyokimyasal, moleküler ve hücrel değişikliklerle sistemik inflamatuvar cevap sendromunu tetikleyerek uzak organlarda (akciğer, böbrek, mesane karaciğer gibi) sekonder yaralanmalara neden olabilmektedir (1,2). İnflamasyon ve oksidatif stres, spinal kord hasarı sonrası oluşan patolojiyi alevlendiren temel iki faktördür (3). Travmayı takiben mesane kası ve sfinkter kaslarından beyine giden sinyaller ulaşamaz ve etkilenen kişilerde mesane dolduğunda idrar hissi oluşmaz. Bu mesane disfonksiyonu nörojenik mesane olarak adlandırılır. Klinik semptomları üriner inkontinans, mesaneyi boşaltma yeteneğinin kaybı, sık idrara çıkma ve üriner sistem enfeksiyonlarıdır (4). Dantrolen, endoplazmik retikulumda iskelet kasında (RyR1) ve nöronal hücrelerde (RyR3) lokalize ryanodin reseptör kalsiyum kanallarını bloke eden bir ilaçtır (5,6). Dantrolen sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum serbestleşmesini bloke ederek (7,8) klinik olarak malign hipertermi tedavisinde ve kas gevşetici olarak kullanılmaktadır (9,10). Aynı zamanda dantrolenin antioksidan ve anti inflamatuvar etkileri de vardır (11,13). Travmatik ve iskemik beyin hasarı oluşturulan birkaç hayvan modeli çalışmasında dantrolenin nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (14,15). Üstelik bu ilacın iskelet kası üzerinde relaksasyonda etkili olduğu, eksternal sfinkteri gevşeterek mesane boşlamasına karşı rezistansı azalttığı ve miksiyonun kontrolüne yardımcı olduğuna dair kanıtlar vardır (16,17). Bizde bu çalışmamızda travmatik spinal kord hasarı yapılan tavşan modelinde mesane hasarına karşı dantrolenin zamana bağlı etkilerini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan laboratuvar hayvanları bakım ve kullanım klavuzuna göre yapıldı (NIH Publication no: 85-23, revised 1996)

Etik Kurul Onayı:

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deney hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandı. (AKUHADYEK- 49533702/57).

Hayvanlar: Ağırlıkları 2.5-3 kg arasında değişen toplam 38 erkek Yeni Zelanda Tavşanı kullanıldı. Tavşanlar tek kişilik kafeslerde, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık, uygun sıcaklık ortamında ve deney hayvanları laboratuvarında standart beslemeye alındı.

İlaçlar: Dantrolen sodyum (Ryanodex vial 250 mg/20 ml Eagle Pharmaceuticals, USA), Ketamine Hydrochloride (Ketalar 50 mg/ml Pfizer, İstanbul/Turkey), 25 mg/kg ve Xylazine (Rompun 100 mg/ml, Bayer, İstanbul/Turkey) 5 mg/kg injection. Tüm ilaçlar steril izotonik (%0.9 NaCl) içerisinde sulandırıldı.

Çalışma Modeli ve İlaçların Verilmesi: Kontrol grubunda 6 diğer çalışma gruplarında 8 er tavşan olmak üzere randomize edildi. Kontrol grubu(Grup I) herhangi bir ilaç almadı, girişim yapılmadı. İkinci gruba spinal travma (ST) uygulandı, herhangi bir ilaç verilmedi. Bu gruba yalnızca 2 ml saline enjeksiyonu travmadan 1 saat sonra intraperitoneal(ip.) olarak verildi. Grup 3 (ST+DNT 0. saat) 10 mg/kg dantrolen ip. travmayla eş zamanlı verildi. Grup 4 (ST+DNT 1. saat) 10 mg/kg dantrolen ip. 2ml (travmadan 1 saat sonra) verildi. Grup 5 (ST+DNT 4. saat) 10 mg/kg dantrolen ip. 2 ml (travmadan 4 saat sonra) verildi.

Spinal Kord Travması Modeli: Uygun saha temizliği ve steril ortam sağlandı. Ketamin hydrochloride 25 mg/kg and xylazine 5 mg/kg im. uygulanarak anestezi verildi. Ketamin anestezi sırasında hayvanların spontan solunumu izlendi. Prone pozisyonunda tavşanlar operasyon masasına alındı, T6-L2 hizasında orta hat insizyonu yapılarak lamina ve transvers süreçler gözlendi, paravertebral kaslar künt disseksiyonla ayrıldı. Daha sonra T10 seviyesinde laminektomi yapıldı, takiben balon angioplasti kateteri (Medtronic-146.671, 2.0x20 mm, USA) T9 vertebra altından extradural sublaminar olarak yukarıya doğru ilerletilerek şişirildi ve 2 atmosfer basınçta 5 dakika basınç uygulandı. Daha sonra balon kateter çıkartıldı ve paravertebral fasya, cilt nonabsorbable sütürlerle kapatıldı. Spinal travmadan 24 saat sonra tüm gruplardaki tavşanlara tekrar (Ketamin hydrochloride 25 mg/kg ve xylazine 5 mg/kg im.) anestezi verilerek, orta hat abdominal insizyonla mesaneleri çı-

kartıldı. Daha sonra kardiyak ponksiyonla tüm hayvanlardan çalışma protokolü dahilinde heparinli ve heparinsiz tüplere kan örnekleri alındı. İşlem sonunda tüm hayvanlar derin anestezi altında sakrifiye edildi.

Biyokimyasal Analizler ve Kan Örneklerinin Saklanması: Tüm gruplarda hem kanda, hem de mesane dokusunda malondialdehid(MDA), glutathione (GSH) and nitrik oksit (NO) düzeylerine bakıldı. İki ml kan hemen pipetlendi, diğer bir tüpe de MDA ve GSH için örnek alındı. Kalan kan, plazma ayrılması için 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazma örnekleri NO analizi için -30 ° C'de saklandı.

Doku Homejanatı: Çalışma protokolünün sonunda, mesane dokuları hemen buzla (soğuk % 0.9 NaCl) yıkandı. Mesane dokusu 0.15 M Tris-HCl tamponu (pH 7.4)'nda yıkanarak yabancı dokulardan ayrıldı. Daha sonra bu dokular 0.15 M Tris-HCl buffer (pH 7.4) solüsyonunda 10% (w/v) homogenate verecek şekilde homojenize edildi. Daha sonra 4 °C'de 10 dakika boyunca 2100 g. de santrifüj edildi. Peletler nükleer fraksiyon gösterdi ve süpernatantlar 4 °C'de 20 dakika boyunca 18600 g'de santrifüjlemeye tabi tutuldu. Tüm homojenatın yanı sıra bütün fraksiyonlarda reaktif oksijen türlerinin oluşumu gözlemlendi.

Kan ve Mesane Dokusunda MDA, GSH ve NO Ölçümü: Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA ölçümü Ohkawa tarafından tanımlanan thiobarbiturik asit testi kullanılarak yapıldı (18). Bu metodun temeli thiobarbituric asitin verdiği reaksiyon sırasında oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. Azalan GSH seviyesinin ölçümü ise Beutler ve ark 'nın tarif ettiği tam kan ve doku homejanatlarında spektrofotometrede optik dansite ölçülerek yapıldı (19). Sonuçlar kan için mmol/ml, doku için mmol/g olarak verildi. Nitrik oksid düzeyleri ise Miranda ve ark. 'nın tarif ettiği "Vanadium-III-chloride-Griess Reaction" yöntemi kullanılarak nitrit ve nitrat düzeylerinin spontan saptanmasıyla ölçüldü (20,21).

Histopatolojik İnceleme: Histopatolojik inceleme tek patolog tarafından yapıldı. Mesane dokusu iki eşit parçaya ayrılarak; bunlardan biri biyokimyasal inceleme için -20 °C de saklandı, diğeri de tamponlanmış %10 formalin solüsyonunda fixe edildi. Rutin işlemlerden sonra para-

fin doku kesitleri hazırlanarak hematoksilin-eosin(H-E) ile boyandı. Daha sonra preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus CX41 attached Kameram® Digital Image Analyze System; Olympus, Tokyo, Japan) inflamasyon, ödem ve konjesyon açısından 0-6 arası puan verilerek değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 15.0 software package (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) programı kullanılarak yapıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks Testi ile değerlendirildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (SEM) olarak verildi. Normal dağılım gösteren parametreler için Anova testi, anormal dağılım gösterenler için ise nonparametrik Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İkili grupların karşılaştırılması ise Mann-Whitney U testi ile yapıldı. $p < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte spinal travma ile eş zamanlı 0. Saatte verilen DNT grubunda inflamasyon en az görüldü ($p=0.02$). Dantrolen 4. Saatte verilen grupta inflamasyon kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Yine aynı şekilde DNT 0. Saat verilen grupta ödem en az izlendi. Dantrolen 1 ve 4. Saatte verilen (4 ve 5. Grup) gruplarda kontrol grubuna göre ödem anlamlı derecede yüksekti, sırasıyla ($p=0.001$ ve $p=0.000$). Konjesyon açısından bakıldığında 2 ve 3. gruplar arasında fark yoktu ($p=1.0$). Ancak dantrolen 1 ve 4. saatte verilen gruplarda konjesyon belirgin derecede yüksekti ($p=0.001$ ve $p=0.000$) (**Tablo 1, Grafik 1**).

Tablo 1: Deney gruplarında MDA, GSH ve NO için kan ve dokunun histopatolojik ve biyokimyasal değerleri (Ortalama \pm SD).

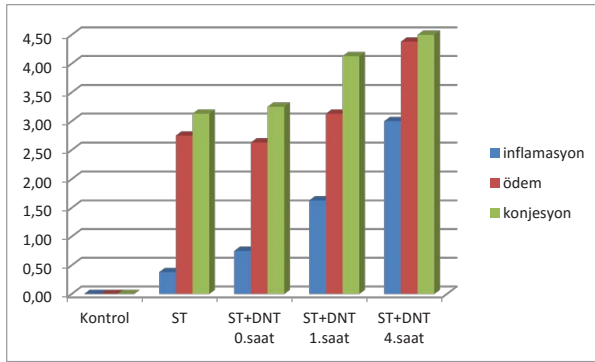
	Kontrol	ST	ST+DNT_0. saat	ST+DNT_1. saat	ST+DNT_4. saat	
Patoloji	Inflamasyon	0.0 \pm 0.0	0.38 \pm 0.74	0.75 \pm 0.7	1.63 \pm 1.92	3.0 \pm 2.44*
	ödem	0.0 \pm 0.0	2.75 \pm 0.7	2.63 \pm 0.74	3.13 \pm 0.83*	4.38 \pm 1.18*
	Konjesyon	0.0 \pm 0.0	3.13 \pm 0.35	3.25 \pm 0.7*	4.13 \pm 1.35*	4.5 \pm 1.41*
Kan	MDA (nmol/ml)	6.64 \pm 1.28	8.17 \pm 1.74	8.65 \pm 2.04	7.67 \pm 1.62	7.58 \pm 1.73
	GSH (mg/dl)	14.31 \pm 4.36	10.42 \pm 1.03	9.37 \pm 0.98*	10.4 \pm 2.05	9.91 \pm 1.38
Biyokimya	NO (μ mol/L)	9.69 \pm 1.73	13.1 \pm 2.42	13.27 \pm 2.95	13.22 \pm 2.24	13.07 \pm 0.99
	MDA (nmol/mg)	2.65 \pm 0.63	3.56 \pm 1.93	2.53 \pm 0.65	2.04 \pm 0.48	1.87 \pm 0.44
Doku Biyokimya (MESANE)	GSH (nmol/mg)	13.98 \pm 2.33	14.01 \pm 1.42	14.53 \pm 2.19	17.78 \pm 3.67	15.98 \pm 2.87
	NO (μ mol/mg)	17.4 \pm 3.87	18.6 \pm 6.54	20.6 \pm 9.01	15.6 \pm 2.16	15.73 \pm 2.02

ST: Spinal travma DNT: Dantrolen, MDA: Malondialdehid, GSH: Glutatyon, NO: Nitrik oksit.

* $p < 0.05$ kontrol grubuna göre, $p \leq 0.01$ kontrol grubuna göre, $p \leq 0.001$ kontrol grubuna göre

Grafik 1: Tüm gruplarda mesanede inflamasyon, ödem ve konjesyon'un karşılaştırılması

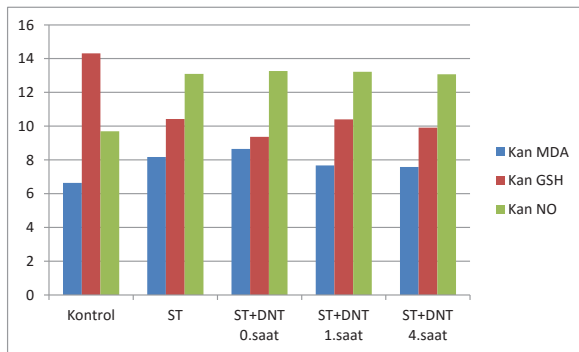
ST: Spinal travma **DNT:** Dantrolene



Kan biyokimyası incelendiğinde; spinal travma sonrası MDA düzeylerinde artma olduğu, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.31$). Travma sonrası artan MDA seviyelerini azaltmada her 3 DNT grubu arasında fark yoktu (Tablo 1). Spinal travma sonrası kanda GSH seviyesinin kontrol grubuna göre azaldığı görüldü. Ancak azalan bu GSH seviyelerini yükseltmede DNT'nin tüm tedavi zamanlarının başarılı olmadığı görüldü. Spinal travma sonrası kan NO düzeyinde kontrol grubuna göre belirgin yükseklik vardı, ancak bu yükseklik tüm tedavi gruplarında ilerleyen zamanda da devam etti: 2, 3, 4 ve 5. gruplarda NO seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p=0.2$). (Tablo 1, Grafik 2).

Grafik 2: Tüm gruplarda kan MDA, GSH ve NO düzeylerinin karşılaştırılması

ST: Spinal travma **DNT:** Dantrolen, **MDA:** Malondialdehid, **GSH:** Glutatyon, **NO:** Nitrik oksit.

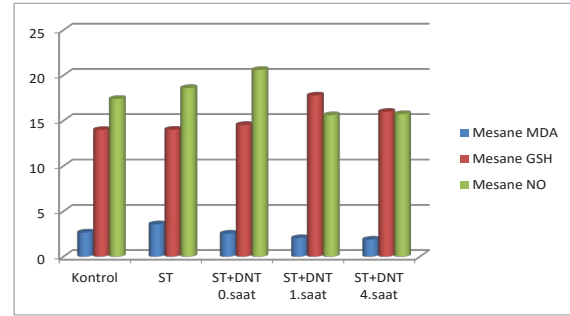


Travma sonrası mesane dokusunda artan MDA düzeyleri, DNT 0. Saatten başlayarak DNT 4. Saatte verilen grupta en düşük seviyelere inmiştir. Ancak tüm gruplar arasında istatistiksel olarak fark çıkmamıştır ($p=0.07$). Mesane dokusundaki GSH düzeylerine bakıldığında en yüksek değer 4. grupta görülmüş, fakat bu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.09$). Spinal

travmadan sonra mesane dokusunda NO hafif derecede artmakla birlikte; tüm gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p=0.31$) (Tablo 1, Grafik 3).

Grafik 3: Tüm gruplarda mesane MDA, GSH ve NO düzeylerinin karşılaştırılması

ST: Spinal travma **DNT:** Dantrolen, **MDA:** Malondialdehid, **GSH:** Glutatyon, **NO:** Nitrik oksit



TARTIŞMA

Spinal kord travmaları hala günümüzde önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaya devam etmektedir. Literatüre bakıldığında Amerika Birleşik Devletlerinde yılda kabaca 12.000 yeni spinal travma vakası görülmektedir (22). Spinal kord yaralanması sonrası hastalarda ciddi nörolojik hasar ve multiple organ disfonksiyonları ortaya çıkmaktadır (23,24). Travmada primer hasar spinal kordda olmakla birlikte birçok hastada nörojenik hasar sonucu sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna bağlı olarak uzak organlarda fonksiyon bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Bunlardan bazıları kardiyovasküler sistem bozukluğuna bağlı ortostatik hipotansiyon, otonomik disrefleksi, pulmoner ödem, iskelet kaslarında spastisite ve atrofi, nörojenik barsak disfonksiyonu, üriner sistem komplikasyonu olarak nörojenik mesane, böbrek hasarı ve üriner sistem enfeksiyonudur (23). Sistemik inflamatuvar yanıt sendromunun oluşmasında şüphesiz oksidatif stresin rolü büyüktür. Bu sistemik inflamatuvar cevabın inhibe edilmesiyle nörojenik hasarın iyileşmesine katkıda bulunabilir. Dantrolen günümüzde bu amaçla kullanılmaktadır (23). Ryanodin reseptör antagonisti olan dantrolen kalsiyumun hücre içi salınımını bloke ederek anti-inflamatuvar ve nöroprotektif etki gösterir (25). Bu tür spinal travmalarda hastaya yapılan erken müdahale ve tedaviler ileride gelişebilecek sekelleri en aza indirmektedir. Bu çalışmada dantrolenin zamana bağlı koruyucu etkileri araştırıldı. Çalışmamızda travmayla eş

zamanlı erken dönemde verilen dantrolenin mesanedeki inflamasyon ve ödemi azaltmada daha etkili olduğunu gördük. Torres ve ark. ları da dantrolen 10 mg ile yaptıkları çalışmalarında spinal travma sonrası rat mesanesinde hemoraji ve inflamasyonun belirgin derecede azaldığını göstermişlerdir (26). Spinal kord travması sonrası ortaya çıkan lipid peroksidasyonu nöronal dejenerasyon oluşumun tetikleyen önemli mekanizmalardan biridir. Lipid peroksidasyonun önlenmesi nörolojik iyileşme için iyi bir gösterge olabilir. Malondialdehid reaktif oksijen radikallerinin membran lipidlerini parçalamasıyla ortaya çıkar, bu nedenle MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir (27).

Aslan ve ark. ları tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışma dantrolenin spinal kord yaralanması sonrası ortaya çıkan lipid peroksidasyonunu önlediğini ve enzimatik-nonenzimatik defans mekanizmasını güçlendirdiğini göstermiştir (27). Biz de çalışmamızda travma sonrası MDA düzeylerinin kan ve mesane dokusunda hafif derecede arttığını gözlemledik, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Dantrolen 4. saatte verilen tedavi grubunda MDA seviyesi en düşük olarak gözlemlendi.

Glutasyon önemli bir hücre içi antioksidan olup thiol içeren bir tripeptiddir. Oksidatif stres sonrası GSH seviyelerinin azaldığı bilinmektedir. Ateş ve ark. ları spinal kord yaralanması yaptıkları hayvan modelinde metilprednizolon tedavisiyle GSH seviyelerinde anlamlı bir artış saptamışlardır (28). Ancak biz çalışmamızda mesane dokusunda GSH düzeylerinde hafif bir anlamlı olmayan artma, kanda da hafif bir azalma izledik. Aslan ve ark. ları da çalışmalarında spinal travma sonrası spinal kord dokusunda ve serebro-spinal sıvıda GSH seviyelerinde anlamlı bir artış olmadığını rapor etmiştir (27). Biz dantrolen 1 ve 4. saatte verilen tedavi gruplarında mesane dokusunda hafif düzeyde bir GSH artışı izledik, ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Nitrik oksit inorganik serbest radikal bir gaz moleküldür ve nitrik oksit sentaz enzimiyle L-argininden sentezlenir (29). Nitrik oksitin hem antioksidan hem de prooksidan özelliklere ilaveten lipid peroksidasyonu ile ilgili de zincir kırıcı bir özelliği vardır (30). Nitrik oksitin aşırı yükselmesi dokular için zararlı olabilir (30,31).

Yapılan bir çalışmada spinal kord travması sonrasında metilprednizolon verilen bir grupta NO seviyelerinde anlamlı bir düşme saptanmıştır (28).

Yine tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada spinal travma sonrası DNT verilen grupta kan ve serebro-spinal sıvı arasında NO düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır (27). Biz de çalışmamızda spinal travma sonrası NO düzeylerinin kanda hafif-orta derecede yükseldiğini, ancak bu yüksekliğin DNT tüm tedavi gruplarında aynı şekilde devam ettiğini gözledik. Mesane dokusunda ise travma sonrası NO' in arttığını, DNT 1 ve 4. Saatte verilen gruplarda düşme eğilimi göstererek kontrol grubundan daha alt seviyelere indiğini gördük, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Özetle; spinal travma sonrası erken dönemde verilen DNT' nin mesanede inflamasyon ve ödemi azaltabildiği görüldü. Ancak travma sonrasında kanda azalan GSH seviyelerini normale yaklaştırmada etkin olmadığı gözlemlendi. MDA ve NO seviyelerinin normalizasyonunda ise kısmen faydalı olduğu söylenebilir. Histopatolojik olarak da spinal kord yaralanması sonrası erken verilen DNT tedavisi (0 ve 1. saat) bozulmuş mesane morfolojisini düzeltmede yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Azbill RD, Mu X, Bruce-Keller AJ, Mattson MP, Springer JE. Impaired mitochondrial function, oxidative stress and altered antioxidant enzyme activities following traumatic spinal cord injury. *Brain Res.* 1997;15;765(2):283-90.
2. Bao F, Brown A, Dekaban GA, Omana V, Weaver LC. CD11d integrin blockade reduces the systemic inflammatory response syndrome after spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 2011;231(2):272-83.
3. Wrathall JR, Teng YD, Choiniere D. Amelioration of functional deficits from spinal cord trauma with systemically administered NBQX, an antagonist of non-N-methyl-D-aspartate receptors. *Exp. Neurol.* 1996;137(1):119-26.
4. Benevento BT, Sipski ML. Neurogenic bladder, neurogenic bowel, and sexual dysfunction in people with spinal cord injury. *Phys. Ther.* 2002;82:601-12.
5. S. Kobayashi, M.L. Bannister, J.P. Gangopadhyay, T. Hamada, J. Parness, N. Ikemoto, Dantrolene stabilizes domain interactions within the ryanodine receptor, *J. Biol. Chem.* 2005;280; 6580-7.
6. F. Zhao, P. Li, S.R. Chen, C.F. Louis, B.R. Fruen, Dantrolene inhibition of ryanodine receptor Ca²⁺ release channels. molecular mechanisms and isoform selectivity, *J. Biol. Chem.* 2001;276:13810-6.

- 7.** G. Cherednichenko, C.W. Ward, F. Feng, et al. Enhanced excitation-coupled calcium entry in myotubes expressing malignant hyperthermia mutation R163c is attenuated by dantrolene, *Mol. Pharmacol.* 2008;73:1203–12.
- 8.** A. Ward, M.O. Chaffman, E.M. Sorkin, Dantrolene. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in malignant hyperthermia, the neuroleptic malignant syndrome and an update of its use in muscle spasticity, *Drugs* 1986;32:130–68.
- 9.** T. Krause, M.U. Gerbershagen, M. Fiege, R. Weisshorn, F. Wappler, Dantrolene—a review of its pharmacology, therapeutic use and new developments, *Anaesthesia* 2004;59:364–73.
- 10.** S. Muehlschlegel, J.R. Sims, Dantrolene: mechanisms of neuroprotection and possible clinical applications in the neurointensive care unit, *Neurocrit. Care* 2009;10:103–15.
- 11.** H. Uc, üncü, S. Taysi, B. Aktan, M.E. Buyukokuroglu, M. Elmastas, Effect of dantrolene on lipid peroxidation, glutathione and glutathione-dependent enzyme activities in experimental otitis media with effusion in guinea pigs, *Hum. Exp. Toxicol.* 2005;24:567–71.
- 12.** M.E. Büyükokuroglu, Anti-inflammatory and antinociceptive properties of dantrolene sodium in rats and mice, *Pharmacol. Res.* 2002;45:455–60.
- 13.** R.S. Hotchkiss, D.F. Osborne, G.D. Lappas, I.E. Karl, Calcium antagonists decrease plasma and tissue concentrations of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-1 alpha in a mouse model of endotoxin, *Shock* 1995;3:337–42.
- 14.** M. Gwak, P. Park, K. Kim, et al., The effects of dantrolene on hypoxic-ischemic injury in the neonatal rat brain, *Anesth. Analg.* 2008;106:227–33.
- 15.** F. Li, T. Hayashi, G. Jin, et al. The protective effect of dantrolene on ischemic neuronal cell death is associated with reduced expression of endoplasmic reticulum stress markers, *Brain Res.* 2005;1048:59–68.
- 16.** R.H. Hackler, B.H. Broecker, F.A. Klein, S.M. Brady, A clinical experience with dantrolene sodium for external urinary sphincter hypertonicity in spinal cord injured patients, *J. Urol.* 1980;124:78–81.
- 17.** M. Takeda, I. Araki, T. Mochizuki, et al., The forefront for novel therapeutic agents based on the pathophysiology of voiding dysfunction and pharmacological therapy, *J. Pharmacol. Sci.* 2010;112:121–7.
- 18.** Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979;95:351-58.
- 19.** Beutler E, Dubon OB, Kelly M. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab. Clin. Med.* 1963;61:882-8.
- 20.** Somogyi M. A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. *J Biol. Chem.* 1930;86:55.
- 21.** Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001;5:62-71.
- 22.** Lasfargues JE, Custis D, Morrone F, et al. A model for estimating spinal cord injury prevalence in the United States. *Paraplegia* 1995;33:62-8.
- 23.** Sun X, Jones ZB, Chen XM, Zhou L, So KF, Ren Y. Multiple organ dysfunction and systemic inflammation after spinal cord injury: a complex relationship. *J Neuroinflammation* 2016;3(1):260.
- 24.** Wu J, Yang H, Qiu Z, Zhang Q, Ding T, Geng D. Effect of Combined Treatment with Methylprednisolone and Nogo-A Monoclonal Antibody after Rat Spinal Cord Injury. *J Int Med. Res.* 2010;38(2):570-82.
- 25.** Rosado IR, Lavor MSL, Alves EGL, Fukushima FB, Oliveira KM, Silva CMO, et al. Effects of methylprednisolone, dantrolene, and their combination on experimental spinal cord injury. *Int. J Clin. Exp. Pathol.* 2014;7(8):4617-26.
- 26.** Torres B, Serakides R, Caldeira F, Gomes M, Melo E. The ameliorating effect of dantrolene on the morphology of urinary bladder in spinal cord injured rats. *Pathol. Res. Pract.* 2011;115:207(12):775-9.
- 27.** Aslan A, Cemek M, Buyukokuroglu et al., Dantrolene can reduce secondary damage after spinal cord injury. *Eur. Spine J* 2009;18:1442-1451.
- 28.** Ates O, Cayli S, Altinoz E, et al., Effects of resveratrol and methylprednisolone on biochemical, neurobehavioral and histopathological recovery after experimental spinal cord injury. *Acta Pharmacologica Sinica* 2006;27(10):1317-25.
- 29.** Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl. J Med.* 1993;329 (27):2002-12.
- 30.** Taysi S, Koc M, Büyükokuroğlu ME, Altinkaynak K, Sahin YN. Melatonin reduces lipid peroxidation and nitric oxide during irradiation-induced oxidative injury in the rat liver. *J Pineal Res.* 2003;34(3):173-7.
- 31.** Von Euler M, Akesson E, Samuelsson EB, Seiger A, Sundstrom E. Motor performance score: a new algorithm for accurate behavioral testing of spinal cord injury in rats. *Exp. Neurol.* 1996;137(2):242-54.