

**Alfa Lipoik Asit ve Metilprednizolonun Spinal Kord
İskemi-Reperfüzyon Yaralanmasında
Koruyucu Etkilerinin Araştırılması.**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Mehmet Gazi BOYACI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Olcay ESER

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

AFYONKARAHİSAR 2012

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. Dr. Mehmet Gazi BOYACI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Olcay ESER

**Alfa Lipoik Asit ve Metilprednizolonun Spinal Kord
İskemi-Reperfüzyon Yaralanmasında Koruyucu
Etkilerinin Araştırılması.**

AFYONKARAHİSAR 2012

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, sanatlarının inceliklerini öğretmekten çekinmeyen, başta tez danışmanım Doç.Dr.Olcay ESER olmak üzere değerli hocalarım Doç.Dr.Adem ASLAN ve Yrd.Doç.Dr.Hamit Selim KARABEKİR ve kısa sürede, önemli tecrübeler kazandıran Doç.Dr.Murat COŞAR'hocalarıma,

Değerli asistan arkadaşlarıma, yoğun bakım, ameliyathane ve servis hemşire ve personellerine,

Tez çalışmamda bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Prof.Dr. Ahmet SONGUR, Prof.Dr.Sadık BÜYÜKBAŞ, Doç Dr.Çiğdem TOKYOL hocalarıma, Arştırma Görevlisi Buğra KOCA'ya, deneysel aşamada yoğun temposunda bana zaman ayıran Doç.Dr.Cevdet Uğur KOÇOĞULLARI hocam ve cerrahi işlemlerde fedakar özverili desteği ile Ahmet ÖZKAN'a , AKÜ Deney Hayvanları Uyg. ve Araşt.Merk. çalışanlarına,

Tez çalışmamıza verdikleri kurumsal destek (10.TIP.08) ve tüm aşamalarda yardımları nedeniyle; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tüm çalışanlarına,

Bu günlere gelmemde karşılıksız desteklerini esirgemeyen sevgili annem, babam,ablam, Emre ağabeyim e, Tez döneminde kızımız Elif in Bakımı gibi zor görevi üstlenen ve manevi desteğini esirgemeyen eşim Evrim Özkaraca Boyacı ya ve onur duyduğum tüm aileme şükranlarımı sunarım.

Dr. Mehmet Gazi BOYACI

AFYONKARAHİSAR 2012

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Tez başlığı : Alfa Lipoik Asit ve Metilprednizolonun
Spinal Kord İskemi-Reperfüzyon Yaralanmasında Koruyucu
Etkilerinin Araştırılması.

Tezi hazırlayan :Araş. Gör. Dr. Mehmet Gazi BOYACI

Tez Savunma Tarihi :16/01/2012

Tez Kabul Tarihi :16/01/2012

Tez Danışmanı :Doç. Dr. Olcay ESER

İş bu çalışma jürimiz BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM
DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç. Dr. Olcay ESER

Üye

Doç.Dr.Adem ASLAN

Üye

Yrd.Doç.Dr.Hamit Selim KARABEKİR

DEKAN

Prof.Dr.Mustafa SOLAK

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 OMURİLİK VE OMURİLİK YARALANMALARI.....	5
2.1.1 TARİHÇE.....	5
2.1.2. OMURİLİK EMBRİYOLOJİSİ.....	7
2.1.3. OMURİLİK ANATOMİSİ.....	9
2.1.3.1 OMURİLİĞİN VASKÜLER YAPISI.....	16
2.1.4 OMURİLİK YARALANMASI.....	19
2.1.4.1. EPİDEMİYOLOJİ.....	19
2.1.4.2 OMURİLİK YARALANMASINDA FİZYOLOGİ.....	20
2.1.4.2.1 PRİMER HASAR MEKANİZMALAR.....	20
2.1.4.2.2. SEKONDER HASAR MEKANİZMALAR.....	20
2.1.4.3 OMURİLİK YARALANMASINDA SINIFLAMA.....	23
2.1.4.3.1. SAYISAL SINIFLANDIRMALAR.....	23
2.1.4.3.2. KLİNİK SINIFLANDIRMALAR.....	24
2.1.4.4. OMURİLİK YARALANMASINDA TEDAVİ PRENSİPLERİ.....	25
2.1.3.4.1 FARMAKOLOJİK TEDAVİ YAKLAŞIMLARI.....	25
2.1.3.4.1.1 METİLPREDNİZOLON.....	25
2.1.3.4.1.2 GANGLİOZİDLER.....	27
2.1.3.4.1.3 GLUTAMAT RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ.....	27
2.1.3.4.1.4 KALSİYUM KANAL BLOKÖRLERİ.....	27
2.1.3.4.1.5 SERBEST RADİKAL TUTUCULAR.....	28
2.1.3.4.1.6 TRİLAZAD MESYLAT.....	28
2.1.3.4.2 REJENERASYON ÇALIŞMALARI.....	28
2.2. İSKEMİ VE REPERFÜZYON YARALANMASI.....	28
2.2.1. İSKEMİK HASAR.....	28
2.2.1.1. REVERSİBL İSKEMİK HASAR.....	31
2.2.1.2 İRREVERSİBL İSKEMİK HASAR.....	32
2.2.1.3. İYON DENGESİNİN BOZULMASI.....	32
2.2.1.3.1 KALSİYUM.....	33
2.2.1.3.2. SODYUM.....	34
2.2.2 REPERFÜZYON.....	35
2.2.3. AORTİK KROS-KLEMPLEMENİN ETKİLERİ.....	36
2.2.4. İ/R HASARINI ÖNLENME VE TEDAVİ.....	38
2.3. SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ.....	40
2.3.1. ANTİOKSİDANLAR'IN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	44
2.3.1.1 ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR.....	47
2.3.1.1.1. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ.....	47
2.3.1.1.2. GLUTATYON PEROKSİDAZ.....	47

2.3.1.1.3. KATALAZ.....	48
2.3.1.1.4. GLUTATYON REDÜKTAZ	48
2.3.1.2 ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR.....	48
2.3.1.2.1. ASKORBİK ASİT.....	48
2.3.1.2.2. α -TOKOFEROL.....	49
2.3.1.2.3. β -KAROTEN.....	49
2.3.1.2.4 REDÜKTE GLUTATYON (GSH).....	50
2.4 ALFA LİPOİK ASİT.....	50
2.4.1.ALFA LİPOİK ASİT'İN BİYOSENTEZİ.....	51
2.4.2. ALFA LİPOİK ASİT'İN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ.....	52
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	54
3.1. ANESTEZİ.....	54
3.2. CERRAHİ İŞLEM.....	55
3.3.BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME.....	58
3.3.1.MDA MİKTARININ TAYİNİ.....	58
3.3.2. NİTRİK OKSİT (NO) MİKTARININ TAYİNİ.....	59
3.3.3. SOD ENZİM AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ.....	59
3.3.4. GSH-PX ENZİM AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ.....	60
3.3.5. CAT ENZİMİNİN AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ.....	60
3.4.HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	60
3.5.NÖROFONKSİYONEL DEĞERLENDİRME.....	61
3.6.İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME.....	62
4.BULGULAR.....	63
4.1.BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	63
4.1.2 SPİNAL KORD DOKU BİYOKİMYASAL DEĞERLER.....	63
4.1.3. SERUM BİYOKİMYA DEĞERLERİ.....	69
4.1.4 BEYİN OMURİLİK SIVISI BİYOKİMYASAL DEĞERLERİ.....	72
4.2.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR.....	74
4.2.1 GRUP 1.....	74
4.2.2 GRUP 2.....	76
4.2.3 GRUP 3.....	77
4.2.4 GRUP 4.....	78
4.2.5 GRUP 5.....	79
4.3 NÖROFONKSİYONEL BULGULAR.....	83
5.TARTIŞMA.....	84
6.SONUÇLAR.....	92
7.ÖZET.....	94
8.SUMMARY.....	96
9. KAYNAKLAR.....	98

KISALTMALAR DİZİNİ

AMPA	:	Amino propanoic acid
Ak	:	Absorbans kör
An	:	Absorbans numune
ATP	:	Adenozin Trifosfat
CAT	:	Katalaz
DHLA	:	Dihidrolipoik asit
GABA	:	Gamma Aminobütirik Asit
GSH	:	Glutasyon
GSH-Px	:	Glutasyon peroksidaz
GSSG	:	Okside glutasyon
HE	:	Hemotoksilen- Eozin
IL	:	İnterlökin
KA	:	Kainik asit
KL	:	Kemiluminesans
MDA	:	Malonildialdehit
MİH	:	Mononükleer iltihabi hücre
MP	:	Metilprednizolon
MSS	:	Merkezi sinir sistemi
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NASCIS	:	National Acute Spinal Cord Injury Studies
NBT	:	Nitroblue tetrazolium
NH3	:	Amonyak
NMDA	:	N-Methyl-D-Aspartate
NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrik oksit sentetaz
O2-	:	Süperoksit radikali
OH	:	Hidroksil radikali
ONOO-	:	Peroksinitrit
PMNL	:	Polimorf nüveli lökosit
RNT	:	Reaktif nitrojen türleri
ROT	:	Reaktif oksijen türleri
S	:	Sham
SOD	:	Süper oksit dismutaz
SOR	:	Serbest oksijen radikalleri

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: ASIA/IMSOP Hasar Skalası

Tablo 2: Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri

Tablo 3: Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar

Tablo 4: Histopatolojik tanımlama ve grade'leme

Tablo 5: Tarlov motor değerlendirme skalası

Tablo 6: Spinal kord doku biyokimyasal değerleri, gruplar arasındaki p değerleri

Tablo 7: Serum MDA ve NO ortalama değerleri, gruplar arasındaki p değerleri

Tablo 8: BOS MDA ve NO ortalama değerleri, gruplar arasındaki p değerleri

Tablo 9: Histopatolojik sonuçların ortalama değerleri, gruplar arasındaki p değerleri

Tablo 10: Nörofonksiyonel değerlendirme sonuçlarının ortalama değerleri, gruplar arasındaki p değerleri

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Laparotomi sonrası abdominal aorta'nın diseksiyonu

Resim 2: Abdominal aorta'nın renal arter çıkışı altından kliplenmesi

Resim 3: Grup 1 normal özellikler gösteren spinal kord (HEx40).

Resim 4: Grup 1 Gri madde, içerisinde canlı nöronlar (HEx100)

Resim 5: Nükleusu ve sitoplazmik granülleri seçilebilen canlı nöronun daha büyük büyütmedeki görünümü (HEx200).

Resim 6: Grup 2; Konjesyon ve zedelenmiş nöronlar içeren gri madde (HEx100)

Resim 7: Grup 2; Piknotik nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı zedelenmiş nöronların daha büyük büyütmedeki görünümü (HEx200)

Resim 8: Grup 2; Beyaz maddede ödem ve mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (HEx200)

Resim 9: Beyaz maddede ödem ve gri maddede canlı nöronlar (HEx100)

Resim 10: Grup 3; Gevşek nükleer kromatine sahip, sitoplazmik granülleri seçilebilen canlı nöronların daha büyük büyütmedeki görünümü (HEx200)

Resim 11: Grup 4; gri maddede konjesyon ve canlı nöronlar (HEx200)

Resim 12: Grup 5; Gri maddede konjesyon, hemoraji ve zedelenmiş nöronlar (HEx200)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: İntrauterin 5½ haftada omuriliğin transvers kesiti

Şekil 2: 20 günlük embriyonun dorsal görünüşü

Şekil 3: Omurilikte dura ve araknoid membran , subaraknoid aralık, piamater, arka köklerin omurilikten çıkışı ve ligamentum dentikulatum gösterilmiştir.

Şekil 4: Omuriliğin midtorasik seviyeden transvers kesiti

Şekil 5: Omuriliğin farklı seviyelerdeki transvers kesitleri

Şekil 6. : Omuriliğin transvers kesitinde başlıca lif ve traktlar

Şekil 7: Omuriliğin arteryal dolaşımını sağlayan radiküler arter, anterior spinal arter ve posterior spinal arterin kesiti

Şekil 8: Omurilik vasküler yapısı:Anterior spinal arter, posterior spinal arter ve radiküler arter arasındaki anastomoz

Şekil 9: Omurilik vasküler yapısı: Venöz anatomi dış ve iç pleksuslar

Şekil 10: Omurilik vasküler yapısı: Omuriliğin venleri

Şekil 11: LA ve DHLA'nın moleküler yapısı

Şekil 12: Doku MDA ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 13: Doku SOD ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 14: Doku NO ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 15: Doku CAT ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 16: Doku GSH -Px ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 17: Serum MDA ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 18: Serum NO ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 19: BOS MDA ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Şekil 20: BOS NO ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Medulla spinalis (Omurilik) grimsi beyaz silindir şeklinde bir yapı olup yukarıda foramen magnumdan başlayarak aşağıda birinci omurunun alt kenarı düzeyinde sonlanır. Omurilik columna vertebralis içerisinde yerleşmiş ve dura mater, arachnoidea mater ve pia mater tarafından sarılmış ve korunma altına alınmıştır ek olarak subaraknoid aralıkta yer alan Beyin omurilik sıvısı (BOS) tarafından da korunur. Buna rağmen gelişen dünya şartlarında, daha sık karşılaşılan travmalar ve gelişen cerrahi tekniklerle birlikte daha komplike olgulara müdahale edilebilmesi nedeniyle omurilik yaralanma riski hızla artmaktadır (1).

Omurilik yaralanması, travmatik veya travmatik olmayan sebeplere bağlı olarak meydana gelen, komplet yada inkomplet olsun, kord'un major fonksiyonlarında (motor, duyu, otonomik ve refleks) yitime sebebiyet veren, hastanın kendine bakım, mobilizasyon ve günlük yaşam aktivitesinde önemli derecede sınırlanmaya sebep olan bir hastalık grubudur (2).

Akut travmatik omurilik yaralanmasının dünyadaki yıllık görülme sıklığı milyonda 15-40 tır. Ülkemizde her yıl 1600- 2000 ciddi yeni olgu ortaya çıkmaktadır. Erkeklerde 4 kat daha fazla görülür (3). Spinal kord yaralanmasına bağlı paraplejiler ve parapareziler günümüz toplumunda sosyal ve ekonomik ciddi bir problemdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 183.000-230.000 kişi spinal kord yaralanması kaynaklı sakatlıkla yaşamaktadır. Her yıl bunlara 10.000 yeni olgu eklenmektedir (4).

Spinal kord yaralanması sonrası hastalarda spastisite, nörojenik mesane-barsak bozuklukları, derin ven trombozu, bası yaraları, otonomik disrefleksi, cinsel sorunlar, heterotopik ossifikasyon, pulmoner disfonksiyon, psikolojik sorunlar, postravmatik siringomyeli ve nöropatik ağrı gibi komplikasyonlar ortaya çıkmaktadır (5). Hayatta kalanların yarısından fazlası normal yaşantısına geri dönememektedir. Son yıllarda rehabilitasyondaki gelişmeler neticesinde

hastaların yaşam süresi uzayabilmekte, bununla birlikte pek çok komplikasyonla karşılaşmamız kaçınılmaz hale gelmektedir.

Omurilik yaralanmalarının etiolojisinde, neredeyse yarısının sebebinin motorlu araç kazaları olduğunu görmekteyiz. Bunu, ev ve iş kazaları, spor kazaları, ateşli silah ve kesici alet yaralanmaları ve diğer sebepler takip etmektedir (6).

Torakoabdominal aorta cerrahisi sırasında aortaya kros klemp konulması spinal kord iskemisine bağlı ciddi nörolojik komplikasyonlara yol açabilir. Hastalığın yaygınlığına, morfolojisine, operasyon tekniğine ve rekonstrüksiyon tipine, kros-klemp süresine, hastanın yaşı ve yandaş hastalığına göre bildirilen nörolojik komplikasyon oranları % 5 ile % 40 arasında değişmektedir . Sinir dokusunun iskemiye dayanma süresi, anaerobik kapasitedeki yetersizlikten dolayı diğer dokulara göre daha azdır (7). Reperfüzyon hasarı ise biyokimyasal mekanizmaların aracılık ettiği ikincil zedelenmeye neden olan bir olaydır (8).

Bilimsel gelişmeler ve sosyal yardım kurumlarının desteklerine rağmen, omurilik hasarı için şu ana kadar yeterli bir tedavi gösterilememiştir (9).

Akut spinal kord yaralanmasında iki mekanizma hipotezi öne sürülmüş bunlardan birincisi primer mekanik yaralanma ikincisi de primer yaralanma tarafından tetiklenen bir çok etkenin rol aldığı sekonder yaralanmadır (10). İkincil hasarda belirtilen ana etmenler vasküler sistemde bozulma, serbest oksijen radikalleri oluşumu ve lipid peroksidasyonu, nekrotik ve apoptozise bağlı hücre kaybı, ekzitotoksisite ve elektrolit düzensizliği ve inflamatuvar yanıttır (11).

Nöronal yaralanmada deneysel ve klinik araştırmaların büyük kısmı ikincil yaralanmayı önlemek ya da azaltmaya yöneliktir (11).

İkincil hasar mekanizmasında birçok yolak ile hücre hasarında artış meydana gelmekte ve bu yolaklar çoğunlukla birbiri ile bağlantılı şekilde çalışmaktadır. Omurilik hasarında kullanımı öngörülen ajanlar bu tarif edilen

yolakları kısmen kesintiye uğrattığı yada bu yolaklarla salınan maddelere antagonist etki ettiği düşünülerek halen araştırılmakta yada klinik olarak kullanılmaktadır (9).

Kortikosteroidler inflamasyon yanıtı azaltıcı etkiye sahiptirler. Omurilik yaralanmasında en önemli etkisi lipid peroksidasyonunu önleyici olması ve diğer yardımcı etkileri de sitokinler üzerine inhibitör etkisi, inflamatuvar hücrelerin inhibisyonu, hücreye kalsiyum girişinin engellenmesi ve doku perfüzyonunu arttırıcı etkidir (12). Ancak hasar görmüş dokunun yenilenmesinde veya fonksiyonunun geri kazanılması üzerine bir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Özellikle omurilik travmasında en etkin kortikosteroid metilprednizolon (MP) olarak bulunmuştur. MP'nin etkileri prospektif, randomize, çift kör, çok merkezli klinik çalışmalar olan NASCIS (National Acute Spinal Cord Injury Studies) ile ortaya konmuştur (9). NASCIS II protokoluna göre; ilk 8 saat içinde 30 mg/kg/ 15 dakika, devamında 5,4 mg/kg/ 23 saat infüzyon halinde uygulanan metilprednizolonun morbidite ve mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir (13). NASCIS III çalışmasında trilasid mesilat ve MP tedavileri ve tedavinin süreleri karşılaştırılmıştır, buna göre MP tedavisi için, yaralanma sonrası ilk 3 saat içinde tedaviye alınan ve 48 saat tedavi verilen hastalarda sonuçlar daha iyi bulunmuştur (14).

Reperfüzyon döneminde gözlenen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikal (SOR) türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir(15). Alfa lipoik asit (LA) ise antioksidan özellikleri olan ve bu yönüyle serbest radikallere karşı metabolizmada koruyucu etkilere sahip önemli bir reaktiftir, metabolizmada vitamin E ve glutatyonu rejenere ederek aktif hale getirir , LA antioksidan olarak suda ve yağda çözündüğü için önemli bir ajandır. Bu yönüyle suda çözünen vitamin C ve yağda çözünen vitamin E gibi hem hücre dışında hem de hücre membranında koruyucu etkileri olduğu belirtilmektedir (16). Bu nedenle, LA'nın çeşitli inflamatuvar hastalıkların başlangıcı ve ilerlemesindeki potansiyel yararlı etkileri araştırılmaya değer görülmüştür. Bu

Çalışmada LA'nın ve halen tartışmalı olmakla birlikte kabul gören tedavi ajanı olan metilprednizolon'nun ayrı ayrı ve beraber tavşan modelinde omurilik hasarı üzerine etkisinin morfolojik ve biyokimyasal olarak araştırılması, etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 OMURİLİK VE OMURİLİK YARALANMALARI

2.1.1 TARİHÇE

Omurilik zedelenmeleri tarihin çok eski zamanlarından beri hekimleri meraklandırmış, araştırmalara ve dökümanlara yansımıştır. Eski Mısır'da, milattan önce 2600 yılına ait "Edwin Smith Papyrus"u bulunmuş ve bu papiruslarda spinal kord yaralanmasının tarif edildiği 48 adet kemik lezyonundan bahsedilmiştir, ligamantöz hasarlanma, vertebral subluksasyon ve dislokasyon gibi mekanik bozukluklar tanımlanmıştır, servikal omurga hasarlarında tetrapleji, parapleji olabileceği anlatılmıştır, "İmhotep" adlı cerrahın yine bu dökümanlarda bahsedilir (17).

Milattan Önce (MÖ) 460-375 yılları arasında yaşamış Hippocrates, spinal kord yaralanması konusunda neredeyse kusursuz olan bilgileri ortaya koymuştur. Bu konudaki en önemli katkılarından biri ise spinal fraktürlerde dislokasyonları redüksiyon için kullandığı özel Traksiyon masasıdır (17).

MÖ 325-260 yılları arasında yaşamış Kadıköy doğumlu Herophilus Rhombensefalonun kaudal uzanımı olduğunu bildirmiş ve buraya bugünde kullandığımız "spinal kord" ismini vermiştir (17).

Cladius Galen, Milattan Sonra (MS) 130-200 yılları arasında spinal kordun anatomik ve fizyolojik fonksiyonları üzerine yaptığı deneysel çalışmalarla ortaya çıkmıştır. Spinal kordun detaylı makroskobik anatomisi üzerine yeni tanımlamalar ortaya koymuştur. Spinal kord'un koruyucu yapılarla çevrelendiğini vurgulamış, kemik yapılar, longitudinal ligamanlar, duramater ve piamateri tarif etmiştir. Spinal kordu farklı düzeylerde keserek nörolojik açıdan karşılaştırmalı deneyler yapmıştır (19). MS 625-690 yılları arasında yaşamış olan Paulus' un spinal kord travmalarının tedavisinde yapmış olduğu katkılar bugün halen geçerliliğini korumaktadır. Paulus omurga kırığı sonrası korda bası yapan posterior elemanları kaldırarak ilk laminektomi girişimini yapan hekimdir. Ayrıca

spinal fraktürlerin redüksiyonunda, yaptığı bandaj ve korse sistemleri modifiye olmakla beraber günümüzde halen geçerliliğini korumaktadır (17).

1210 yılında Roland, "Chirurgica" isimli önemli eserinde spinal travmalarda traksiyonu önermiştir (19). 1514-1564 yılları arasında yaşamış olan Andreas Vesalius, Galen'in yüzyıllar önce yaptığı çalışmalardan elde ettiği sonuçları kendi fikirleri ile yorumlayan önemli isimlerdendir. Yazmış olduğu 4. kitabı "Fabrica" da (1543) sinir sisteminin genel anatomisinden ve spinal sinir çiftlerinin yapısından bahsetmiştir (20). 1625-1692 yılları arasında yaşamış olan Alman anatomist Gerard Blasius 1666'da "Anatome Medullae Spinalis Nervorum" isimli kitabında ilk kez anterior ve posterior spinal sinir kökleri ile spinal korddaki beyaz ve gri maddelerin farklarından bahsetmiştir (20). 1817-1894 yılları arasında yaşayan Charles Edouard Brown-Sequard spinal kord histolojisi ve deneysel tekniklerde ilerleme kaydederek spinal kordun anatomisi ve fonksiyonları üzerine modern çalışmalar yapmıştır (17).

İnsan omurilik yaralanmasını taklit edebilecek, tanı ve tedavide gelişmeler sağlanmasında katkıda bulunacak, birçok deneysel omurilik yaralanma modeli geliştirilmiştir. 1911 yılında Allen; köpeklerde laminektomi sonrası omurilik üzerine ağırlık düşürerek kontüzyon tipi omurilik hasarı oluşturmuş ve uygulanan myelotominin ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağladığını ortaya koymuştur. Bu çalışma daha önce yapılmış olan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ayrıca sekonder hasar konseptinde öncülüğünü yapmıştır (21).

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde omurilik çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klipslenmekte ve bu sayede değişik miktarlarda travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir. Bu modelin avantajı omuriliğin tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (22). Ağırlık düşürme modeli, klip kompresyon modeli, ventral

kompresyon tekniği, kontrollü kontüzyon, omurilik iskemisi modeli gibi birçok deneysel omurilik hasarı modelleri geliştirilmiştir (23).

2.1.2. OMURİLİK EMBRİYOLOJİSİ

Sinir sisteminin gelişmesi embriyonik diskin oluşması ile başlar. Sinir sistemi ektoderm katmanından meydana gelir. Disk ektodermi çember şeklinde kuşatan bölümler sinir sisteminin özgül parçalarının oluşmasına katkıda bulunmak için önceden programlanmıştır (24).

Embriyonik dönemin 3. haftasında ektodermin kalınlaşması sonrasında ektoderm altında yer alan notokord ve mezodermin indüklenmesiyle nöral plak oluşur. Nöral plaktan da nöral tüp ve krista nöralis gelişir (25).

Nöral tüp, merkezi sinir sistemine yani omurilik ve beyine farklılaşırken, krista nöralis de periferik sinir sistemine yani kranial ve spinal sinir ve otonom ganglionlara farklılaşır (25).

Nöral tüp 4. haftada oluşur, nöral plağın ve nöral tüpün kranial 2/3 ü beyini, kaudal 1/3 ü ise, medulla spinalisi oluşturur (25). Embriyonik dönemin 9. ve 10. haftalarda nöral tüpün lateral duvarları ortada küçük bir kanalcık kalana kadar kalınlaşır. Nöral tüpün duvarları çok katlı ‘kolumnar epitellium’ dan oluşur. Bu nöroepitelial hücrelerden ventriküler zon yani ependimal tabaka gelişir. Ventriküler zonu oluşturan nöroepitelial hücreler, medulla spinaliste yer alan tüm nöron ve makroglia hücrelerinin kaynağıdır. Nöroepitelyal hücrelerden dışta marjinal zon gelişir. Bu zondan medulla spinalisin beyaz cevheri oluşur. Nöroblast hücreleri, ventriküler ve marginal zonlar arasında göç ederek intermediet zonu oluşturur. Nöroepitelyal hücrelerin oluşturduğu, nöroblastlardan nöronlar, glioblastlardan primitif destek hücreleri ve ependim hücreleri gelişir (25).

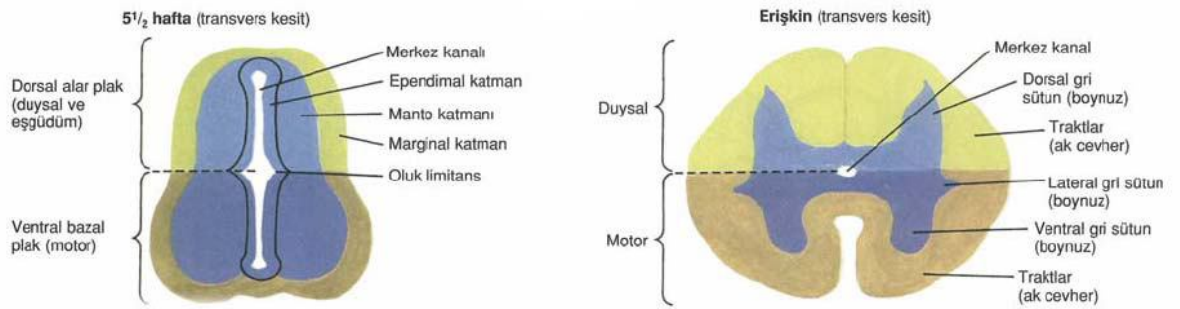
Omurilikte temel üç bölge kalıp erişkinde de korunur. Ependimal bölge merkez kanalın lümenini kaplayan silindirik hücreler halinde korunur. Manto bölgesi hücreleri, gri cevheri yaparken marjinal bölgenin hücreleri beyaz cevher

haline dönüşür. Gri cevher, beyaz cevher ile sarılı “H” harfi şeklinde bir kütle görünümü kazanır (24).

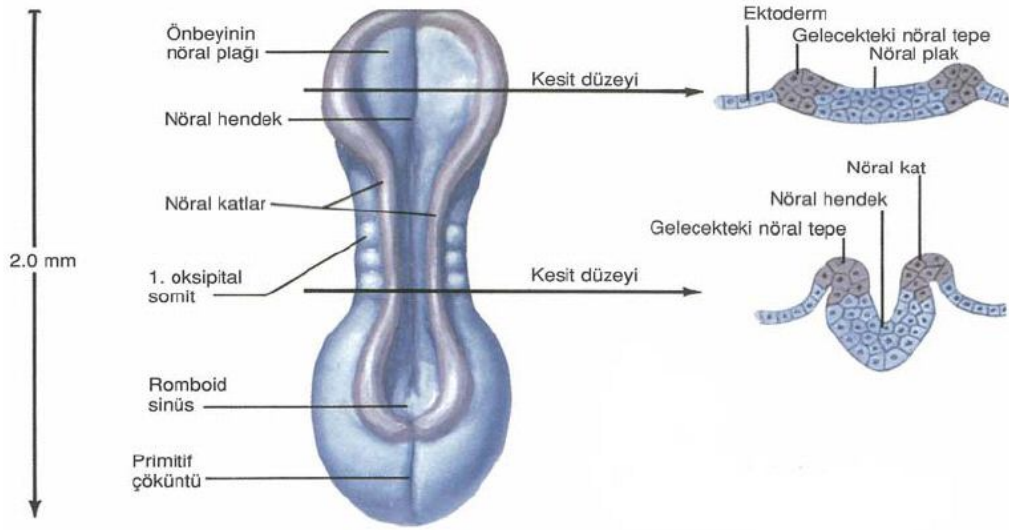
Nöroepitelyal hücrelerin çoğalması ve farklılaşması, gelişen omuriliğin kalın duvarlı, ince tabanlı, ince tavanlı olmasına neden olur. Omurilik duvarında uzunlamasına sığ bir oluk oluşur. Bu oluğa, sulcus limitans adı verilir. Omuriliği ventral ve dorsal kısımlara ayırır. Dorsal kısma alar plak (alar lamina), ventral kısma ise bazal plak (bazal lamina) denir. Alar plak, kornu posteriordaki gri cevheri meydana getirir. Bazal plak, kornu anterior ve kornu lateralisteki efferent nukleus gruplarını oluşturur (25).

Geleceğin duysal hücreleri nöral tepeden göç eder ve omuriliğin iki yanında, bunun her segmenti için tek bir ganglion yapmak üzere omurilik boyunca kümelenir. Bu hücreler unipolar hücrelere dönüşürken merkezi uzantıları, manto katmanının dorsal gri sütunundaki nöronal hücre gövdeleri üzerinde sonlanmak üzere nöral tüp içine doğru büyür. Eş zamanlı olarak periferik uzantılar, omuriliğin aynı segmentine ait motor kök lifleri veya aksonların yanı sıra, aynı bağ dokusu kılıfı ile sarılmak üzere distale doğru büyür, bu bileşim bir spinal siniri oluşturur (24).

Gelişme hızlarının farklı olması nedeni ile, omuriliğin ucu ile omurganın ucu arasındaki ilişki gelişmenin devam etmesi ile değişikliğe uğrar. Doğum sırasında omurilik ikinci lomber omur hizasında son bulmaktadır (24).



Şekil 1: İntrauterin 5½ haftada omuriliğin transvers kesiti (24).



Şekil 2: 20 günlük embriyonun dorsal görünüşü (24)

2.1.3. OMURİLİK ANATOMİSİ

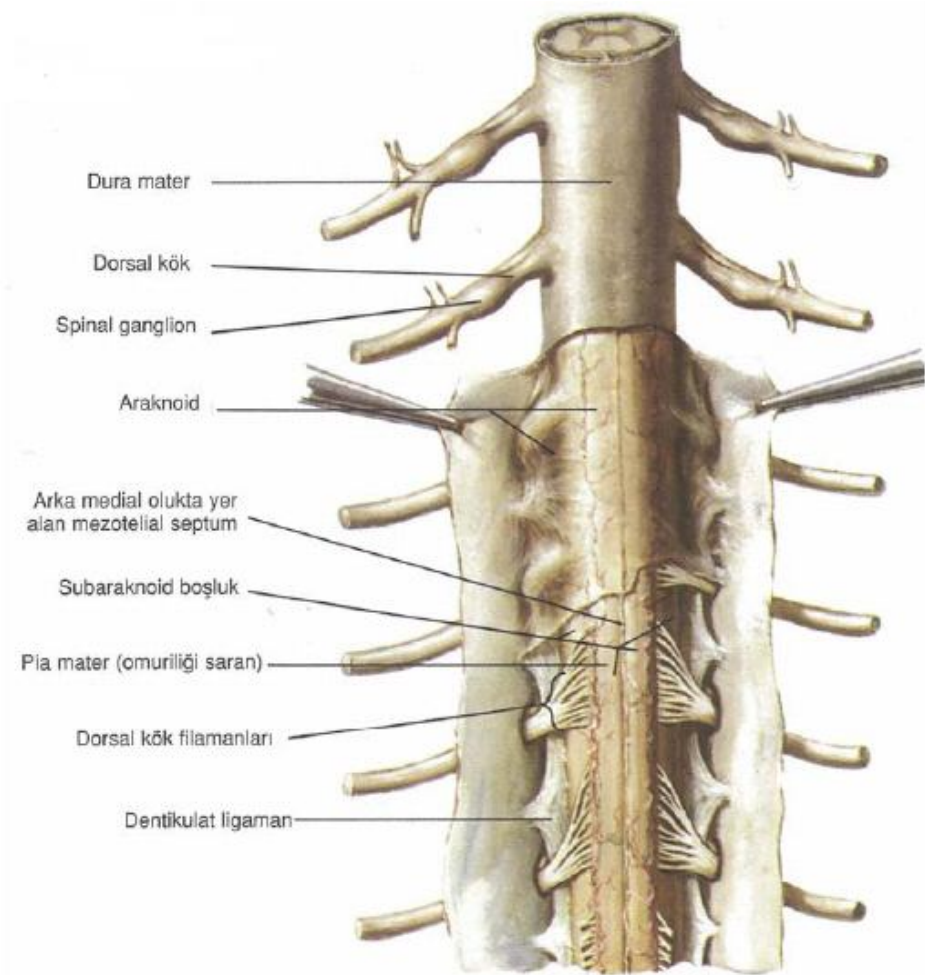
Omurilik (spinal kord veya medulla spinalis) santral sinir sisteminin, vertebral kanalın üst 2/3'ünü kaplayan bir parçasıdır. Ortalama erkeklerde 45 cm, kadınlarda 42-43 cm uzunluta, ağırlığı ise yaklaşık 30 gr'dır (26).

Atlas'ın üst kenarından başlar ve birinci lomber vertebranın alt sınırı veya ikinci lomber vertebranın üst sınırına kadar uzanır. Üst kısımda beyinle, altta ise konus medullaris ile devamlılığı vardır. Konus medullaris apeksinden ince bir filamanla ki bu filum terminale olarak adlandırılır, kosiks'in ilk kısmına kadar uzanır (26).

Omurilik uzunluğu, vertebral kolon uzunluğu ile fetal hayatın 3.ayına kadar aynı iken, vertebraların uzunluğu omurilikten daha hızlı artarak 5. ayın sonunda sakrumun tabanında, doğum sırasında ise yaklaşık L3 seviyesinde olarak değişim gösterir. Omurilik, koruyucu 3 membranla örtülüdür. Membranlar dıştan içe doğru; dura mater, araknoid mater ve pia mater olarak adlandırılır (26).

Fibröz ve güçlü bir membran olan dura mater, omuriliğin sonlandığı yerin daha aşağısındaki cul-de-sac noktasında, Sakral 2. vertebra'nın (S2) alt sınırı seviyesinde sonlanır. Dura mater, gevşek yağ dokusu ve venöz plexuslar içeren epidural kavite yoluyla vertebral kanal duvarından ayrılır. Araknoid, ince bir transparan membrandır.

Araknoid ve pia zarlarını biraz daha geniş olan ve BOS içeren subaraknoid aralık ayırır. Pia mater, m.spinalise yapışarak içine doğru ince septalar gönderir. Dar bir bant olan ligamentum dentikulatum, lateral yüzeyler boyunca seyrederek bir seri noktavi çıkıntılarla duranın iç kısmına bağlanır. Omurilik, dura matere bu bağlar aracılığı ile bağlanmıştır (26).



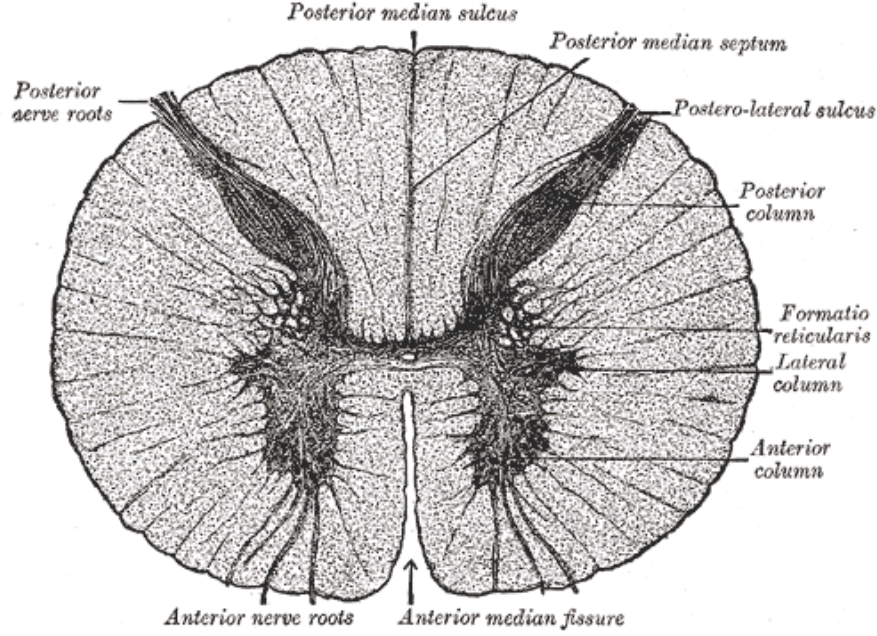
Şekil 3: Omurilikte dura ve araknoid membran, subaraknoid aralık, piamater, arka köklerin omurilikten çıkışı, ve ligamentum dentikulatum gösterilmiştir (27).

Simetrik olarak düzenlenmiş omurilikten 31 çift (8 servikal, 12 torasik, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal) spinal sinir bulunmakta olup bunlar omuriliğe sinir köklerini yapmak üzere kümelenmiş ventral ve dorsal sinir kökçükler veya filamentlerin yaptığı lineer bir dizi halinde bağlanmıştır. Her dorsal spinal sinir kökü üzerinde oval bir genişleme olan spinal (duysal) ganglion bulunur. Erişkinlerde, üst servikal bölge bir yana, omurilik segmentleri karşılıkları olan omurdan değişik derecede daha yukarıda yer alır. Omurilik segmentlerinin omur segmentlerine göre bu yer değişikliğine uğramaları, neden servikal genişlemenin yaklaşık olarak kendisine karşılık gelen hizada iken lomber genişlemenin son üç torasik omur hizasında olduğunu açıklar. Omuriliğin alt kısmına bağlanmış sinir kökleri dışarı çıkış noktalarına kadar kauda ekina olarak aşağı inmektedir (27).

Filum terminale konus medullarisin apeksinden aşağı doğru uzanan, yaklaşık 20 cm uzunluğunda ince bir filamenttir. Üst ve alt olmak üzere iki kısma ayrılır. Üst kısım (filum terminale internum) yaklaşık 15 cm uzunluğundadır ve S2 nin alt sınırına kadar uzanır. Duranın tubuler kılıfının içindedir, cauda equina liflerince çevrelenmiştir ve mavi-beyaz rengiyle kolaylıkla fark edilir. Alt kısım (filum terminale externum) dura matere yapışıktır. Tubuler kılıfın apeksinden başlar ve koksiksin ilk segmentinin arkasına tutunur. Filum terminale fibröz doku içerir ve üstte pia mater ile devam eder. Dış yüzeyine yapışmış olan birkaç sinir lifi belki de koksiksin rudimenter 2. ve 3. sinirleri olabilir. Ayrıca omuriliğin santral kanalı içine doğru 5- 6 cm ilerler (26).

Sinir lifleri veya kökçükleri omuriliğe ön-yan ve arka-yan bölgelerinden bağlanır. Ventral lifler iki veya üç tane düzensiz kök halinde doğar. Bunlar başlıca ön sütun veya boynuzlardaki hücre aksonları olan efferent liflerden kurulu olup istemli kaslara motor komutlar götürür. Dorsal filamanlar sığ bir oluk olan posterolateral oluk boyunca düzenli diziler halinde bağlanmış olup ilgili sinir arka köklerin spinal ganglionlarına yerleşmiş psödounipolar sinir hücrelerinin merkezi uzantılarıdır (27).

Omurilik bir ön medyan yarık ve sığ bir arka medyan oluk göstermekte olup buradan nöroglanın yaptığı medyan bir septum ileri doğru 4-6 mm uzanır. Bu yarık, oluk ve septum tarafından iki simetrik yarım küreye ayrılmıştır (27).



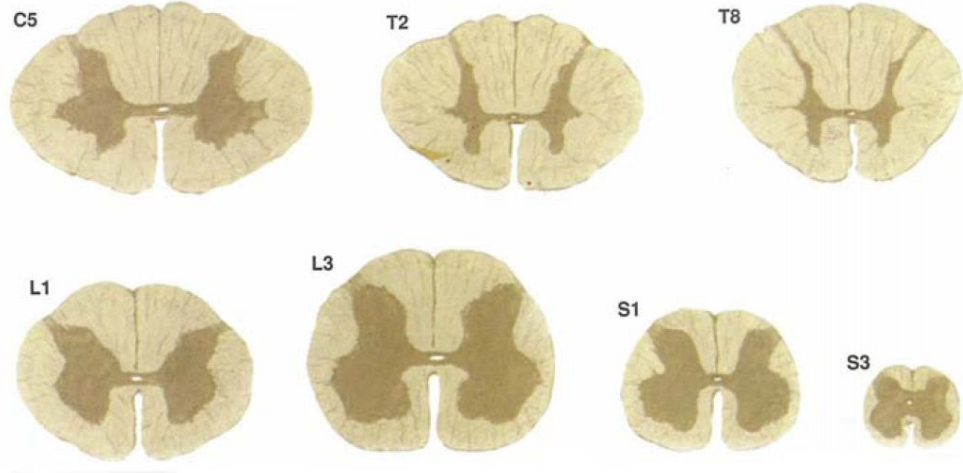
Şekil 4. Omuriliğin midtorasik seviyeden transvers kesiti (27)

Ventral ve dorsal sinir kökleri pia mater tarafından sıkıca, araknoid tarafından gevşek şekilde sarmalanmıştır. Her bir sinir çifti bir intervertebral foramenden çıkarken kökler bir dura mater örtüsü ile sarılır. Bunu venlerin yaptığı bir plexus içeren yağlı, gözenekli doku çevreler (27).

Omurilik bir dış lif katmanı olan beyaz cevher ile sarılmış nöropil bir nüve olan gri cevherden yapılmıştır. Gri cevher spinal nöronların hücre gövdeleri ve dendritleri ile bunlardan çıkan veya bunların üzerinde sonlanan aksonlar ve akson sonlanmalarından kuruludur (27).

Beyaz cevher, boylamasına giden lif traktlarının aksonlarından kurulmuştur (27). Merkezi sinir sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi medulla spinalisin beyaz cevheri, sinir lifleri, nöroglia ve kan damarlarından oluşmuştur (28). Gri maddeyi çevreler ve myelinli sinir liflerinin yüksek oranda bulunması nedeni ile beyaz olarak görülür (28). Gri ve beyaz cevher sınırları farklı omurilik

seviyelerinde farklı şekildedir. Beyaz cevher servikal bölgede görece kalın olup aşağı indikçe kütlesi giderek azalır. Gri cevher ise servikal ve lomber genişlemelerde en fazla gelişmiş olup buralar ekstremitelelerin motor ve duysal işlevlerine katılan nöronlardan yapılmıştır. Bu genişlemeler; intumescentia servikalis ve intumescentia lumbosakralis adı verilen fuziform genişlemelerdir (27).



Şekil 5. Omuriliğin farklı seviyelerdeki transvers kesitleri (27).

Enine kesitte gri madde, kanalis santralis içeren komissura grisea ile birbirine bağlanmış kolumna anterior ve kolumna posteriorlardan oluşan bir “H” harfi şeklinde görülür. Torasik ve üst lomber segmentlerinde küçük bir kolumna lateralis bulunur (28).

Gri madde, sinir hücreleri uzantıları, nöroglia ve kan damarlarından oluşur (28). Kolumna anteriorda sinir hücrelerinin çoğu büyük ve multipolardır. Aksonları spinal sinirlerin ön köklerinden iskelet kaslarını innerve eden alfa afferentler olarak çıkarlar. Daha küçük olanlar nöromusküler içciklerin intrafuzal kas liflerini innerve eden gamma efferentler olarak çıkarlar. Medial grup, çoğu segmentte bulunur, boyun ve gövdenin iskelet kaslarının innervasyonundan sorumludur. Santral grup, bazı servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur (nucleus nervi phrenici, n.nervi accesorii, n.lumbosacralis). Lateral grup, servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur ve iskelet kası innervasyonundan sorumludur (28).

Kolumna posteriorda 4 sinir hücre grubu vardır. Substansiya jelatinoza kolumnanın apeksinde bulunur, ağrı-ısı ve dokunma ile ilgili afferent alır. Nukleus proprius, omurilik boyunca posterior kolumnada bulunan hücrelerin ana kitlesini oluşturur, pozisyon, hareket duyusu, iki nokta ayrımı ve vibrasyon duyusu ile ilgili lifler alır. Nukleus dorsalis (Clark sütunu), 8. Servikal segmentten 3. ve 4. lomber segmente uzanır, propioseptif sonlanmalarla igilidir. Visseral afferent çekirdek; 1.torasik segmentten 3. lomber segmente uzanır, visseral afferent bilgi alımı ile ilgilidir (28).

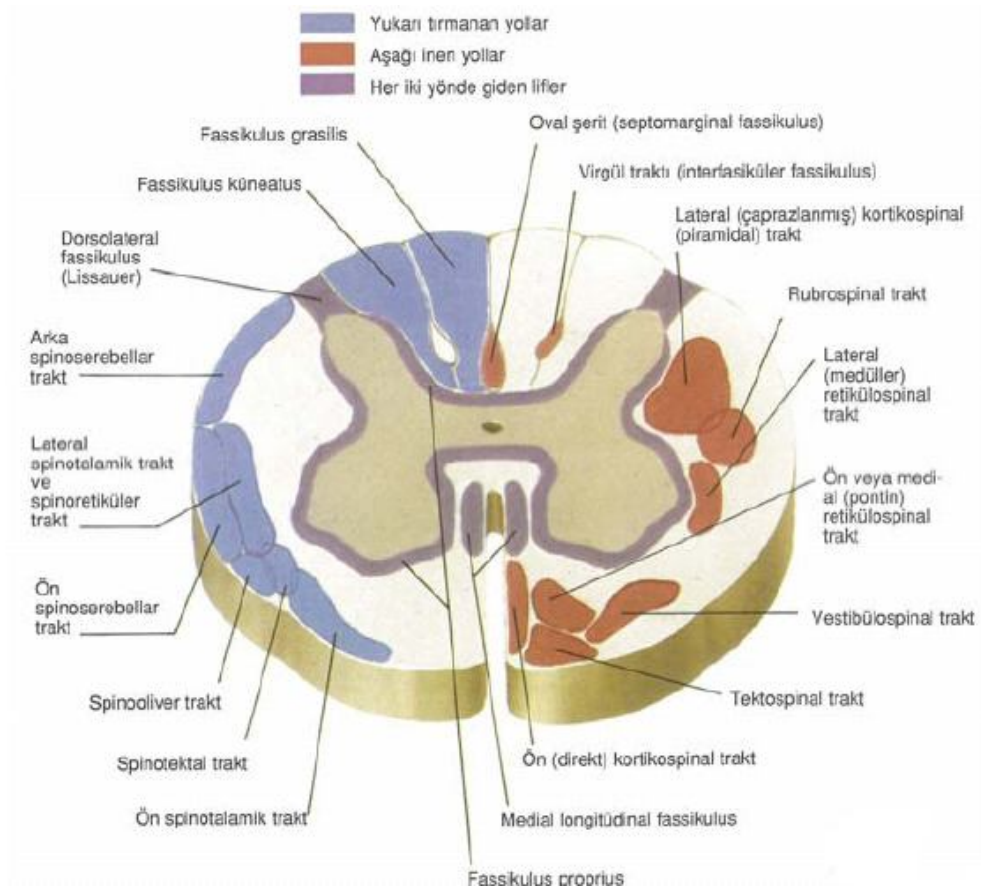
Kolumna lateralis, 1.torasik segmentten 2. veya 3. lomber segmente kadar uzanır. Preganglionik sempatik lifleri verir. 2. 3. ve 4. sakral segmentlerde bu lifleri veren benzer bir hücre grubu bulunur (28).

Kanalis santralis, medulla spinalis boyunca bulunur. Yukarıda medolla oblongatanın distal yarısının kanalis santralis ile devam eder ve 4. ventrikül boşluğuna açılır. Aşağıda konus medullaris içinde ventrikulus terminalis olarak genişler, filum terminalenin kökü olarak sonlanır. BOS ile doludur ve ependim denilen silyalı kolumnar epitel ile döşelidir (28). Rexed adlı araştırmacı tarafından, medulla spinalis gri cevherinin belirli bir laminasyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışmalar dokuz özgün laminasyonun bulunduğunu göstermiştir. Bunlar kornu posteriordan anteriora doğru romen rakamları ile ifade edilir. Kanalis santralis etrafındaki bölge ise lamina X olarak tarif edilmektedir (25).

Beyaz cevher funikulus anterior, lateralis ve posterior olarak bölünebilir. Anterior, her iki taraf orta hat ile ön sinir kökü çıkışı arasında; lateralis, ön sinir kökü çıkışı ile arka sinir kökü girişi arasında; posterior, arka sinir kök girişi ile orta hat arasında yer alır (28). Çıkan yollar arasında vücudun alt ve üst parçalarından ince, ayırdedici duyuları taşıyan fasikulus grasilis ve fasikulus kuneatus yer almaktadır. Daha az ayırtettirici, daha yüksek eşiğe sahip duyular ön ve yan spinotalamik traktlar tarafından taşınmakta olup bu ikincisi ağrı ve sıcaklık duyularının taşınmasında özellikle önemlidir. Refleks aktivitesi ve motor denetime yakından katılan diğer çıkan yollar arasında arka ve ön spinoserebellar

traktlar ile spinoooliver, spinotektal ve spinoretiküler traktlar bulunmaktadır (27). İnen yollar iki gruba ayrılabilir;

Birinci grubun içinde kortikospinal traktlar ile rubrospinal trakt yer alır. Bu grup omuriliğin ekstremitelerin distal kaslarını denetleyen nöronları içeren dorsolateral bölgelerinde tercihen sonlanır. Bu traktların harabiyeti ekstremitelerin ince kademeli kontrolünün kaybı ile sonuçlanır (27).



Şekil 6. Omuriliğin transvers kesitinde başlıca lif ve traktlar (27).

İkinci grup içinde medial longitudinal fasikulus içinde seyreden ve omuriliğin ventromedial bölgelerinde tercihen sonlanan ön ve yan retikülospinal traktlar, tectospinal trakt, yan ve medial vestibülospinal traktlar ve interstiospinal trakt bulunmaktadır. Bu bölgeler aksiyal ve proksimal ekstremiteler kaslarını denetleyen nöronları içerir. Bu yolların harabiyeti postür ve doğrulma bozuklukları ile sonuçlanır. Motor etkilerine ek olarak inen yolların her iki takımı

da duysal iletimi spinal yollar tarafından modülasyona uğratan lifleri de içerir (27).

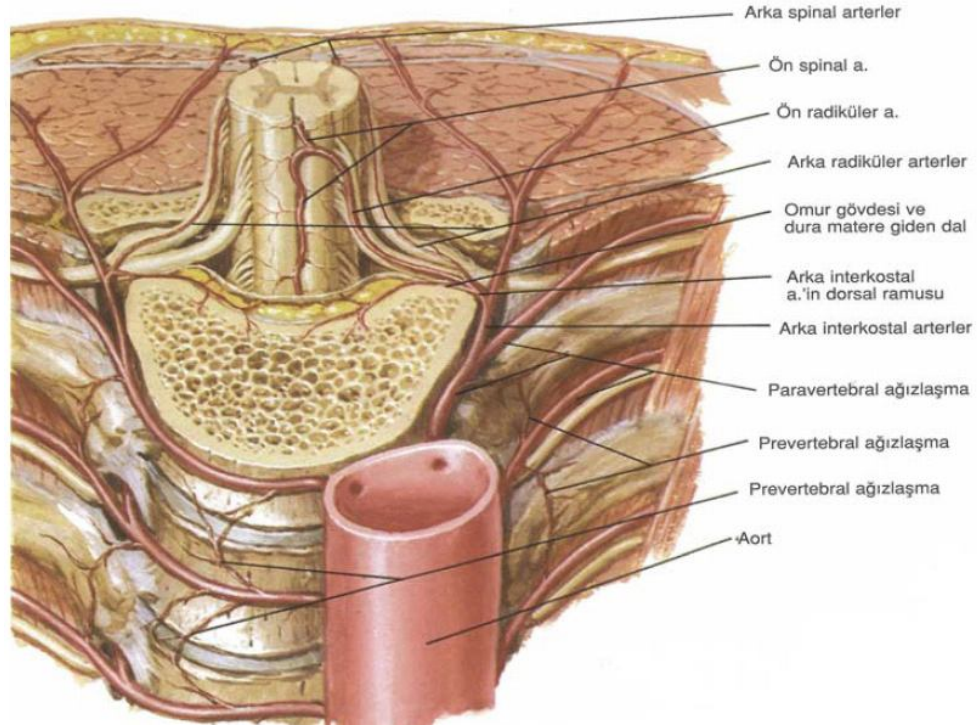
Propriospinal yollar; bazıları omuriliğe arka kökler yoluyla giren ve daha sonra omuriliğin diğer düzeylerindeki spinal nöronlar üzerinde sonlanmak üzere oval şerit, virgül trakt, dorsolateral fasikulus (Lissauer), fasikulus grasilis veya fasikulus kuneatus içinde çıkan veya inen afferent liflerden kurulmuştur. Diğer propriospinal lifler spinal gri cevherdeki ara nöronlardan kaynaklanır. Propriospinal lifler topluca omuriliğin farklı düzeydeki aktiviteyi koordine ve spinal reflekslere aracılık etmede önem taşımaktadır (27).

2.1.3.1 OMURİLİĞİN VASKÜLER YAPISI

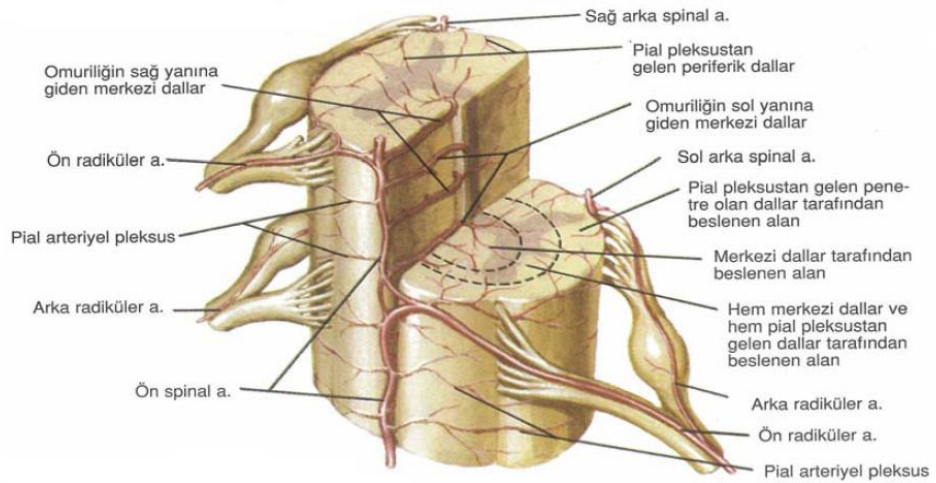
Omurilik bir ön ve iki tane arka spinal arter oluşturan çok sayıda radiküler arter tarafından beslenir. Radiküler arterler her vertebral segment hizasında komşu arterlerden doğar. Birçok ince radiküler arter vertebral foraminadan sinir köklerine eşlik ederek mediale doğru seyreder. Esas olarak sinir kökünün beslenmesi ile ilişkilidir. Daha kalın arterlerden bazıları dura matere erişir ince meningeal dallar verir sonra spinal arterleri oluşturmak üzere yukarı tırmanan ve aşağı inen dallara ayrılır. Hem sinir kökü hem de omuriliği besleyen kalın radiküler arterlere ayırmak için radikülomedüller arterler adı verilir (27).

Ön spinal arter orta hat boyunca tüm omurilik boyunca seyreder Genel olarak her vertebral arterin dördüncü segmentinden doğan iki ön spinal dalın birleşmesinden oluşur. Ön spinal arterden gelen kan merkezi dallar ve pial pleksuslardan gelen penetre dallar yoluyla omuriliğin ön üçte ikisine dağılır. Omuriliğin dorsolumbosakral kısmı (T8'den konus medullaris kadar olan) ana arter desteğini % 80 sol taraf interkostal (lomber) arterden doğan Adamkiewicz arterinden alır (27).

Arka spinal arterler eşleşmiş arterler olup omuriliğin tüm uzunluğu boyunca posterolateral yüzde seyreder. Radiküler arterlerin posterior dalları ile anastomoz yaparlar. Kanı omuriliğin kendilerine karşılık gelen tarafında arka üçte bir kısmına dağıtır (27).



Şekil 7: Omuriliğin arteriyel dolaşımını sağlayan radiküler arter, anterior spinal arter ve posterior spinal arterin kesiti (27).



Şekil 8. Omurilik vasküler yapısı: Anterior spinal arter, posterior spinal arter ve radiküler arter arasındaki anastomoz (27)..

Omuriliğin venleri dağılım şekilleri yönünden kendilerine karşılık gelen arterlere benzer ve pia materde bükümlü bir pleksus oluşturur. Venüller, ventral ve dorsal sinir köklerine bitişik olarak uzanan iki çift ön-yan ve arka-yan longitudinal venlere ve iki median longitudinal vene boşalan ön ve arka merkezi

Ön dış venöz pleksus
Arka dış venöz pleksus
Ön iç venöz pleksus
Arka iç venöz pleksus
İntervertebral v.
Bazivertebral v.

İntervertebral v.
Ön ve arka radiküler venler
Ön dış venöz pleksus
Ön iç venöz pleksus
Bazivertebral v.
Arka iç venöz pleksus
Arka dış venöz pleksus

This anatomical diagram illustrates the vertebral venous system in a cross-sectional view of the spine. The central feature is the spinal cord, surrounded by the arachnoid and pia mater. The diagram shows the following structures and their connections:

- Ön spinal v.** (Anterior spinal vein): Located anterior to the spinal cord.
- Bazivertebral v.** (Basivertebral vein): Located within the vertebral body.
- Ön merkezi v.** (Anterior median vein): Located along the anterior surface of the spinal cord.
- Ön iç venöz pleksus** (Anterior internal venous plexus): Located within the vertebral canal, anterior to the spinal cord.
- İntervertebral v.** (Intervertebral vein): Located between the vertebral bodies.
- Ön radiküler v.** (Anterior radicular vein): Located along the anterior surface of the spinal cord.
- Arka radiküler v.** (Posterior radicular vein): Located along the posterior surface of the spinal cord.
- İç spinal venler** (Internal spinal veins): Located within the vertebral canal, posterior to the spinal cord.
- Pial venöz pleksus** (Pial venous plexus): Located along the surface of the spinal cord.
- Posterior central v.** (Posterior central vein): Located along the posterior surface of the spinal cord.
- Arka spinal v.** (Posterior spinal vein): Located posterior to the spinal cord.
- Arka iç venöz pleksus** (Posterior internal venous plexus): Located within the vertebral canal, posterior to the spinal cord.

2.1.4 OMURİLİK YARALANMASI

2.1.4.1 EPİDEMİYOLOJİ

Günümüzde gelişmiş ülkelerde travmatik omurilik yaralanmalarıyla ilgili yapılmış bir çok epidemiyolojik çalışma varken, ülkemiz gibi gelişmekte olan bölgelerde çalışmalar yeterli değildir (29). Travma dışı omurilik yaralanması, tümörler (%25), spinal vasküler hastalıklar (%25), inflamatuvar hastalıklar (%19.5), spinal stenoz (%18.6) ve diğer (torakaoabdominal cerrahi girişimler, radyasyon myelopatisi, konjenital anomaliler ve nöral tüp defektleri v.b.) nedenlere bağlı gelişmektedir (29). Dünya genelinde yayınlanmış literatüre göre tahmini travmatik omurilik hasarı insidansı milyon yılda 10,4-83 arasında değişiklik göstermektedir (29). Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan spinal kord yaralanmalı kişi prevalansı kesin olarak bilinmemekle birlikte 2004 yılında yaklaşık 246.882 kişi olarak hesaplanmıştır (30). Gelişmiş ülkelerde mortalite oranı milyonda sekiz olarak hesaplanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde ise milyonda 3,1'den 17,5 e kadar değişmektedir (29,31). Mortalitede etkili faktörler, ileri yaş, erkek olma, yaralanma şiddeti, nörolojik olarak komplet olma, ventilatör bağımlı olma ve nörolojik seviyenin yüksek olmasıdır (32).

Spinal kord yaralanması insidansı 15 yaş altında en az iken, 16-30 yaşları arasında en yüksek olarak tespit edilmiştir. Ortalama yaş 35,9 yıl olarak bildirilmektedir (30).Tüm yapılan çalışmalarda travmatik omurilik hasarının erkek popülasyonda daha sık görüldüğü bulunmuştur(29).

Gelişmiş ülkelerde travmatik omurilik hasarının ana nedeni trafik kazalarıdır, görülme sıklığı %35'den %53,8'e değişiklik göstermektedir, ikinci en sık neden yüksekten düşmelerdir ve oranı %22,6 -%37 arasındadır. Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda ise en sık neden yüksekten düşmelerdir, %37,9 - %63 oranında görülür (29).

Travmatik omurilik hasarı gelişmiş ülkelerde en sık servikal (%41,6-75) bölgede görülmektedir, bunu torakal (%16-36) ve lomber (%17) bölge takip etmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise oranlar geniş varyasyonlar

göstermektedir; servikal bölgede %4,8-47,2, torakal bölgede %19-34,6, lomber bölgede ise %13,3-59,4 oranlarındadır (29,31)

Birmingham Ulusal Spinal Kord Yaralanması İstatistik Merkezi spinal kord yaralanması (SKY) olan kişileri; % 51,7'si tetraplejik, % 45,9'u paraplejik ve % 2,4'ü ise nörolojik seviyesi doğrulanmamış olarak vermektedir. Paraplejik kişilerin % 35'i torasik, % 11'i lumbosakral lezyonlu kişilerdir (30).

2.1.4.2 OMURİLİK YARALANMASINDA FİZYOPATOLOJİ

2.1.4.2.1 PRİMER HASAR MEKANİZMALARI

Travma anında olan hasar primer mekanik zedelenmedir. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi ve penetran yaralanmalar nöral elemanların kendisinde veya omurilik damarlarında gerilme veya yırtılmaya neden olur. Diğer olası mekanik etkiler, kemik kısımlardan, ligamanlardan veya spinal kanal içindeki hematomlardan kaynaklanan kompresyonu içermektedir (10,33). Bu kuvvetler sadece yaralanma esnasında akut olarak değil, kalıcı deformiteye sekonder olarak, kronik olarak da omuriliği tahrip edebilir. Posttravmatik kifoz gibi daha ileri yapısal deformasyonlar nörolojik defisitte kötüleşmeye neden olabilir. Yaralanmanın yaygınlığı, ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli boyutlarına da dayanmaktadır. Geniş kanallar herhangi bir mekanik strese bir tampon sağlayabilse de, dar kanallarda böyle bir rezerv yoktur (34).

Primer yaralanmanın dört karakteristik mekanizması vardır;

1. Persistan kompresyon + darbe,
2. Transient kompresyon ile darbe,
3. Distraksiyon,
4. Rotasyon ve transeksiyon.

İlk ve en yaygın mekanizma persistan kompresyon ve darbedir. Burst fraktürlerinde geriye doğru yer değiştiren kemik fragmanların kordu sıkıştırması, fraktür dislokasyon ve akut disk rüptürlerinde bu kanıtlanmıştır (35). İkinci

mekanizma olan transient kompresyon ise altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerde, sadece darbe ve hiperekstansiyon sonucu görülür (35). Distraksiyon, aksiyel planda spinal kolonu gerici kuvvetlerin oluşturduğu mekanizmadır. Fleksiyon, ekstansiyon, rotasyon ya da dislokasyondan kaynaklanan distraksiyonel kuvvetlerin spinal kordu ve/veya onun vasküler yapısını gerip yırtmasından kaynaklanır. Radyolojik anormallik olmaksızın spinal kord yaralanmasının altında bu tip bir yaralanma yatabilir. Özellikle kartilajenöz vertebra cismi, gelişmemiş adale yapısı ve ligaman gevşekliği çocuklarda bu tip yaralanma için predispozan faktörlerdir. Aynı zamanda bu tip yaralanma travmanın radyolojik kanıtı olmadan yetişkinlerde altta yatan dejeneratif spinal hastalık durumunda SKY'na yol açan bir sendromdur (35).

Son mekanizma laserasyon ve transeksiyondur. Spinal kord laserasyonu ateşli silah yaralanması, keskin kemik fragman dislokasyonu ya da ileri derecede distraksiyondan kaynaklanır. Minör yaralanmadan komplet transeksiyona kadar değişik derecede olabilir (35)

Torakoabdominal aorta cerrahisi sırasında aortaya kros klemp konulması spinal kord iskemisine bağlı ciddi nörolojik komplikasyonlara yol açabilir. Hastalığın yaygınlığına, morfolojisine, operasyon tekniğine ve rekonstrüksiyon tipine, kros-klemp süresine, hastanın yaşı ve yandaş hastalığına göre bildirilen nörolojik komplikasyon oranları % 5 ile % 40 arasında değişmektedir (7).

Nörolojik hasar duyuşal kusur ile parapleji arasında değişik boyutlarda olabilir. Spinal kordun arteriyel kanlanması iskemide önemli rol üstlenmektedir. Aşağı torasik ve üst lomber aortadan köken alan Adamkiewicz arteri aşağı spinal kord ön boynuz kan akımının önemli bir bölümünü karşılar (36). Bu arterin üst kısmından yerleştirilen kros klemp esnasında iskemi kaçınılmazdır. İskemi süresi yine nörolojik hasar açısından belirleyici bir faktördür. Yapılan çalışmalarda 30 dakika altında klemp süresi spinal iskemi yönünden sınır olarak kabul edilir. Bu sürenin altında parapleji gelişmişse de bu geri dönüşlü olabilir (37).

2.1.4.2.2. SEKONDER HASARLANMA MEKANİZMALARI

Akut yaralamadan sonra kordda kanama, ödem, aksonal ve nöronal nekroz kist formasyonu ve enfarktın takip ettiği demiyelinizasyon gibi patolojik değişiklikler oluşur (10,38). Spinal şok, vasküler değişiklikler, hücre içi Ca^{++} artışı, serbest radikal teorisi, endojen opioidler, enflamasyon ve apoptoz teorileri üzerinde en fazla durulan sekonder hasar mekanizmalarıdır (10,38).

Sekonder yaralanma konsepti ilk defa 1911 de Allen tarafından ortaya atılmıştır. Allen köpeklerde myelotominin ve posttravmatik hematomyelinin çıkarılmasının nörolojik fonksiyonlarda düzelme sağladığını deneysel olarak göstermiştir. Allen spinal korda kord hasarlandıktan sonra var olan hemorajik nekrotik materyalde zararlı bir ajanın varlığından teorisinde bahsetmiş ve bunu biyokimyasal faktör olarak adlandırmıştır. Bu posttravmatik oto destrüksiyonun ilk deneysel kanıtıdır. Allen ilk olarak köpeklerde patolojik değişikliklerin gelişimini açıklamıştır (10,38).

Akut yaralanma sonrası ilk 15 dakikada gri maddede peteşiyal kanamalar, beyaz maddede ödem oluşur. İlk 2 saatte gri maddedeki kanamalar artar. 4 saatte çok sayıda şişmiş silindirik eksenleri bulunur. Zamanla patolojik değişikliklerin kötüleştiği, öyle ki yaralanmadan 6 gün sonra ileri derecede nekroz olduğu gösterilmiştir. Bu süreci Nemecek “otodestrüksiyon” olarak adlandırmıştır (10,38). Dohrmann ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada elektron mikroskobu ile yaralanmadan sonra 5 dakika içinde gri maddenin musküler venüllerinin eritrositlerle şiştiğini fakat aksonların değişmemiş görüldüğünü göstermişlerdir. Travma sonrası 15. ve 30. dakika arası eritrositlerin postkapiller perivasküler boşluğa ve musküler venlere ekstrasvazasyonu ile birlikte küçük kanamalar olduğu ve aksonal değişikliklerin görünür hale geldiği gösterilmiştir. 4 saat sonra bozulmuş myelin kılıflar, aksonal dejenerasyon ve iskemik endotelyal hasar saptanmıştır. Yaralanmadan sonra ilk birkaç gün içinde progresif aksonal değişiklikler ve nekrotik bölgelerin geliştiği, yaralanma bölgesinde ödem gelişimi ve komşu segmentlere yayıldığı gösterilmiştir. Majör travmadan 24-48 saat sonra özellikle daha önce kanla kaplı olan santral bölge olmak üzere yaralanma alanı nekrotiktir. Birkaç gün sonra hemorajik bölge kavitasyon gösterir. Komşu

alanlarda sıklıkla keskin sınırları olan yamasal nekrozlar (patchy nekrozis) görülür. Bu progresif değişiklikler, kavitasyon oluşumu, enfarktların patolojik özellikleridir ve bu süreçte posttravmatik enfarkt eşlik etmektedir (10,38).

2.1.4.3 OMURİLİK YARALANMARINDA SINIFLAMA

2.1.4.3.1. SAYISAL SINIFLANDIRMALAR

2.1.4.3.1.1 NASCIS SKALASI

‘The National Acute Spinal Cord Injury Study Group’ tarafından tanımlanmıştır. Hem motor, hem duyu fonksiyonunu değerlendirir. Hassas bir test olmasının yanı sıra değerlendirmenin zor olması ve basit duyuşal değişikliklerin sonucu önemli oranda etkilemesi önemli dezavantajlarıdır (62).

2.1.4.3.1.2 ASIA MOTOR SKALASI: ‘

American Spinal Injury Association’ tarafından hazırlanan yalnızca motor fonksiyonu ölçmeyi amaçlayan bir skaladır. En önemli eksikliği duyuşal değerlendirme olmamasıdır. Günümüzde sık kullanılmamaktadır (62).

2.1.4.3.1.3 ASIA/IMSOP HASAR SKALASI

‘International Medical Society of Paraplegia’ tarafından ASIA motor skalasının (Tablo 1) geliştirilmesi ile ortaya çıkarılmıştır. Hem motor hem duyu fonksiyonları değerlendirilir. En sık kullanılan skalalardandır (62).

Tablo.1: ASIA/IMSOP Hasar Skalası

Skor		Klinik
Grade A	Komplet	Tam motor hareket ve duyu kaybı(sakral 4-5 lifleride dahil)
Grade B	İnkomplet	Tam motor kayıp. Ancak Nörolojik seviyenin altında duyu fonksiyonu korunmuş
Grade C	İnkomplet	Motor ve duyu kaybı var. Nörolojik seviyenin altında önemli kas gruplarında kas gücü için altında
Grade D	İnkomplet	Motor ve duyu kaybı var. Nörolojik seviyenin altında önemli kas gruplarında kas gücü üç veya üçün üstünde
Grade E	Normal	Normal duyu ve motor fonksiyon

2.1.4.3.2. KLİNİK SINIFLANDIRMALAR

2.1.4.3.2.1 SERVİKOMEDÜLLER SENDROM

Servikal omurilik ve medulla oblongatada hasar vardır. Bu olgularda değişen derecelerde solunum yetmezliği, hipotansiyon, tetraparezi/tetrapleji, yüzde soğan kabuğu tarzında duyu kaybı görülür. Kollarda bacaklardan daha fazla kuvvetsizlik olması nedeni ile santral kord lezyonlarını taklit edebilir (62).

2.1.4.3.2.2 BROWN-SEQUARD SENDROMU

Bu sendromda travma sonucu omuriliğin yarısında hasar söz konusudur. İpsilateral motor ve propriosepsiyon kaybı ve kontrolateral ağrı ve ısı kaybı ile karakterizedir. Sıklıkla servikal yaralanma sonrasında gelişirler (62).

2.1.4.3.2.3 ANTERİOR KORD SENDROMU

Spinal kordun anterior kısmı hasar görmüştür, lezyonun şiddetine göre lateral kortikospinal yollarda etkilenebilir yada korunabilir. Lezyon seviyesinde hiperestezi, beraberinde dokunma ve vibrasyon duyusunun korunduğu komplet motor paralizi ile karakterizedir (62).

2.1.4.3.2.3 POSTERİOR KORD SENDROMU

Hasar omuriliğin dorsal bölümündedir. Hastalarda propriosepsiyon duyu kaybı gelişir. Oldukça nadir görülür (62).

2.1.4.3.2.4 SANTRAL KORD SENDROMU

Lezyon spinal kordun merkezindedir. Motor defisit üst ekstremitede alt ekstremiteden daha fazladır (62).

2.1.4.3.2.5. RADYOLOJİK ANORMALLİK OLMASIZIN OMURİLİK YARALANMASI:

SCIWORA; ‘Spinal cord injury without radiologic abnormality’. Radyolojik incelemelerde patoloji saptanmamasına rağmen omurilik hasarı tablosunun ortaya çıkması halidir. Çocuklarda daha sık görülür. Bunun nedeni çocuklarda spinal ligamentlerin esnek ve paraspinal kasların daha zayıf olmasıdır. SCIWORET; ‘Spinal cord injury without radiologic evidence of trauma’. Daha çok erişkinlerde servikal spondiloz zemininde gelişir (62).

2.1.4.4. OMURİLİK YARALANMASINDA TEDAVİ PRENSİPLERİ

Omurilik yaralanmasında ilk müdahale çok önemlidir. Travma yerinden hastaneye nakil esnasında omurga uygun şekilde tespit edilmelidir. Nörolojik muayene ve radyolojik incelemeler sonrasında tedavi stratejisi belirlenir. Gerekirse omurga dekompresyonu yapılır, omurga dizilim bütünlüğü sağlanır. Omurilik dekompresyonu ve stabilizasyonu sonrası en önemli konu sekonder hasar gelişimini önlemeye yönelik yapılacak olan tedavilerdir (62).

2.1.4.4.1 FARMAKOLOJİK TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

2.1.4.4.1.1 METİLPREDNİZOLON

Akut spinal kord hasarında kortikosteroidler, antiinflamatuvar etkinlikleri ve buna bağlı olarak ödemi azaltması nedeniyle 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır ve deneysel çalışmaların önemli bir kısmında yararlılığı ortaya konulmuştur (63,64). Buna karşın nöroprotektif etkinliğinin mekanizması tam anlaşılamamıştır. Lipit peroksidasyonu, inflamatuvar sitokinlerin inhibisyonu, inflamatuvar immün

hücre modülasyonu gibi mekanizmalarla etki gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca vasküler perfüzyonu artırmakta ve kalsiyumun hücreye geçişi ile hücre içinde birikimini önlemektedir (65). Glikokortikoidlerin lipid peroksidasyonunu önlemesi en güçlü nöroprotektif etkileridir. MP'nin bu konuda diğer glikokortikoidlere göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (66). MP, lökosit işlevlerinden kemotaksisi, fagositozu, inflamatuvar mediatör ve lizozomal enzim salınımını inhibe ederek antiinflamatuvar etki gösterir. Lipokortin, vazokortin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim gibi antiinflamatuvar polipeptidlerin salınımını stimüle eder. Bunun sonucunda, membran fosfolipitlerinden araşidonik asit oluşumunu katalize eden fosfolipaz A2, eikozonoidler, serbest oksijen radikali oluşumu inhibe olur. Diğer nöroprotektif etkinliğini ise nötrofillerin endotel hücrelerine olan hasarı engelleyerek sağlar (67). Yüksek doz metilprednizolon lipid peroksidasyonu ve hidrolizi azaltarak, ATPaz gibi membrana bağlı enzimleri ve hücre iskeleti nörofilamentlerini korur ve membran stabilizasyonunu sağlar, damar geçirgenliğini ve doku ödemi azaltır (13,68).

Medulla spinalis yaralanmalarında halen en yaygın klinik kullanımı olan ajan metilprednizolondur , MP'nin uygun doz ve uygun zamanda uygulanması ile spinal kord yaralanması nörolojik defisitlerinde klinik ve deneysel çalışmalarla faydası olduğu gösterilmiştir (13,63,69). Ancak yüksek doz kortikosteroidlerin ciddi yan etkileri ve klinik kür de yetersizliği yeni nöroprotektif ajanlara yönelik çalışmaları gerekli kılmaktadır. Günümüzde metilprednizolon akut spinal kord hasarlanması tedavisinde kullanılması güncel olarak kabul edilen tek ilaçtır (70,71).

İnsan omurilik yaralanmasında metilprednizolon kullanımı ile ilgili en geniş kapsamlı klinik çalışma NASCIS I tarafından yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda NASCIS I'de kullanılan metilprednizolon dozlarının düşük olduğu düşünülmüş ve NASCIS II çalışması planlanarak burada daha yüksek dozda metilprednizolon kullanılmıştır. NASCIS II'de 30 mg/ kg bolus ve takiben 23 saat süre ile 5,4 mg/kg/saat metilprednizolon uygulanmıştır ve çalışma sonunda metilprednizolonun ilk sekiz saat içerisinde uygulandığında nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı görülmüştür (62). NASCIS II tedavisi NASCIS III

çalışması ile değişikliğe uğramıştır. NASCIS III çalışmasında trilazad mesilat ve MP tedavileri ve tedavinin süreleri karşılaştırılmıştır, buna göre MP tedavisi için, yaralanma sonrası ilk 3 saat içinde tedaviye alınan ve 48 saat tedavi verilen hastalarda sonuçlar daha iyi bulunmuştur (14).

2.1.4.4.1.2 GANGLİOZİDLER :

Asidik glikolipitler olup hücre membranının dış lipit tabakasındaki ana maddedir. Eksojen gangliosidler lipit tabakasına yerleşip endojen gangliosid gibi davranırlar. Dokudaki hücre rejenerasyonunu arttıırırlar. Eksitator aminoasitlerin nörotoksitesini azaltırlar. Deneysel çalışmalarda nöroprotektif ve nöronal fonksiyon restorasyonunda potansiyel etkileri bulunmuştur. Bir çalışmada 100 mg/gün GM-1 travmadan 48 saat sonra başlanmış ve ortalama 26 gün uygulanmıştır. Bir yıl sonunda hastalar Frankel ve ASIA motor skoruna göre değerlendirildiklerinde GM-1 anlamlı düzeyde yararlı olarak bulunmuştur (34,72).

2.1.4.4.1.3 GLUTAMAT RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ :

Glutamat ve diğer eksitator aminoasitler nöron hasarı oluşumunda etkin bir yere sahiptirler. Omurilik yaralanması sonrasında hem kompetatif hemde non kompetatif NMDA reseptör antagonistlerinin nörolojik iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir, ancak ciddi yan etkileri nedeni ile klinik çalışmalar yapılamamaktadır (62).

2.1.4.4.1.4 KALSİYUM KANAL BLOKÖRLERİ

Kalsiyumun hücre içine girişini engelleyerek etki ederler. Faydalı etkilerinin yaralanma sonucunda oluşan vazospazma uğrayan mikrovasküler yapılar üzerinden olduğuna inanılmaktadır (62).

2.1.4.4.1.5 SERBEST RADİKAL TUTUCULAR

Serbest radikaller omurilik yaralanması sonrası ortaya çıkarak hücre içi ve dışında lipit peroksidasyonuna yol açarlar. Normalde MSS yüksek konsantrasyonlarda antioksidan içermektedir ancak omurilik hasarı askorbat, retinoik asid ve alfa tokoferol gibi bu endojen antioksidanların seviyelerini hızla düşürür (62).

2.1.4.4.1.6 TRİLAZAD MESİLAT

21-aminosteroiddir. Steroid olmasına rağmen steroidlerin yan etkilerini taşımaz. Antioksidan etkisi metilprednizolon'dan fazladır. Lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Membranı stabilize eder, omurilik kan akımını arttırır. Trilazad mesilat'ın (U74006F) serbest radikal tutucu mekanizmaylada etkili olduğu bildirilmektedir. NASCIS III çalışması trilazad ile metilprednizolonun etkilerini karşılaştırmaya yönelik yapılmaktadır (14,73).

2.1.4.4.2 REJENERASYON ÇALIŞMALARI

Sıklıkla kök hücreler kullanılmaktadır. Kök hücre kendini yenileme ve multipotansiyalite özellikleri olan öncelikle hematolojik sistemde tanımlanmış fakat sonraları MSS'ni de içine alan birçok sistemde bulunmuş ve birçok patolojide terapötik rolleri tanımlanmış olan hücrelerdir. Kök hücreler ile yapılan çalışmalar omurilik yaralanmalarında gelecek için umut vaat etmektedir (68).

2.2. İSKEMİ VE REPERFÜZYON YARALANMASI

2.2.1. İSKEMİK HASAR

İskemi, kan akımı yetersizliği nedeniyle dokuların ihtiyacı olan oksijen ve metabolik substratların karşılanamadığı patolojik bir olaydır. Nöral doku iskemiye çok duyarlı olup oksijen depo edemediği ve rejenere olamadığı için, oksijen desteği kritik değerlerin altına düştüğü zaman canlılığını sürdüremeyecektir. Hasarın şiddeti, hipoksinin süresi ve derinliğine bağlıdır (39).

Omuriliğin metabolik ihtiyaçları ve bunun için gerekli olan kan akımı arasında hassas bir denge vardır. Bazal şartlarda spinal kordun total kan akımı 30-35 mL./100 gr. doku/dk.'dır (39). Enerji etimi için gerekli olan oksijen ve diğerk substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otoreğölasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Spinal kord kan akımı, 50-135 mmHg. ortalama sistemik arter basıncında, bu intrinsek kontrol mekanizmalarıyla güvenli bir şekilde sürdürölmektedir (39,40).

Uzamiş iskemi hücrede metabolik ve yapısal değışikliklere neden olur. İske mi nedeniyle hücre sel oksidatif fosforilizasyon azalır. Hücre membranında adenosin trifosfat (ATP) bağımlı iyon pompası fonksiyonunun bozulması sonucu hücre içine kalsiyum (Ca^{++}), sodyum (Na^{+}) ve su girişı artar. İske mi sırasında adenin nükleotid katabolizması sonucu hücre içinde hipoksantin birikir. Bu arada, endotelde bazı proinflatuar ürünlerin (lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler) ve biyoaktif ajanların (endotelin, tromboksan A2 (Tx A2)) yapımı artarken, diğerk bazı koruyucu ürünlerin (yapısal nitrikoksit sentaz, trombomodulin) ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, nitrik oksit (NO)) yapımı baskılanır. Böylece iske mi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflatuar bir durum başlatır (39).

İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağılı olarak, bir kısım hücre nekroz veya apoptozis ile ölmeye devam eder. Etkilenen dokularda sıklıkla nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Parankimal hücreler, endotel hücreleri ve lökositlerce serbest oksijen radikalleri (SOR)' nin yapımı artar. Bu arada hasarlı mitokondrilerde oksijen yetersizliğı veya alternatif yollardan oksijenin indirgenmesi ile de SOR oluşabilir. Hücre sel antioksidan savunma sistemleri de iske mi nedeniyle zayıflar (39).

Sonuç olarak, iske mi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamış, birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücre sel ve humoral olaylar dizisidir (39).

Hipoksi durumunda, hücre canlılığının devamı için gerekli olan enerji (adenozin trifosfat) (ATP), glikojen depolarından glikoliz yoluyla yani anaerobik olarak üretilmeye başlar. Bu esnada, aerobik glikoliz neredeyse durma noktasına gelmekte, ATP' nin sadece %7'si bu yolla üretilmektedir (41). Normal ısı derecesinde, 3-4 dakikalık iskemiye takiben ATP depoları tamamen boşalır, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon durur. ATP düzeyi sıfıra yaklaştığında intraselüler iyonik homeostazis için gerekli olan ve ATP' ye bağımlı membran iyon pompaları çalışamaz olur (39,42). İrreversibl sellüler hasar sürecinin başlamasında Ca^{++} iyon homeostazisinin bozulması en kritik noktadır. İskemi esnasında, intrasellüler Ca^{++} hızla çoğalmakta, Ca^{++} seviyesindeki bu artış sitoplazmik proteazlar ve nükleazların salınımını aktive etmektedir. Bunlar yapısal proteinlerin ve DNA' nın hasar görmesinden sorumlu olan enzimlerdir. Ca^{++} un aktive ettiği fosfolipazlar, membran lipidlerini, araşidonik asit ve diğer çeşitli vazoaktif metabolitlere dönüştürecektir. Endotelial ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüşür ve bu da reperfüzyon esnasında serbest radikal üretiminde rol alan önemli bir ajandır. Bununla birlikte, intrasellüler Ca^{++} konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikiside şiddetle nörotoksik olan aspartat ve glutamat gibi eksitator aminoasitlerin miktarının artmasına neden olur (39,42).

Glutamat beyin metabolizmasında önemli bir yer tutmaktadır. İskemi sonrasında temel eksitator mediyatörü olan glutamat lokal olarak artınca, hücre zarında N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) ve amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) reseptörlerini etkileyip, bir dizi reaksiyon sonrası hücre içi yıkım enzimlerinin etkileşmesine yol açmaktadır (39,43). Glutamat metabolizması sırasında oluşan ara ve son ürünler, değişik aşamalarda sitrik asit döngüsüne katılmaktadırlar. Glutamatın dekarboksilasyonu sonucu oluşan, diğer dokularda çok düşük miktarlarda bulunan gamma aminobütirik asit (GABA), beyin ve omurilikte yüksek konsantrasyondadır. GABA ile alfa ketoglutaratın transaminasyon tepkimesi sonucu süksinat semialdehit ve glutamat elde edilmekte, daha sonra süksinat semialdehitin oksitlenmesiyle oluşan süksinat da sitrik asit döngüsüne katılmaktadır. Alfaketoglutaratın %20-30 kadarı GABA şantı olarak bilinen bu yolda kullanılmaktadır. Plazmadan alınan etanolamin

beyinde fosfatidiletanolamine çevrilmekte ve daha sonra fosfatidiletanolaminin metillenmesiyle fosfatidilkolin oluşmaktadır (39).

Beyinde üre sentezi yapılamamaktadır. Çünkü üre döngüsünde görevli enzim olan karbamoil fosfat sentetaz I enzimi beyinde yoktur. Amino asitlerin deaminasyonu sonucu oluşan amonyak (NH_3), glutamattan glutamin oluşturarak beyini terkeder. Beyinde küçük miktarda glutamin birikintisi vardır (39,43).

İntrasinaptik glutamat birikimi postsinaptik nöron düzeyinde iyon hareketlerinde bir dengesizlik oluşturur. Böylece, Na^+ kanallarının aktivasyonu yoğun bir su ve Na^+ akışı sağlayarak intrasellüler bir ödeme yol açarken, aşırı Ca^{++} yüklü lipid ve proteinlerde degradasyon reaksiyonlarının aktive ederek sonuçta nöronal nekroz oluşturabilir (39,43).

2.2.1.1. REVERSİBL İSKEMİK HASAR

İskemiyle birlikte hızla gelişen hipoksiye bağlı olarak hücrenin aerobik solunumu (mitokondrial oksidatif fosforilasyon) felç olur ve hücrenin enerji kaynağı olan Adenozin Trifosfat (ATP)' in düzeyi azalır ve hücrede ATP' ye bağımlı birçok fonksiyonda azalma ve bunlarla paralel çeşitli yapısal bozukluklar meydana gelir:

Na^+ - K^+ -ATPaz pompasının yavaşlamasına bağlı olarak intrasellüler ortamda Na^+ ve Ca^{++} birikirken K^+ azalır, neticede hücre ve endoplazmik retikulum (ER) su alarak şişer (39).

Hücrede anaerobik solunum olan glikoliz devreye girer ve neticede pH düşer, bu durum nükleustaki kromatinde kümeleşmeye, lizozomların salıverilmesine ve buna bağlı olarak membran hasarına neden olur (39).

ER' deki ribozomlar ayrılır ve protein sentezi azalır. Yukarıda belirtilen biyokimyasal ve patolojik bozukluklar, kan akımı tekrar sağlanırsa geriye

dönebilir, eğer iskemi devam ederse ATP' deki tükenme şiddetlenir ve morfolojik hasar irrevesibl sınıra doğru ilerler (39).

2.2.1.2 İRREVESİBL İSKEMİK HASAR

Reversibl iskemik hasarın irreversibl hasara dönüşümünün altında yatan biyokimyasal olaylar tam olarak aydınlatılamamıştır; ancak bunun habercisi olan bazı morfolojik değişiklikler tespit edilmiştir. İrreversibl hasarın ortaya çıkmasıyla ilişkilendirilen en önemli morfolojik değişiklik sitoplazma membranının hasarıdır ve bunun oluşumuyla ilgili oldukları ileri sürülen bazı mekanizmalar vardır:

1) ATP' nin azalması sitoplazma membranının yapısına giren fosfolipit kaybına eden olur. Bu, fosfolipit biyosentezinin azalmasına ve ATP tükenmesi sonucu yükselen intrasellüler Ca^{++} un fosfolipaz aktive edip fosfolipit yıkımını arttırmasına bağlıdır,

2) Artan Ca^{++} proteaz aktivitesinin artmasına ve membranla ilişkili hücre iskeletinin yıkılmasına neden olur,

3) Serbest oksijen radikalleri lipit peroksidasyonu ile membran hasarı meydana getirir. Sitoplazma membran hasarı sonrasında sitoplazma içerisine masif Ca^{++} girişi meydana gelir; içeri giren bu Ca^{++} un önemli bir kısmı mitokondriler tarafından alınır ve bu organelin şişmesine ve fonksiyon kaybına neden olur. Yukarıda sayılan olayları lizozomal membran hasarı ve bunların enzimlerinin serbestleşip hücrede sindirimi başlatması izler. Sonuçta oluşan bir dizi olay sonucu hücre ölümü gerçekleşir (39).

2.2.1.3. İYON DENGESİNİN BOZULMASI

Sinir hücresi membranının da iyon trafiği başlıca üç tip transport sistemi ile gerçekleşmektedir (39).

Aktif transport sistemi: Direkt veya indirekt olarak enerjiye (ATP) bağımlıdır. (Örn: Na^+/K^+ ATPaz pompası)

Pasif transport sistemi: Elektrokimyasal gradientlere bağılı olarak membran kanalları aracılığı ile gerçekleşir. Enerji bağımlı değildir.

İyon Kanalları (İyonoforlar) : Reseptör protein yapısında kanallardır (39,44,45).

Hücreye enerji sağladığı sürece aktif ve pasif transport sistemleri uyum içinde çalışarak iyon dengesini sağlamaktadır. İyon dengesi, hücre içi metabolizma ve sinyal iletimi gibi temel fonksiyonlar ile elektrofizyolojik anlamda sinir hücresinde uyarı iletim fonksiyonu için gerekli olan membran potansiyelinin oluşturulmasında birinci derecede önem taşımaktadır. Sağlıklı polarize bir sinir hücresinde, sözü edilen aktif ve pasif transport sistemleri ile sağlanan ve iyonların membranın iki yüzünde eşit olmayan dağılımı ile oluşturulan 60 mV luk bir membran potansiyeli bulunmaktadır. Sinirsel uyarı iletimi membranın ardışık olarak depolarizasyonu, repolarizasyonu ile gerçekleşmektedir. Sinir hücresinin bu elektriksel aktivitesi de elektroensefalogram (EEG) dalgaları ve somatosensoriel uyarılmış potansiyeller (SEP) ile gösterilmektedir (39,45,46).

2.2.1.3.1 KALSİYUM

Santral sinir sisteminde yaralanmayı takiben nöronal dejenerasyonun patogeneğinde Ca^{++} a karşı oluşan membran geçirgenliğindeki değişiklikler önemli yer tutar. Örneğin, nöronal kültürlerde glutamat sitotoksitesi çalışmaları, beyaz cevher yaralanmasında hipoksi çalışmaları, spinal kord travması sonrası aksonlarda Ca^{++} akümüasyonu ultrastrüktürel çalışmaları, optik sinir ve spinal kordda aksonal ve glial Ca^{++} seviye değişikliklerini görüntüleme çalışmaları ve posttravmatik spinal kord kan akımı çalışmaları nöronal yaralanmanın Ca^{++} hipotezini kuvvetle desteklemektedir (39,47). Voltaj bağımlı Ca^{++} kanalları, uyarılabilir hücrelerde Ca^{++} girişi için önemli bir yolak oluştururlar. Voltaj bağımlılığı kinetik ve farmakolojik duyarlılık gibi birtakım özelliklerle karakterize heterojen bir aile oluştururlar. Ca^{++} kanallarının fonksiyonel heterojenitesi esas olarak alfa-1 subünitindeki farklılıklardan kaynaklanır. Günümüzde alfa-1 subünitinin 6 majör subtipi tanımlanmıştır. Fizyolojik özelliklerinin temelinde ve

farmakolojik profillerine göre bu kanallar düşük voltaj aktivasyonlu ya da T tip kanallar ve birkaç yüksek voltaj aktivasyonlu kanal olarak L, N, P, Q ve R tipleri şeklinde sınıflandırılabilirler. Beyaz cevher hasarında Ca^{++} a bağlı mekanizma çok açık değildir. Hipoksi iskemi ya da travmatik yaralanmaya maruz kalan nöronlarda iyonotropik glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonundan Ca^{++} aşırı yüklenmesi bildirilmiştir. amino propanoic acid (AMPA) ve Kainik Asit (KA) reseptörleri hızlı eksitator sinaptik aşırımda rol oynarlar. Glial dokuda AMPA/KA reseptörlerinin aktivasyonu santral sinir sistemi beyaz cevherinde eksitotoksik yaralanma ile ilişkilendirilmiştir. Bu AMPA/KA reseptörleri Ca^{++} akışını yönlendirirler. İntraselüler Ca^{++} artışı proteazların, endonükleazların aktivasyonuna, apoptoz, nekroz, mitokondrial hasar ve asidoza öncülük eder ve artmış serbest radikal üretimi, aksonal yaralanma ile sonuçlanır. Periaksonal gliada voltaj bağımlı Ca^{++} kanalları boyunca Ca^{++} akışı posttravmatik aksonal iletim azalmasını hızlandırır. Oligodendrositlerde Ca^{++} kanallarının yoğun aktivasyonu, bu hücreleri destrukte eder, böylece myelini hasara uğratar. Bu kanalların blokajı oligodendrosit ve myelinlerini koruyabilir. Böylece travmatik yaralanmayı takiben aksonal iletim korunması artar (39,47).

Normal şartlar altında Ca^{++} , hücre içinde kalmodilin ve kalsibindin gibi proteinlere bağlanarak tamponlanır. Ancak hidrojen (H^+) iyonu da aynı proteinlerle tamponlanmaktadır. Bu nedenle patolojik olaya asidozun eşlik etmesi durumunda bağlayıcı proteinlerin daha büyük bir bölümü H^+ iyonunu tamponlayacaktır. Bu durum hücre içi serbest Ca^{++} konsantrasyonunda ek artışa yol açacaktır (39,48,49).

2.2.1.3.2. SODYUM

Sodyuma bağlı hücre yaralanmasının potansiyel mekanizmaları,

1. Sitotoksik ödem indüksiyonu.
2. İntraselüler fosfolipaz aktivitesinin simülasyonu.
3. Na^+/H^+ kapısı yolu ile intraselüler asidoz.
4. Na^+/Ca^{++} değıştiricisinin ters çalışması ile intraselüler Ca^{++} artışı.

Travmatik aksonal yaralanma, voltaj bağımlı kanallar yolu ile Na⁺ girişi sonrası sodyumda bir yükselme ile ilişkilidir ve membran bağımlı Na/K ATP az disfonksiyonu ile sodyum çıkışı azalır. Na artışı Na⁺/H⁺ değişimi yoluyla intraselüler asidoza neden olur. Na⁺/H⁺ değişimi intraselüler pH' ın regülasyonunda primer role sahiptir (39,47).

2.2.2 REPERFÜZYON

Dokulara kan sağlayan damarların, bir pıhtı veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Doku kanlanmasının ilaçlarla veya mekanik müdahalelerle yeniden sağlanıp sellüler homeostazisin yeniden restorasyonu ise reperfüzyondur (39,41). Çokda masum olmayan bu durum sırasında ortaya çıkan bazı toksik ajanlar doku hasarına yol açmaktadırlar. Son yıllarda iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarında SOR' nin rolü ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, intestinal sistem ve diğer dokular üzerinde SOR' nin etkileri hakkında geniş bilgiler elde edilmesine rağmen spinal kord üzerine olan etkileri konusundaki bilgiler sınırlı kalmıştır (39).

Bazen operasyondan sonra nörolojik fonksiyonlar normal iken, ilerleyen günlerde nörolojik defisit ortaya çıkabilir (50). 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 SOR' a dönüşmeye başlar (51). Aerobik hücrelerde oluşan en önemli sitotoksik oksijen metabolitleri, süperoksid anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve serbest hidroksil radikalidir (OH⁻); süperoksid 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 (39,52). SOR' nin, membran lipidlerinin peroksidasyonuna neden olarak membranın kompozisyonunu, morfolojisini ve fonksiyonunu bozduğu düşünülmektedir

(39,53,54). Ayrıca glutamat toksisitesinde de serbest radikallerin olaya katıldığı bilinmektedir.

Serbest radikallerin zararlı etkileri, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu sürecinin başlatılması, kollajen ve hiyalüronik asit gibi yapısal elementlerin parçalanması şeklindedir. Lipid peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulması, bazı kritik membran bağımlı enzim sistemlerinin inaktivasyonu ve tromboksan A2 gibi vazokonstriktif prostaglandinlerin artmasından sorumludur (39,42). Prostaglandin üretimindeki bu olağan dışılık, nihayet inflamatuvar hücrelerde ve platelet agregasyonunda artış, ardından mikrovasküler vazospazm ve trombozisle sonuçlanacaktır. Bu olay "no-reflow fenomeni" olarak da anılır(39,55). Reperfüzyon sırasında oluşan hiperemi, permeabilite artışı ve kompartman sendromunun da, spinal kord hasarından sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (39,41).

İ/R hasarının tek sorumlusu SOR değildir. Ca^{++} iyonu hem direk hemde indirek mekanizmaları uyararak zararlı olmaktadır (39,56,57). Araşinodik asit metabolitlerinin İ/R hasarında önemli rolleri vardır (39,58).

2.2.3. AORTİK KROS-KLEMPLEMENİN ETKİLERİ

Tahmin edilebileceği gibi, klemp distalindeki organlarda iskemi gelişmektedir. En fazla da klempin yerine göre, böbrekler, karaciğer, barsaklar ve spinal kord etkilenmektedir. İçlerindeki en hassas organ spinal kord olup, iskemisi ciddi sonuçlar doğurmaktadır (39,59,60). Aort cerrahisinde spinal kord disfonksiyonunu önleyen tam etkili ve güvenli bir koruma yönteminin varlığından söz edilemez. Bu hasarı önlemeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır ve arayışlar halen sürmektedir (39).

İnen aortanın klemplenmesiyle birlikte, distalde akım kesintiye uğrarken, proksimalde, venöz sisteme de yansıyan ani bir basınç yüksekliği gözlenir. Bazal şartlarda, enerji üretimi için gerekli olan oksijen ve diğer substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otoregülasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Klempleme sonrası kan akımı yetersizliğine bağlı olarak oldukça duyarlı olan nöral doku oksijen depolayamayıp rejenere olamayacağından,

yaşamını bir dizi reaksiyon neticesinde yitirmektedir. Normal ısı derecesinde, 3-4 dakikalık iskemiyi takiben ATP depoları tamamen boşalır ve yukarıda da detaylı dbahisedildiği gibi intrasellüler kalsiyum konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikisi de şiddetle nörotoksik eksitatör aminoasitler olan aspartat ve glutamat miktarının artmasına neden olur (39,42).

Spinal kan akımı, distale doğru inildikçe progresif olarak azalmaktadır, dolayısıyla distal lomber bölge en fazla etkilenecek alandır. Spinal kordaki iskemiyeye en duyarlı hücreler ise anterior boynuz hücreleri olup, hasarlanmaları durumunda motor kayıp ortaya çıkar. Yapılan bir çalışmada, tavşanlarda, iki dakikalık aortik oklüzyonla tüm deneklerde paralizi geliştiğini, 16 dakika içinde kan akımı yeniden sağlandığında motor fonksiyonlardaki geriye dönüşün kesin olduğunu, 27 dakikalık oklüzyon sonrasında ise paralizin kalıcı olduğunu gösterilmiştir (39,61).

Reperfüzyonda, iskemik dokunun yeniden kanlanması ile oksijen ve enerjiye yeniden kavuşan hücrelerde iskemik hasarın azalacağı beklenir; ancak belli durumlarda bu mümkün olmaz ve aksine hasarın arttığı tespit edilir. İskemi sırasında bazı hücrelerin hasara karşı duyarlı hale gelebileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenler karşısında bütünlüklerini kaybedebilecekleri ve duyarlı hale gelmiş bu hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkenin serbest oksijen radikalleri olduğu düşünülmüştür. Bunlar endotel ve parankimal hücrelerinden ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verebildikleri gibi protein, DNA ve mitokondrilere de zarar verebilirler. Bunun dışında reperfüzyon içinde kalsiyumun da önemli rol oynadığı pek çok mekanizma ile hasar çok daha büyük boyutlara ulaşabilmektedir.

Bunların dışında, mikrosirkülatuar akım disfonksiyonu da iskemi süresinin uzunluğu ile orantılı olarak reperfüzyon yetmezliğine katkıda bulunmaktadır (39).

2.2.4. İ/R HASARINI ÖNLENME VE TEDAVİ

Özellikle torakoabdominal aort cerrahisi sonrası spinal kord iskemisine bağlı ortaya çıkan nörolojik defisitler, vasküler cerrahinin gösterdiği gelişmelere rağmen, halen büyük bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu amaçla pek çok koruyucu strateji geliştirilmiştir, genel olarak bu stratejileri üç ana başlıkta toplamak mümkündür:

- 1) Spinal kordun kan akımının cerrahi sırasında devam ettirilmesi
- 2) Spinal kordun iskemiye toleransının arttırılması
- 3) Reperfüzyon hasarının azaltılması

İskemik komplikasyonların önlenmesinde ilk adım kros-klemp zamanının kısa tutulmasıdır. Bununla birlikte cerrahi sırasında klemp zamanı uzayabilmekte, bunu da önceden kestirmek her zaman mümkün olmamaktadır. Çalışmaların çoğunda süre ile iskemi arasında kuvvetli ilişki mevcutken (39,74-76), bazı çalışmalar kros klemp zamanı ile kord iskemisi arasında mutlak ilişki kurulamayacağını, kısa klemp süresinde bile uzun iskemi periyodundan daha ciddi defisitler görülebileceğini belirtmişlerdir (77). Cerrahi sırasında spinal kordun arteriyel beslenmesini idame ettirebilmek için distal aortik perfüzyon, intratekal vazodilatör ajan kullanımı, interkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu ve BOS basıncının azaltılması için serebrospinal sıvının boşaltılması gibi yöntemler rutin kullanım alanı bulmalarına rağmen, spinal kord üzerinde istenen koruyuculuğu sağlayamamaktadırlar (39,74,78).

Tek başına yukarıdaki yöntemler kullanıldığında, iskemi süresinin kısa tutulması halen hayati önemini korumaktadır. Zorunlu olarak iskemi süresinin uzadığı, özellikle kritik olan 30 dakikayı aştığı durumlarda farklı stratejilerin kullanılması gereği doğmaktadır (39).

İkinci olarak, spinal kord iskemisi karşı daha dirençli kılacak yöntemler üzerinde de durulması gerekmektedir. Bu amaçla, hipotermi, anestezi ajanları,

kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokörleri, eksitatuvar aminoasit antagonistleri ve önceden hazırlanma (preconditioning) gündeme gelmiştir (39,79)

Süre kadar önemli faktörlerden biri de iskemi sırasında metabolizma hızının düşürülmesidir. Ancak soğukta bile metabolizma tamamen durmadığı için iskemik hasar zamanla paralel olarak az ya da çok gelişmektedir. Spinal kordun iskemiye karşı toleransını artırmak için hipoterminin nöroprotektif etkisi geniş bir çalışma alanı yarattı. Hipoterminin nöroprotektif etkisinin dokunun metabolizmasını düşürüp oksijen ihtiyacını azaltmasına sekonder olduğu bilinmesine rağmen, hipoterminin membran stabilizasyonu ve uyarıcı aminoasit salınımını azaltıcı etkileri olduğuda gösterildi (39,79). Son yıllarda çalışmalar, vena kava inferordan retrograd yolla hipotermik solüsyon verilmesi üzerine yoğunlaşmaktadır (39,74,79,80):

Nörolojik defisit gelişimi açısından daha önceki çalışmalara göre daha iyi sonuçlar vermekle birlikte, diğer çalışmalarda ortaya çıkan sistemik komplikasyonların görülmemeside bu yöntemin üstün bir yanı olarak göze çarpmaktadır. Yapılan bir çalışmada, spinal kord iskemisi meydana getirilen köpeklere, hipotermi eşliğinde inferior vena kavadan retrograd yolla fenitoin verilmiş ve 75 dakika gibi uzun bir iskemi süresine rağmen fenitoin kullanımının yüksek oranda nöroprotektif etki gösterdiği tespit edilmiştir (39,81).

MP, omurilik yaralanması sonrası oluşan lipit peroksidasyonu bozar, intrasellüler ekstrasellüler kalsiyum akımını stabilize eder, hücre enerji durumunun ve asid-baz dengesinin restorasyonuna yardım eder. Na-K ATPaz aktivitesinin tekrar oluşumunu provake eder, omurilik kan akımını artırır, nörofilaman dejenerasyonunu azaltır, aksonal dejenerasyonu yavaşlatır, vazoaaktif prostoglandin F2a ve tromboksan üretimini inhibe eder, akut ve kronik dönemde elektrofizyolojik iyileşmeyi ve doku korunmasını arttırır. Uzun yıllardır sıklıkla kullanılan metilprednizolon üzerine yapılan yeni bazı çalışmalar neticesinde, metilprednizolonun etkili olmaması, ilaça olan güveni azaltmış ve birçok merkezde rutin kullanımdan kaldırılmıştır (39,82).

Reperfüzyon hasarının azaltılması amacıyla serbest radikal temizleyicileri (süperoksit dismutaz gibi enzimler, allopurinol, E vitamini, koenzim q, sistein, glutatyon, albümin, serüloplasmin, transferin vb.), immün sistem düzenleyicileri, adenozin gibi birçok ajan denenmektedir (39,83).

Sonuç olarak, iskemi ile karşılaşma süresi ne kadar kısa olursa iskemi-reperfüzyon hasarının şiddeti de o kadar az olmaktadır. Hasarı önlemek için çok sayıda teori üretilip birçok kimyasal madde geliştirilmiştir. Ancak bugüne kadar pek azı klinik kullanıma girmiştir (39).

2.3. SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TURLERİ

Serbest radikaller, en dış orbitalinde tek sayıda paylaşılmamış elektron bulunan moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikaller canlı hücrenin biyomembranlarındaki doymamış lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi organik bileşiklerle reaksiyona giren oldukça reaktif nitelikli moleküllerdir. Çok kısa yaşam süreleri olmasına karşın, hücrede oksidatif hasara yol açabilirler (84). Serbest radikaller elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemeleri gerektiğinden oldukça reaktiftirler. Elektronunu başka bir moleküle verebilen serbest radikaller, başka bir molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler. Bu reaksiyonlar yoluyla radikal olmayan yapılar da radikal şekline dönüşebilir (85).

Serbest radikaller normal hücresel metabolik reaksiyonların bir ürünüdür. Bu nedenle biyolojik bir bozukluk olarak nitelendirilmemelidir. Farklı metabolik olaylar farklı radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Hücre zarında, mitokondriyal elektron taşıma zincirinde, sitozol ve endoplazmik retikulumda gelişen metabolik reaksiyonlar serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Aynı zamanda organizmada hastalığa sebep olan eksojen madde etkisi ile de oluşabilirler (86).

Aerobik metabolizmaya sahip canlılarda serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir. Bunun yanısıra organizmada karbon ve kükürt merkezli

radikaller de oluşmaktadır. Serbest radikal gibi davranan, ancak serbest radikal tanımına uymayan oksijen kaynaklı hidrojen peroksit gibi hareketli moleküller de mevcuttur. Bu moleküller de serbest radikaller ile beraber reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılırlar (84,86).

Reaktif oksijen türleri enzimatik reaksiyonlar ve metabolik fonksiyonlar için gereklidir. Buna karşın hücresel yapıları olumsuz etkileyebilirler. Serbest radikallerin en önemli hedef yapıları DNA, lipid ve proteinlerdir. Hücre zarındaki lipidlerde lipid peroksidasyonuna, protein metabolizmasında agregasyon, parçalanma ile kırılmaya ve DNA yapısında mutasyona neden olarak hücre ölümüne yol açabilirler (87).

Serbest radikaller kaynaklarının endojen veya ekzojen oluşuna göre iki gruba ayrılırlar. Ekzojen kaynaklar; sigara dumanı, radyasyon, hava kirliliği ve farmakolojik bazı elementlerdir. Endojen kaynaklar; fagositler, makrofajlar, nötrofiller, elektron transport sistemi, ksantin oksidaz ve araşidonik asit metabolizmasıdır (88,89).

Endojen kaynak bölgelerinden biri olan fagositlerde zar bağımlı NADPH oksidaz enzimi bulunur. Bu enzim hücre zarına bağlı bir flavoproteindir ve fizyolojik koşullarda indirgeyici substrat olarak NADPH'ı kullanır. Monosit aktivasyonu sırasında membran fosfolipitlerinden, fosfolipaz C, D ve A2 ile oluşan araşidonik asit ve diğer yağ asitleri NADPH oksidazı uyarır. Solunumsal patlama, moleküler oksijenin indirgenmesi ile reaktif oksijen türevlerini oluşturur (88,89).

Tablo 2: . Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit anyon radikali (O_2^-)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali ($OH^\bullet$)	Lipit peroksit ($LOOH$)
Peroksit radikali ($ROO^\bullet$)	Singlet oksijen (O_2)
Alkoksil radikali ($RO^\bullet$)	Ozon (O_3)
Semikinon radikali ($HQ^\bullet$)	Hipoklorit asit ($HOCl$)
Organik radikaller ($R^\bullet$)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Nitrik oksit ($NO^\bullet$)	
Azot dioksit ($NO_2^\bullet$)	

Reaktif oksijen türlerinden en fazla etkilenen moleküller lipitlerdir. Lipit peroksidasyonu doymamış lipitlerin bulunduğu yerlerde görülen, moleküler oksijen ile yürüyen reaksiyonlarla gerçekleşen ve lipit hidroperoksitlerin olduğu kompleks bir işlemdir. Çoğu biyolojik örnek içindeki lipit hidroperoksitleri degradasyona uğrayarak, alkan, alken, hidroksi alkenal, keton cisimlerin ortaya çıktığı ürünlere dönüşürler. Lipit peroksidasyonu oto katalitik ve geri dönüşümsüz bir reaksiyon olduğundan oldukça zararlıdır (90)

Canlı hücrelerinde hidroksil radikali öncelikli olarak membran fosfolipitlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerine (polyunsaturated fatty acids, PUFA) saldırarak, PUFA'nın bir karbon atomuna bağlı yan zincirinden hidrojen atomunu ayırarak, su molekülü oluşturacak biçimde bu atomla birleşir (85).

PUFA'nın peroksidasyonu, hücresel hasarın en önemli nedenlerinden biridir. Yağ asitleri peroksidasyonu zincir tepkimeler biçiminde gelişir. İlk olarak yağ asidi ve radikal molekül birleşmesi ile yağ asidi radikali oluşur ve bu molekülün oksijenle birleşmesi sonucu, lipit peroksit radikali oluşur. Lipit peroksit radikali, başka bir yağ asidinin yan zinciri ile reaksiyona girerek, hidroperoksit radikallerini oluşturur. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonbulur.

Peroksitler otokatalitik zincir reaksiyonunu başlatır ve böylece şiddetli hücre zarı hasarı gelişir (84).

Lipit peroksitlerin yıkımıyla aktif aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler yada başlangıç etki bölgesinden difüzyonla hücrenin diğer bölümlerinde hasarın yayılmasına neden olurlar. Bu aldehitlerin en önemlisi malonildialdehittir (MDA). MDA nonenzimatik olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı sonucu ortaya çıkabileceği gibi, araşidonik asidin enzimatik oksijenasyonu sonucu yan ürün olarak da ortaya çıkabilir. Yarılanma ömrü uzundur ve zarları geçebilir (84,85).

Lipit peroksidasyonu birçok hastalığa ve doku hasarına neden olarak zar geçirgenliğini ve mikroviskoziteyi olumsuz yönde etkiler. MDA ise zar bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece iyon taşınması, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu bozulur. Hücre zarında zedelenmeye yol açarak akışkanlığın bozulmasına, sekretuar fonksiyon kaybına ve transmembran iyon dengesizliğine yol açar (84,87)

Peroksidasyonun son ürünü olan aldehitler, hidrokarbon gazlar ve MDA içeren diğer kimyasal bileşikler hücre ödemine neden olur, damar permeabilitesini etkiler, enflamasyon ve kemotaksisi başlatırlar. Fosfolipaz aktivitesini değiştirip, araşidonik asit salınımını uyatarak prostaglandin ve endoperoksidazların yapımını arttırmırlar. Artmış inflamatuvar olayın başlamasıyla salınan sitokinlerin serbest yağ asidi miktarını arttırması, karaciğere giren yağ asidi artışı ile glukoz ve VLDL çıkışı artar (39,84).

Reaktif oksijen türlerinin, aşırı hareketlilikleri nedeni ile yarı ömürleri kısadır ve düşük konsantrasyonlarda bulunurlar (91). Varlıklarının gösterilmesinde “Spin trapping” teknikleri, kolorimetrik ölçümler, kemiluminesans (KL) ve elektron spin rezonans spektroskopisi kullanılmaktadır. KL; kimyasal reaksiyonlarda oluşan ışığın üretimi olup ışık yayılmasını ifade eder. Noninvazif direkt bir yöntemdir (91).

KL ekzotermik oksidatif reaksiyona girebilen ve ışıma oluşturabilen kimyasal maddelerin evrensel özelliğidir. Ortaya çıkan ışık 400-600 nm dalga boyu arasında görülebilir. Fakat daha kısa dalga boyundaki UV alanda veya daha uzun dalga boyundaki kızıl ötesi alanda oluşup görünmeyebilir. Doğal KL düşük şiddette olduğundan ve ışık dalga boylarında potansiyel değişiklikler oluşabildiğinden luminol ve lusigenin gibi güçlendirici bileşikler kullanılmaya başlanmıştır (92).

Luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinedon) ve lusigenin (bis-Nmetilakridon) in vitro ortamda biyolojik sistemlere eklendiğinde oksijenizasyon için seyreltici madde olarak görev alır ve yüksek seviyede uyarılmış ürünler ile KL oluştururlar. Doğal KL ile karşılaştırıldığında bu yöntemin hassasiyetinin 1000 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Nötrofillerin luminol KL'si miyeloperoksidaza bağımlıdır. Lusigenin KL'ı da aktif polimorfonükleer lökositlerin oksidatif metabolizmasını belirlemek için kullanılmıştır (92,93).

Hidrojen peroksit ve hipoklorik asit luminolü doğrudan okside edebilirler. Luminolle hidrojen peroksit, hidroksil radikali, hipoklorit, peroksinitrit ve lipid peroksit radikalleri saptanır. Lusigenin ise süperoksit ile doğrudan reaksiyona girer ve ortamdaki süperoksit radikalinin ölçümünde kullanılır (93,94).

Luminol ve lusigenin oksidan ajanlarla reaksiyona girdiğinde aminofitatlar ve N-metilakridon oluşur. Bu bileşiklerdeki uyarılmış elektronlar, eski konumlarına dönerken KL formunda ışık enerjisi yayarlar. Bu ışık enerjisi luminometre ile saptanır. Belirli zaman aralıkları ile yapılan ölçümlerden grafik elde edilir ve grafikteki eğrinin altında kalan alan (area under curve, AUC) hesaplanarak serbest radikal miktarı belirlenir. Sonuçlar AUC rlu/mg doku cinsinden ifade edilir (92).

2.3.1. ANTİOKSİDANLAR'IN GENEL ÖZELLİKLERİ

Antioksidanlar etkilerini, lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak, hidroksil radikallerini temizleyip lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyerek,

geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek, peroksitlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak ve zincir reaksiyonlarına neden olan tüm radikallerle reaksiyona girip zinciri kırarak gösterirler. Antioksidanlar; intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenirler. En belirgin özellikleri okside olan substratlara oranla çok daha az konsantrasyonlarda bile, substratın oksidasyonunu geciktirmeleri ve inhibe etmeleridir (95)

Antioksidanlar, hücrel lokalizasyonları yanında fonksiyonlarına görede sınıflandırılmaktadır. Genelde radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve oluşan radikallerin dokudaki etkilerini önleyen (E vitamini, ubikinon, retinoik asit, betakaroten, glutatyon, ürat) antioksidanlar olarak iki kategoride incelenirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar (Tablo3). Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (96).

Tablo 3: Enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar (96).

Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon (GSH)	Albümin
Katalaz (KAT)	α -Tokoferol (vit E)	Seruloplazmin
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	Askorbat (vit C)	Transferrin
Fosfolipit hidroperoksit glutatyon	β -Karoten	Ferritin
Peroksidaz (PLGSH-Px)	Flavonoidler	Laktoferrin
Glutatyon S-transferaz (GST)	Ürat	Melatonin
Glutatyon redüktaz (GSSG-R)	Bilirubin	Sistein

1. Oksijen ile reaksiyona girerek yada onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler.

2. Hidroksil radikali (OH) yapısında yer alan hidrojen atomları bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.

3. Membran lipitlerini direkt etkiyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni ($1O_2$) baskılayabilir ya da temizleyebilirler .

4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların (OH, ferril ya da $Fe^{+2}/Fe^{+3}/O^2$ kompleksleri gibi) ve /veya lipit peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda lipit peroksidasyonun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır ancak hem başlangıç için hemde oluşan lipit peroksitlerinin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğu konusunda genel bir görüş vardır.

5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.

6. Zinciri kırabilirler yani zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar içinde fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olanı α -tokoferol yer almakla birlikte başka lipit çözücü, zincir kırıcı antioksidanlarda vardır (95).

Bir oksidatif zincirde antioksidanlar, farklı basamaklarda etki gösterirler. Lipit peroksidasyonu yukarıdaki mekanizmalardan ilk dört tanesi ile önleyenler “koruyucu antioksidanlar” olarak kabul edilmektedir. Dördüncü mekanizma ile etki edenler reaksiyon sırasında tüketilemezler .Beşinci mekanizma ile etki eden antioksidanlar ise koruyucu olmakla birlikte reaksiyon sırasında kimyasal karakterlerine göre, tüketilebilir ya da tüketilemezler. Altıncı mekanizma ile etki eden zincir kırıcı antioksidanlar ise zincir uzama reaksiyonlarına neden olan radikallerle kompleks yaptıklarından kırma reaksiyonu sürecinde tüketilirler. Burada, özellikle vurgulanması gereken nokta antioksidanların birçoğunun tek bir mekanizma üzerinden etki etmediği, birden fazla mekanizma ile asıl etkisini oluşturduğudur. Ek olarak oksidatif hasarın hızlı tamiri ki bu, peroksidize yağ asitlerinin membran lipitleri arasından temizlenmesi şeklinde olur ve lipit peroksidasyonu yavaşlatabilir (95,97).

Membrandaki yapısal değişiklikler de peroksidabiliteye etki edebilir. Antioksidanlar sadece lipidlerin değil, belki okside olmaları çok daha zararlı olabilen DNA ve proteinlerin de korunmasında katkıları vardır.(95,97).

Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri gözönüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (96).

2.3.1.1 ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR

2.3.1.1.1. SÜPEROKSİT DİSMUTAZ

Süperoksit Dismutaz (SOD), süperoksit anyonunun hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülmesini katalizleyerek organizmayı toksik reaktif oksijen metabolitlerine karşı koruyan bir metalloenzimdir (98,99).



Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılır. Çünkü $O_2^{\cdot -}$, zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücresel kompartmanlardaki $O_2^{\cdot -}$ düzeyleri kontrol altında tutulur.

2.3.1.1.2. GLUTATYON PEROKSİDAZ

Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumludur. Sitozolda yerleşmiş, 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir (100). GSH-Px enziminin selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki formu bulunur.

Selenyum bağımlı izoenzim selenosistein formunda olup; hem H_2O_2 'ye hemde hidroperoksitlere etki etmektedir. Selenyuma bağımlı olmayan form ise hücrenin mitokondri (%30) ve sitozol (%70) fraksiyonlarında lokalize olup; sadece lipid hidroperoksitlerin yıkımında görev alır (99).

2.3.1.1.3. KATALAZ

Katalaz (CAT); esas olarak peroksizomlarda lokalize olan ve yapısında 4 “hem” grubu bulunan bir hemoproteindir (99). Oksidazların aktivitesi ile oluşan H₂O₂’yi direkt suya çevirir. Böylece toksik hidroksil radikallerinin sentezlenmesi ve H₂O₂’nin vücutta birikimi engellenmiş olur. Katalaz enzimi iki önemli reaksiyonu katalize etmektedir (99):

- Hidrojen peroksitin dismutasyonu
- Alifatik alkollerin peroksidasyonu

2.3.1.1.4. GLUTATYON REDÜKTAZ

Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutatyonun tekrar indirgenmiş şekle dönmesi gerekir. Glutatyon redüktaz NADPH varlığında, oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) indirgenme reaksiyonunu katalizler (99).

2.3.1.2 ENZİMATİK OLMAYAN ANTİOKSİDANLAR

2.3.1.2.1. ASKORBİK ASİT

Askorbik asit; kollagen sentezi, demir emilimi ve hücrelerin redoks durumunun devamlılığı için gerekli, suda çözünen, düşük molekül ağırlıklı bir antioksidandır (101). Prokollagen, katekolamin ve karnitin biyosentezi için kosubstrat olarak rol oynamaktadır. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında güçlü bir indirgeyici ajan olarak görev yapan Vitamin C; birçok reaktif oksijen türevini (OH[•], ROO[•], O₂⁻, HOCl ve O₃), reaktif nitrojen türevlerini (ONOO⁻) ve antioksidan kaynaklı radikalleri (α -tokoferoksil ve ürat radikalleri) toplayıcı etkiye sahip güçlü bir antioksidandır (102).

Askorbik asit bu radikallerle reaksiyona girerek, bir ara ürün olan semidehidroaskorbat aracılığıyla metaboliti olan dehidroaskorbik asidi (DHA) oluşturur.

Vitamin C ayrıca tokoferoksil radikalinin α -tokoferole indirgenmesini de sağlayarak E vitamininin rejenerasyonunda da görev almaktadır. Böylece E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korumaktadır. C vitamini yüksek ve fizyolojik konsantrasyonlarda antioksidan etki gösterirken, düşük konsantrasyonlarda Na⁺K⁺-ATPaz aktivitesini azaltır ve membran fosfolipit yapısını değiştirerek lipit peroksidasyonunu artırır. Bu şekilde C vitamini doza bağımlı olarak paradoksal bir etki göstermektedir (99).

2.3.1.2.2. α -TOKOFEROL

Vitamin E, lipit fazda çözünen zincir kırıcı etkiye sahip bir antioksidandır. E vitamini aktivitesine sahip 4 tokoferol ve 4 tokotrienol bulunmaktadır. Dokularda Vitamin E aktivitesinin yaklaşık %90'ından sorumlu en aktif ve en yaygın formu α -tokoferol'dur. Yapısında izoprenoid yan zinciri bulunan vitaminin aktif kısmını fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (89,91).

Güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur(99).

Vitamin E; süperoksit, hidroksil radikali, singlet oksijen, lipit peroksi radikali ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E peroksitlerin yapımını engellerken, GSH-Px ise oluşan peroksitleri ortadan kaldırdığı için bu iki antioksidan birbirini tamamlayıcı etkiye sahiptir. Alfa-tokoferol lipit peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek lipit hidroperoksid ve tokoferoksil radikalini oluşturur. Böylece lipit peroksidasyonunun ilerleme ve yayılmasını önler. Bu sırada oluşan tokoferoksil radikali stabil bir moleküldür. Lipit peroksidasyonunu başlatacak kadar reaktif olmayan bu radikal glukuronik asit ile konjuge edilerek safra yoluyla atılmaktadır (97,99).

2.3.1.2.3. β -KAROTEN

Vitamin A'nın metabolik öncül maddesi olan α -karoten, plazmada α -tokoferole oranla çok düşük düzeylerde bulunmasına rağmen; aynı şekilde serbest radikal tutucu olarak görev yapmakta ve doku hasarını önlemektedir (97).

Beta-karoten singlet oksijeni baskılayıp, süperoksit radikalini temizleyerek ve peroksi radikalleri ile direkt etkileşerek antioksidan özelliklere sahiptir. Düşük oksijen parsiyel basıncında α -karoten, daha yüksek oksijen konsantrasyonlarında ise α -tokoferol peroksit radikallerinin dokularda yakalanmasından sorumludur (97,103).

2.3.1.2.4 REDÜKTE GLUTATYON (GSH)

Glutatyon (L- γ -glutamil-L-sisteinil-glisin); glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan bir tripeptiddir. Aktif grubu, sisteinin sülfhidril (-SH) grubudur. Redükte (GSH) ve okside (GSSG) şekilde bulunan glutatyon hücrenin oksidasyon-redüksiyon dengesini koruyan önemli bir indirgen ve antioksidan olup; hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (97).

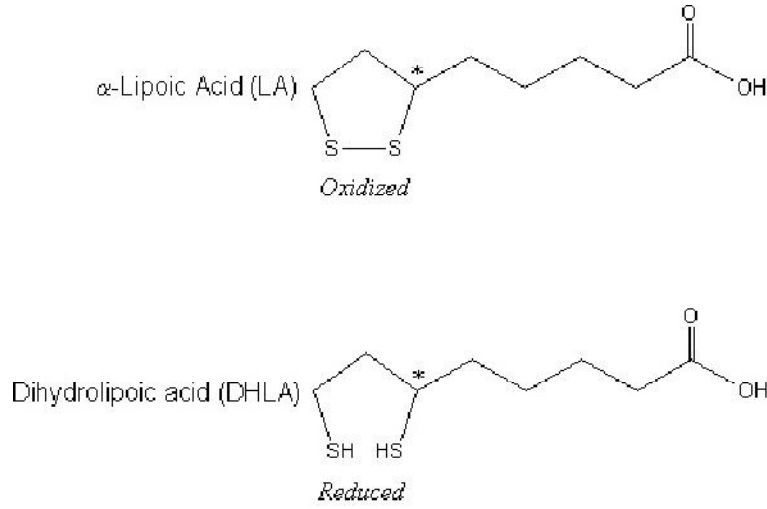
Çok önemli bir antioksidan olan glutatyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Ayrıca proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak oksidasyondan korur ve fonksiyonel protein ve enzimlerin inaktivasyonunu önler. GSH, glutatyon-S transferaz enziminin katalizi ile endojen ve ekzojen toksik bileşikler de konjuge etmektedir (97).

2.4 ALFA LİPOİK ASİT

Alfa lipoik asit (LA), antioksidan özellikler taşıyan, glikoliz ve sitrik asit döngüsü arasındaki kritik basamak olan pirüvatın asetil koenzim A'ya oksidatif dekarboksilasyonu için gerekli olan doğal bir üründür. Son zamanlarda diyabetik nöropati ve iskemik inme gibi hastalıklarda tedavi amaçlı olarak kullanıldığı

bildirilmiştir (104). Molekül ağırlığı 206,328 g/mol' dür. Endojen olarak bulunan LA önemli mitokondriyal enzim komplekslerindeki spesifik proteinlere bağlı olarak bulunur (105).

LA, 2 tiyol (sülfür) grubu içerir, bu gruplar okside veya redükte olabilir. Redükte formu dihidrolipoik asit (DHLA), okside formu LA olarak bilinir (106). Hücreler ve dokular tarafından alınarak mitokondrilerde potansiyel bir antioksidan olan dihidrolipoik asite indirgenir . LA ve aktif indirgenmiş formu olan DHLA'nın reaktif oksijen türlerini baskılayarak oksidatif stresi engellediği gösterilmiştir (107)



Şekil 11: LA ve DHLA'nın moleküler yapısı.

2.4.1.ALFA LİPOİK ASİT'İN BİYOSENTEZİ

LA de novo olarak mitokondride proteinlere bağlı olarak bulunduğu ve kofaktör olarak görev yaptığı yerde 8- karbonlu yağ asitlerinden (oktanoik asit) sentezlenir (109).

LA sentezindeki son safhada 2 sülfür atomu oktanoik aside eklenir. Bu reaksiyon içerisinde demir-sülfür kümeleri bulunan lipoil sentaz enzimi tarafından katalizlenir (110,111).

Ekzojen olarak alınan LA lipaz aktive edici tarafından enerji kullanılarak aktive edilir ve LA bağlayıcı enzim olan lipoil transferaz ile taşınır (111).

2.4.2. ALFA LİPOİK ASİT'İN BİYOLOJİK AKTİVİTESİ

Proteinlere bağlı olarak bulunan LA enerji üretimi ve alfa – keto asitlerin ve aminoasitlerin katabolizmasında kritik rol oynayan birçok mitokondriyal enzim kompleksinin önemli bir kofaktörüdür (112). LA enzim komplekslerinin protein kısımlarındaki spesifik lizin kalıntılarına kovalen olarak bağlanır (piruvat dehidrojenaz kompleksi, alfa-ketoglutarat dehidrojenaz kompleksi) (113).

Serbest olarak bulunan LA antioksidan aktiviteye sahiptir. In vitro ortamda LA ve DHLA direkt olarak ortamda bulunan ROT ve RNT'lerin nötralize ederler (105). Her ikisinin de radikal süpürücü (scavenger) özellikleri vardır. LA'nın OH, O₂⁻, HOCl, NO, ONOO⁻, H₂O₂ gibi radikallerin süpürücüsü olduğu bilinmektedir (114).

LA'nın dört farklı sistemde O₂⁻ süpürme aktivitesi gösterilmiştir. İlk zamanlarda yapılan çalışmalarda sadece organik çözücülerde çalışılan bu etki, daha sonra fizyolojik koşullar altında da gösterilmiştir. O₂⁻ ile oluşan DNA tek iplik kırıklarını önlemede de LA'nın etkili olduğu bildirilmiştir (115).

Doku hasarının mediyatörü olarak RNT'ler de oldukça önemlidir. NO önemli fizyolojik rollere sahip olmakla birlikte aşırı miktarlarda oluşumu nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz, kronik inflamasyon, septik şok gibi bazı durumların etiyopatolojileri ile ilişkili görülmüştür. NO toksisitesinin bir kısmında O₂⁻ ile girdiği reaksiyonda oluşan ONOO⁻ ile ilişkilidir. Oldukça reaktif olan bu radikal hücrede protein, lipid ve DNA oksidasyonuna neden olduğu gibi aynı zamanda alfa 1 antiproteazı da inaktive ederek proteolitik hasarı artırır. LA ve DHLA güçlü bir ONOO⁻ süpürücüsüdür (116).

Eritrositlerin hemolizi, bir oksidatif stres modelidir. Bu modelin kullanıldığı çalışmalarda peroksi radikali ile oluşturulan eritrosit hemolizine karşı LA'nın

koruyucu olduğu görülmüştür ve bu etki peroksi radikal süpürücü aktivitesine bağlanmıştır (117).

LA potent bir antioksidandır, diğer antioksidanların rejenerasyonunda, redoks potansiyeli olan serbest metal iyonlarının oksidan molekülleri oluşturmalarının engellenmesinde, detoksifikasyonda rol oynayan önemli bir antioksidan olan glutatyon sentezinin arttırmada, insülin sinyallerinin artırılmasında, diğer hücrel sinyal moleküllerinin ve transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinin düzenlenmesinde rol oynar. LA'ın diabetes mellitus, ateroskleroz, iskemi reperfüzyon hastalıkları, multipl skleroz, bilişsel kayıplar ve yaşa bağlı demansta etkinliği gösterilmiştir (118).

LA'nın çok güçlü bir antioksidan ve serbest radikal tutucu (temizleyici) olduğu kanıtlanmıştır. Tipik memeli diyeti ile alınan LA yeterli antioksidan aktivite sağlamamaktadır. LA'nın birkaç gramı oral olarak alındığında insan tarafından tolere edilebilir Antioksidan koruma sağlamak için önerilen doz günlük 60-120 mg, terapötik dozu ise oral olarak günlük 200-600 mg'dır (16,119).

LA ve DHLA'nın diğer terapötik kullanımları; radyasyon yaralanmalarından korunmayı, santral sinir sistemini oksidatif hasardan korumak suretiyle çeşitli nörolojik bozukluklardan korunmayı, revers transkriptaz enziminin inhibisyonu ile HIV virüsünün replikasyonunun engellenmesini ve sigara kullanımına bağlı gelişebilecek bazı sorunlardan korunmayı kapsamaktadır (120,121).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan (AKÜHADYEK) onay alındı (02/03/2010 ,B.30.2.AKÜ.0.9Z.00.00/54) , Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (10.TIP.08) desteklendi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde 5 gruptan oluşan, her bir grup için 7'şer adet toplam 35 adet ağırlıkları 2,0-3,5 kg arasında (ortalama 2,8 kg) olan yeni zellanda türü dişi tavşanlar kullanıldı. Bu çalışma Bil

Grup 1- Sham (S) (n=7): Sadece abdominal cerrahiye (Laparotomi) maruz kalan grup

Grup 2- İskemi-Reperfüzyon (İ/R) (n=7): Tedavi yapılmayan post-iskemik spinal kord grubu

Grup 3- (MP)(n=7): 30 mg/kg MP verilen post-iskemik spinal kord grubu

Grup 4- (LA) (n=7): 100 mg/kg LA verilen post iskemik spinal kord grubu

Grup 5- (MP +LA)(n=7): 30 mg/kg MP ve 100 mg/kg LA verilen post-iskemik spinal kord grubu.

Sham grubu deneklere normal cerrahi prosedür uygulanırken kros klemp uygulanmadı. İskemi-reperfüzyon ve tedavi gruplarına cerrahi prosedür ve kros klemp uygulandı. Aortik oklüzyon için 60-70 gr kapanma basıncı olan klipler kullanıldı (TEMPORARY SUGITA ANEURYSM CLIPS, MİZUHO® TOKYO).

Deneklerin cerrahiye takiben yaklaşık iki saat süren anesteziden uyanma periyodu sonrası normal olarak beslenmelerine izin verildi. Nörojenik mesane gelişen deneklere günde en az iki kez Crede manevrası uygulanarak mesanelerinin boşaltılması sağlandı. Mesanesi Crede manevrası ile boşaltılmayan deneklere silikon lumboperitoneal şant kateterinden hazırlanan sondalarla transüretal boşaltma uygulandı. Deneklerin kan ve doku örnekleri cerrahi prosedürü takiben 48 saatlik takip sonrasında alındı.

3.1. ANESTEZİ

Tüm deneklerde anestezi, ketamin HCL 40 mg / kg ve xylazin 5 mg / kg ile intramusküler olarak uygulandı. Gerektiğinde doz ketamin 25 mg/kg ve ksilazin 5

mg/kg kokteyli olarak tekrarlandı. Anestezi süresince denekler solunum desteğine ihtiyaç duymadan spontan solunumda izlendiler.

3.2. CERRAHİ İŞLEM

Cerrahi işlemden 12 saat önceden itibaren aç bırakılan tavşanlar, 5 mg/kg ksilazin intramuskuler (İM) yoldan verilerek yapılan premedikasyondan 5 dakika sonra, anestetik ilaç olarak ketamin 40 mg/kg İM verilerek uyutuldu, anesteziyi takiben, tavşanlar olası ani hareketleri ile sterilizasyonu bozmaması için ekstremitelerinden ameliyat masasına bağlandı. Batın tıraş edildi, povidone-iodine solüsyonu ile silindikten sonra steril koşullarda örtülerek, median laparotomi ile batın açıldı. Bağırsaklar sağa deviye edilerek dışarı alındı ve ısı ve sıvı kaybını minimize etmek için sıcak ıslak kompreslerle sarıldı, retroperitona ulaşarak abdominal aortanın üzeri açıldı. Abdominal aort renal venin altından ve iliak bifürkasyonun üstünden döndükten sonra 150 Ü/kg intravenöz (İV) heparin ile antikoagülasyon yapıldı. Heparin tatbikinden 3 dakika sonra, önce distal ardından proksimal aortik vasküler klempler abdominal aortaya konuldu.

Grup 1; Analjezi ve anestezi sonrası laparotomi ile girilerek abdominal aorta sol renal venin inferioruna yakın expose edildi. Her bir tavşana 150 U/kg heparin yapıldı. Bu grupta aort klipe edilmedi. Kanama kontrolünü takiben karın kasları ve cilt iki kat olarak 3/0 ipek sütür materyali ile kapatıldı. 1., 12., 24., 48. saatlerde Tarlov kriterleri ile motor fonksiyon değerlendirildi (122). İşlemlerden 48 saat sonra dokular histopatolojik ve biokimyasal incelemeler için alındı. BOS ve kan örnekleri alındı

Grup 2; Analjezi ve anestezi sonrası laparotomi ile girilerek abdominal aorta aortik bifurkasyonun altında sol renal venin inferioruna yakın expose edildi. Her bir tavşana 150 U/kg heparin yapıldı. Aorta expose edilen yerden anevrizma klipi ile 30 dk klipe edildi. Klip sonrası 30 dk reperfüzyon uygulandı. Kliplemeden 10 dk öncesi ve reperfüzyondan 5 dk önce saline 4 mL infüze edildi. Kanama kontrolünü takiben karın kasları ve cilt iki kat olarak 3/0 ipek sütür materyali ile kapatıldı. 1., 12., 24., 48. saatlerde Tarlov kriterleri ile motor fonksiyon

değerlendirildi (122). İşlemlerden 48 saat sonra dokular histopatolojik ve biokimyasal incelemeler için alındı. BOS ve kan örnekleri alındı

Grup 3; Analjezi ve anestezi sonrası laparotomi ile girilerek abdominal aorta aortik bifurkasyonun altında sol renal venin inferioruna yakın expose edildi. Her bir tavşana 150 U/kg heparin yapıldı. Aorta expose edilen yerden anevrizma klipi ile 30 dk klipe edildi. Klip sonrası 30 dk reperfüzyon uygulandı. Kliplemeden 10 dk öncesi ve reperfüzyondan 5 dk önce toplam 4 mL 100 mgr/kg dan LA intraperitoneal yolla verildi. Kanama kontrolünü takiben karın kasları ve cilt iki kat olarak 3/0 ipek sütür materyali ile kapatıldı. 1., 12., 24., 48. saatlerde Tarlov kriterleri ile motor fonksiyon değerlendirildi (122). İşlemlerden 48 saat sonra dokular histopatolojik ve biokimyasal incelemeler için alındı. BOS ve kan örnekleri alındı

Grup 4; Analjezi ve anestezi sonrası Laparotomi ile girilerek abdominal aorta aortik bifurkasyonun altında sol renal venin inferioruna yakın expose edildi. Her bir tavşana 150 U/kg heparin yapıldı. Aorta expose edilen yerden anevrizma klipi ile 30 dk klipe edildi. Klip sonrası 30 dk reperfüzyon uygulandı. Kliplemeden 10 dk öncesi ve iskemi boyunca 30 mgr/kg metilprednizolon 4 mL infüze edildi sonrasında 6 saatte bir 5,4 mgr /kg 2 doz iv yapıldı. 1., 12., 24., 48. saatlerde Tarlov kriterleri ile motor fonksiyon değerlendirildi (122). İşlemlerden 48 saat sonra dokular histopatolojik ve biokimyasal incelemeler için alındı. BOS ve kan örnekleri alındı.

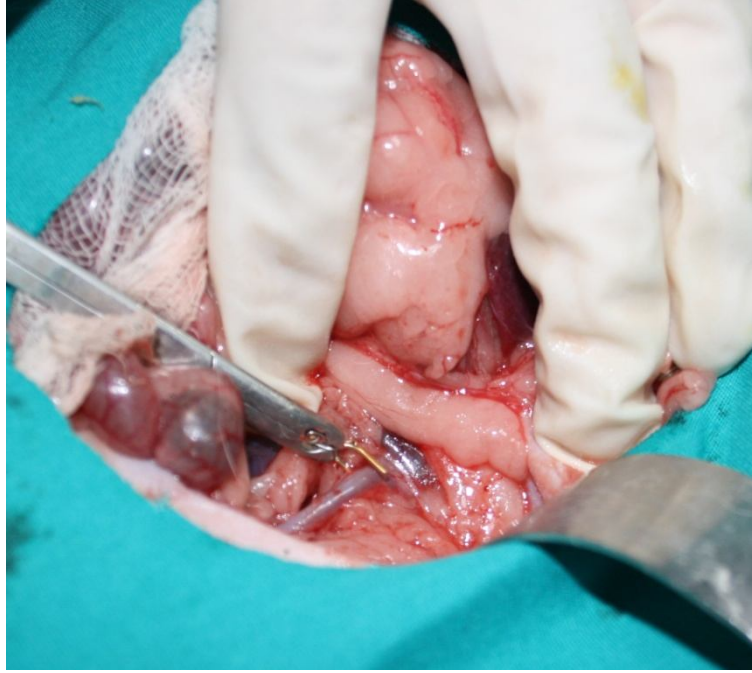
Grup 5; Analjezi ve anestezi sonrası laparotomi ile girilerek abdominal aorta aortik bifurkasyonun altında sol renal venin inferioruna yakın expose edildi. Her bir tavşana 150 U/kg heparin yapıldı. Aorta expose edilen yerden anevrizma klipi ile 30 dk klipe edildi. Klip sonrası 30 dk reperfüzyon uygulandı. Kliplemeden 10 dk öncesi ve iskemi boyunca 30 mgr/kg IV metilprednizolon. 4 mL infüze edildi sonrasında 6 saatte bir 5,4 mgr /kg 2 doz iv yapıldı. Kliplemeden 10 dk öncesi ve reperfüzyondan 5 dk önce toplam 4 mL 100 mgr/kg dan LA intraperitoneal yolla verildi. Kanama kontrolünü takiben karın kasları ve cilt iki kat olarak 3/0 ipek sütür materyali ile kapatıldı. 1., 12., 24., 48.

saatlerde Tarlov kriterleri ile motor fonksiyon değerlendirildi (122). İşlemlerden 48 saat sonra dokular histopatolojik ve biokimyasal incelemeler için alındı. BOS ve kan örnekleri alındı

Tüm deneklerde heparinin etkisini nötralize etmek için 1mg/kg İV protamin sülfat uygulandı. Kanama kontrolünü takiben bağırsaklar karın içine yerleştirilerek intraperitoneal 10 mL ringer laktat solüsyonu verilerek, karın kasları ve cilt 3/0 ipek sutür materyali ve devamlı dikiş tekniği ile kapatıldı. Preoperatif ve postoperatif profilaktik amaçlı antibiyoterapi (15 mg/kg/gün dozunda İM sefazolin sodyum) yapıldı. Postoperatif analjezi sağlamak amacı ile 2 gün süre ile deneklere 400 g/kg/gün dozunda İM morfin sülfat verildi.



Resim 1: Laparotomi sonrası abdominal aorta'nın diseksiyonu



Resim 2: Abdominal aortanın renal arter çıkışı altından kliplenmesi

Tüm denekler 48 saat sonra ketamin anestezisi altında ikinci kez uyutuldu, deneklerin beyin omurilik sıvıları alındı ve spinal kordları total olarak çıkartıldı. Daha sonra tavşanlardan biyokimyasal tetkikler için kan alındı, bunu takiben intrakardiyak KCl verilerek sakrifiye edildi.

3.3.BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

3.3.1.MDA MİKTARININ TAYİNİ

MDA seviyeleri Hammouda A el-R ve ark. metodu ile tiobarbitürik asit (TBA) reaktivitesi yöntemi kullanılarak ölçüldü (123). Yağ asidi peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek sıcak ve alkali ortamda, 532 nm’de maksimum absorbands veren renkli kompleks oluşturur. Oluşan kompleksin okunan absorbandsından faydalanılarak serum ve BOS MDA değerleri nmol/ mL cinsinden ve spinal kord MDA değerleri nmol/gr protein elde edilir.

3.3.2. NİTRİK OKSİT (NO) MİKTARININ TAYİNİ

NO ölçümü Cortas NK ve ark.'nın yöntemine göre çalışıldı (124). Spesifik olmayan reaksiyonların oluşmasını önlemek için homojenatlar önce deproteinize edilip daha sonra nitrit/nitrat konsantrasyonları Griess reaksiyonu ile belirlendi. pH 9,7 olan Glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmiyum granüllerinin deproteinize numune süpernatanı ile 90 dakikalık inkübasyon sonunda nitratın nitrite indirgenmesi sağlandı. Üretilen nitrit; sülfonilamid ve N-naphthyl ethylenedaimin (NNDA) reaksiyonu sonucu pembe renk oluşumuna yol açtı. Oluşan renk spektrofotometrede 545 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen nitrit konsantrasyonu ilk konsantrasyondan çıkarılarak nitrat miktarı belirlendi. Sonuçlar serum ve BOS NO değerleri mikromol/L cinsinden ve spinal kord NO değerleri mikromol/mg protein elde edilir.

3.3.3. SOD ENZİM AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ

SOD (EC 1.15.1.1) enzim aktivitesi ölçümü nitroblue tetrazolium (NBT) ile ortaya çıkan O_2 'nin indirgenmesi esasına dayanan Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (125) Metod; süperoksit üreticisi olarak ksantin ksantinoksidaz sisteminin kullanılmasını ve NBT'nin redüksiyonunun inhibe edilmesini içermektedir. Süperoksit radikalleri NBT gibi boyar maddeleri redüklemekte ve böylece formazonlar oluşmaktadır. Bu formazonlar 560 nm dalga boyunda maksimum absorbanı vermektedir. SOD varlığında NBT'nin formazona dönüşümü engellenmektedir. Enzim miktarı ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır. Enzimin bulunmadığı ortamda ise bu indirgeme meydana gelmeyip mavi-mor renk oluşmaktadır. Okunan absorbanlar aşağıdaki formül kullanılarak numunelerdeki % inhibisyon değeri bulundu (% inhibisyon: $(A_k - A_n) / (A_k) \times 100$, A_k : Absorbanı kör, A_n : Absorbanı numune). SOD, NBT redüksiyonu %50 inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar doku için; U/mg protein olarak hesaplandı.

3.3.4. GSH-PX ENZİM AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9) aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre; NADP'ın enzim aktivitesiyle ortamdaki uzaklaştırılması sonucu 340 nm 'de absorbanstaki azalma ölçüldü (126). GSH-Px, H₂O₂ varlığında redükte H₂O₂'nin bulunduğu ortamda GSH-Px 'in oluşturduğu okside glutasyon, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımıyla tekrar glutatyon döndürür. Enzim tarafından ortamdaki uzaklaştırılan H₂O₂ başına NADPH'ın NADP'ye yükseltgenme döngüsü gerçekleşir ve oluşan NADP⁺ absorbanstaki azalmaya neden olur. $U/L = [(\Delta A/t) / 6,22 \times 10^{-6}] \times (1/0,02)$ şeklinde hesaplanarak GSH-Px enzim aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.3.5. CAT ENZİMİNİN AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ

Serum katalaz seviyesi ise Aebi ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem (127) ile U/mg protein cinsinden ölçüldü. pH=7'deki fosfat tamponuna optik dansite 0,50 olana kadar azar azar hidrojen peroksit eklendi. Daha sonra 2,99 mL fosfat tamponunun üzerine 10 µL numune eklenerek 240 nm dalga boyunda absorbanstaki ölçüldü. Absorbanstaki azalma her 5 saniyede bir olmak üzere 2 dakika süre ile kaydedildi. Hesaplama 1 dakikalık lineer absorbanstaki azalmasının en yüksek (A₁) ve en düşük değerleri (A₂) esas alınarak yapıldı ($k = (2,303 / \Delta t) (\log A_1 / A_2)$).

3.4. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Spinal kord doku segmentleri %10 formaldehit içerisinde 72 saat fiksasyon edildi. Bu spinal kord segmentlerinin farklı seviyelerinden üç transvers kesit elde edildi. Örnekler parafin içine gömülüp 3 µm kalınlıkta kesitler alındı ve hemotoksilen-eozin ile boyandı. Her bir örnek aynı patoloğ tarafından konjesyon, hemoraji, ödem, mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu ve nöronal viabilite açısından ışık mikroskopunda (Eclipse E600, Nikon, Japan) tek kör olarak değerlendirildi. Konjesyon, hemoraji, ödem ve nekroz, x100 büyütmede

Hauet ve arkadaşları tarafından tanımlanan semikantitatif skalaya göre (Tablo 4) (128) yapıldı. Nöronal viabilite x200 büyütmede gri maddede değerlendirildi. Gevşek nükleer kromatin ve sitoplazmik Nissl granülleri içeren nöronlar canlı, piknotik nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı nöronlar hasarlı olarak kabul edildi. Her denek hayvanının zedelenmemiş canlı nöronlarının, tüm nöronlara oranı hesaplanarak kantitatif bir indeks olan nöronal viabilite elde edildi (129).

Tablo 4. Histopatolojik tanımlama ve grade' leme

Skor	Tanımlama
1	Değişiklik yok
2	Örnekleminin %10' unu etkileyen hafif lezyon
3	Örnekleminin %25' ini etkileyen lezyon
4	Örnekleminin %50' sini etkileyen lezyon
5	Örnekleminin %75 ve daha fazlasını etkileyen lezyon

3.5. NÖROFONKSİYONEL DEĞERLENDİRME

Hindlimb fonksiyon değerlendirmesi için tarlov skalası (Tablo 5) (122) kullanıldı, temel olarak hareket, oturma, zıplama kabiliyeti değerlendirildi

Tablo 5. Tarlov motor değerlendirme skalası

MOTOR FONKSİYON	PUAN
Atoni	0
Minimal Hareket	1
Yardımlı Oturma	2
Yardımsız Oturma	3
Zayıf Zıplama	4
Normal Zıplama	5

3.6. İSTATİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 18 programı kullanıldı. Grupların homojenitesi Shapiro Wilk testi ile analiz edildi. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında parametreler normal dağılıma uygunluk göstermediğinden parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U test kullanıldı. Sonuçlar % 95' lik güvenlik aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4.BULGULAR

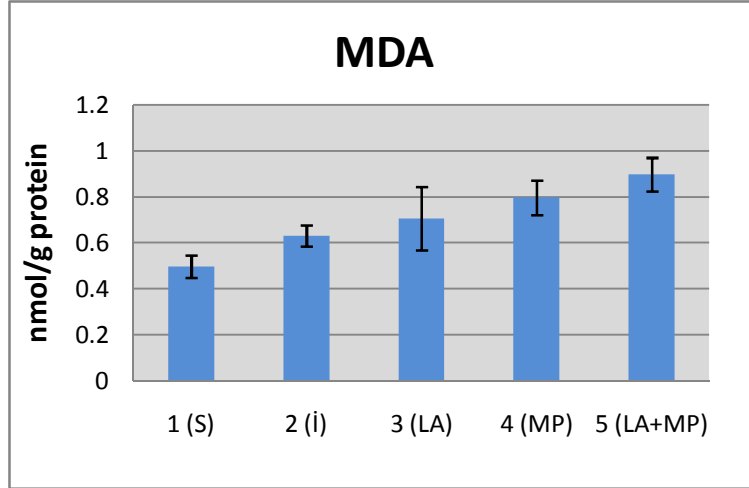
4.1.BİYOKİMYASAL BULGULAR

4.1. 2 SPİNAL KORD DOKU BİYOKİMYASAL DEĞERLERİ

Tablo 6. Spinal kord doku biyokimyasal değerleri, grupların birbirleri ile karşılaştırılan p değerleri

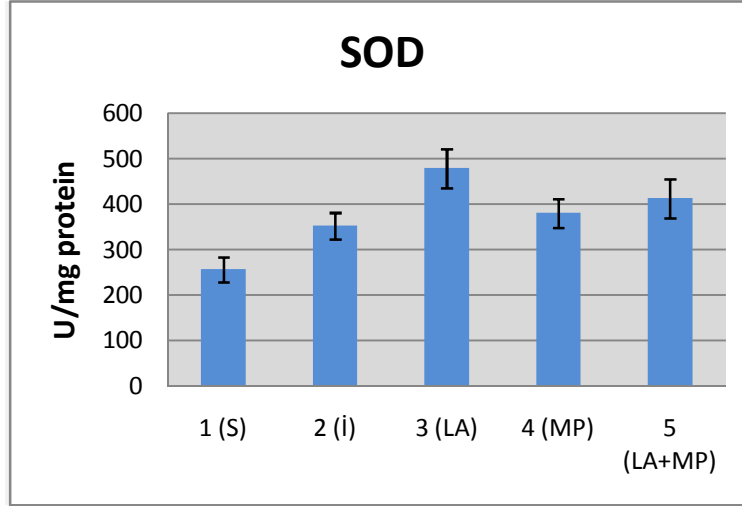
	SPİNAL KORD ORTALAMA DEĞERLERİ				
GRUP	MDA ± SS	SOD ± SS	NO ± SS	CAT ± SS	GSH-Px ± SS
1	0,499± 0,049	256,1± 27,45	0,0017± 0,0007	0,0016±0,0008	7,086± 1,297
2	0,631± 0,046	352,1± 29,26	0,0031± 0,001	0,0023± 0,0013	9,843± 1,086
3	0,707± 0,138	478,4± 43,39	0,0011± 0,0009	0,004± 0,0012	13,7± 1,141
4	0,798± 0,076	380,1± 31,75	0,0009± 0,0003	0,0034± 0,0009	11,93± 2,348
5	0,899± 0,073	412,3± 42,9	0,0013± 0,0004	0,0027± 0,0013	10,4± 2,199
Grup	P	P	p	p	p
1-2	0,002	0,003	AD	AD	0,005
1-3	0,007	0,002	AD	0,003	0,002
1-4	0,002	0,002	0,02	0,006	0,004
1-5	0,002	0,002	AD	AD	0,041
2-3	AD	0,002	0,016	0,049	0,002
2-4	0,004	AD	0,003	AD	AD
2-5	0,002	0,018	0,015	AD	AD
3-4	AD	0,006	AD	AD	AD
3-5	0,013	0,018	AD	AD	0,003
4-5	0,048	AD	AD	AD	AD

SS: standart sapma, AD: anlamlı değil(p>0,05)



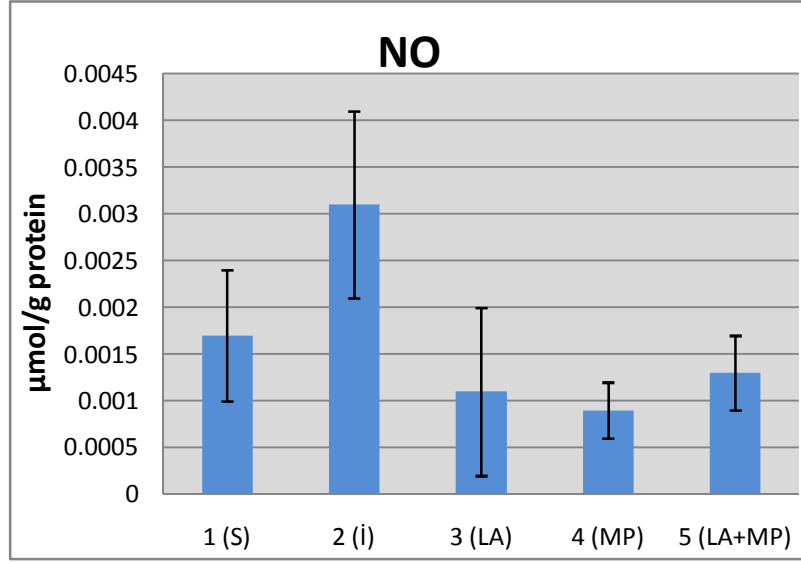
Şekil 12. Doku MDA ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Spinal kord doku MDA değerlendirmesinde 1.grup $0,499 \pm 0,049$, 2.grup $0,631 \pm 0,046$, 3.grup $0,707 \pm 0,138$, 4.grup $0,798 \pm 0,076$ 5.grup $0,899 \pm 0,073$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı farklılık görüldü ($p=0,002$). Bu iskemi reperfüzyon zedelenmesinde spinal kord doku MDA değerlerinin anlamlı derecede arttırdığını gösterdi. 1.grup ile 3.grup, 4.grup, 5.grup arasında anlamlı farklılık 1.grup değerlerinin düşüklüğü yönünde anlamlı bulundu ($p=0,007$, $p=0,002$, $p=0,002$). 2.grup ile 3.grup arasında, 2.grup değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı farklılık bulunmadı. 2.grup ile 4.grup ve 5.gruplar arasında, 2.grup değerlerinin düşük olması yönünde anlamlı farklılık görüldü ($p=0,004$, $p=0,002$). 3.grup değerlerinin 4.grup ile anlamlı farklılık göstermemesine rağmen, 5.grup ile, 3.grup değerlerinin düşüklüğü yönünde anlamlı farklılık ($p=0,013$) gösterdiği görüldü, Tüm tedavi gruplarının 1.gruptan olumsuz yönde anlamlı farklılıklar göstermektedir. 4.grup ile 5.gruplar arasında, 4.grup değerlerinin düşüklüğü yönünde anlamlı farklılık ($p=0,048$) görüldü.



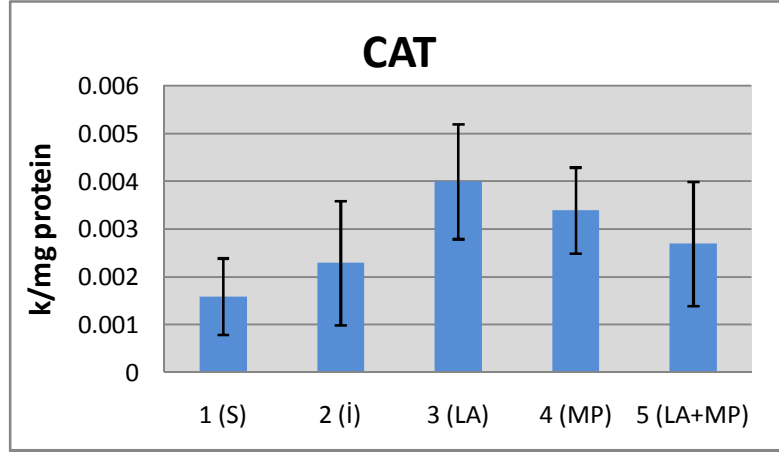
Şekil 13. Doku SOD ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Spinal kord doku SOD değerlendirmesinde 1.grup $256,1 \pm 27,45$, 2.grup $352,1 \pm 29,26$, 3.grup $478,4 \pm 43,39$, 4.grup $380,1 \pm 31,75$, 5.grup $412,3 \pm 42,9$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görüldü ($P=0,003$). 1.grup ile 3.grup , 4.grup ve 5.gruplar arasında anlamlı farklılık 1.grup değerlerinin düşüklüğü yönünde anlamlı bulundu ($p=0,002$, $p=0,002$, $p=0,002$). 2.grup ile 3.grup arasında, 3.grup değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı farklılık bulundu ($p=0,002$). 2.grup ile 4.grup arasında anlamlı farklılık görülmeydi, 2.grup ile 5.grup arasında, 5.grup değerlerinin yüksek olması yönünde anlamlı farklılık görüldü ($p=0,018$) . 3.grup değerleri, 4.grup ($p=0,006$) ve 5.gruplar ile ($p=0,018$) anlamlı farklılık gösterdi, 4.grup ve 5.grup arasında anlamlı farklılık görülmeydi.



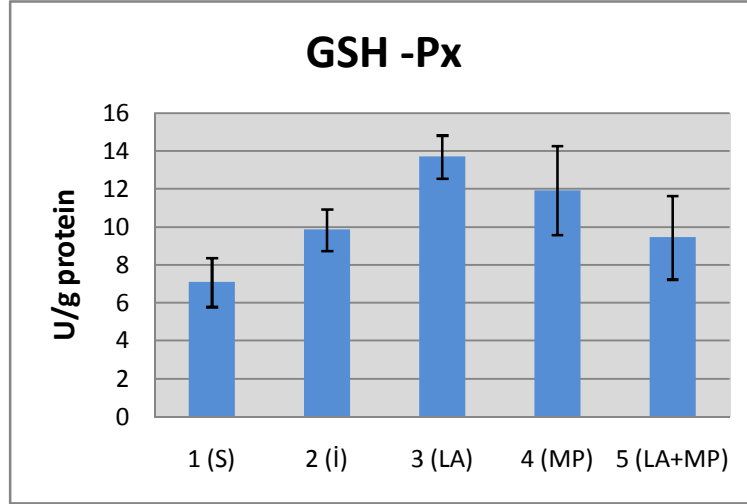
Şekil 14. Doku NO ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Spinal kord doku NO değerlendirmesinde 1.grup $0,0017 \pm 0,0007$ 2.grup $0,0031 \pm 0,001$, 3.grup $0,0011 \pm 0,0009$, 4.grup $0,0009 \pm 0,0003$ 5.grup $0,0013 \pm 0,0004$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görülmedi ($P=0,086$). 1.grup ile 3.grup ve 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 1.grup ile 4.grup arasında, 4.grubun değerlerinde düşüklük yönünde anlamlı farklılık izlendi ($P=0,002$). 2.grup ile 3.grubun arasında, 3.grubun değer düşüklüğü yönünden anlamlı değişiklik izlendi ($p=0,016$), 2.grup ile 4.grup arasında, 4.grubun değerlerinin azlığı yönünde anlamlı farklılık bulundu ($p=0,003$). 2.grup ile 5.grup arasında, 5.grup değerlerinin düşük olması yönünde anlamlı farklılık görüldü ($p=0,015$). 3.grup değerlerinin 4.grup ve 5.grup arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü, 4.grup ve 5.grup arasında anlamlı fark görülmedi.



Şekil 15. Doku CAT ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Spinal kord doku CAT değerlendirmesinde 1.grup $0,0016 \pm 0,0008$, 2.grup $0,0023 \pm 0,0013$, 3.grup $0,004 \pm 0,0012$, 4.grup $0,0034 \pm 0,0009$, 5.grup $0,0027 \pm 0,0013$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görülmedi ($p=0,336$). 1.grup ile 3.grup arasında anlamlı farklılık ($p=0,003$) 3.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde bulundu. 1.grup ile 4.grup arasında anlamlı farklılık 4.grubun değer yüksekliği yönünde bulundu ($p=0,006$). 1.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 2.grup ile 3.grup arasında anlamlı farklılık, 3.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı ($p=0,049$) bulundu, 2.grup ile 4.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 2.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 3.grup değerlerinin 4.grup ve 5.grup arasında anlamlı farklılık göstermediği görüldü, 4.grup ve 5.grup arasında da anlamlı farklılık görülmedi.



Şekil 16. Doku GSH -Px ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

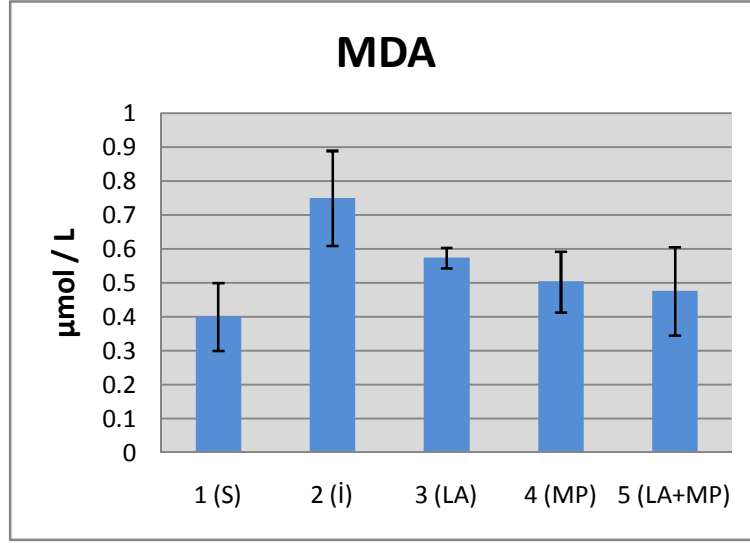
Spinal Kord doku GSH-Px değerlendirmesinde 1.grup $7,086 \pm 1,297$, 2.grup $9,843 \pm 1,086$, 3. grup $13,7 \pm 1,141$, 4.grup $11,93 \pm 2,348$, 5.grup $10,4 \pm 2,199$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görüldü ($p=0,005$). Bu iskemi reperfüzyon zedelenmesinde Spinal Kord doku GSH-Px değerlerinin anlamlı derecede arttırdığını gösterdi. 1.grup ile 3.grup arasında anlamlı farklılık, 3.grubun yüksekliği yönünde anlamlı bulundu ($p=0,002$). 1.grup ile 4.grup arasında anlamlı farklılık, 4.grubun yüksekliği yönünde anlamlı bulundu ($p=0,004$). 1.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık, 5.grubun yüksekliği yönünde anlamlı bulundu ($p=0,041$). 2.grup ile 3.grup arasında anlamlı farklılık, 3.grup yüksekliği yönünde anlamlı ($p=0,002$) bulundu. 2.grup ile 4.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 2.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 3.grup değerlerinin 4.grup arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü. 3.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık ($p=0,003$), 3.grup değerlerinin yüksekliği yönünde olduğu görüldü. 4.grup ve 5.grup arasında da anlamlı farklılık görülmedi.

4.1.3. SERUM BİYOKİMYA DEĞERLERİ

Tablo 7. Serum MDA ve NO ortalama değerleri, grupların birbirleri ile karşılaştırılan p değerleri

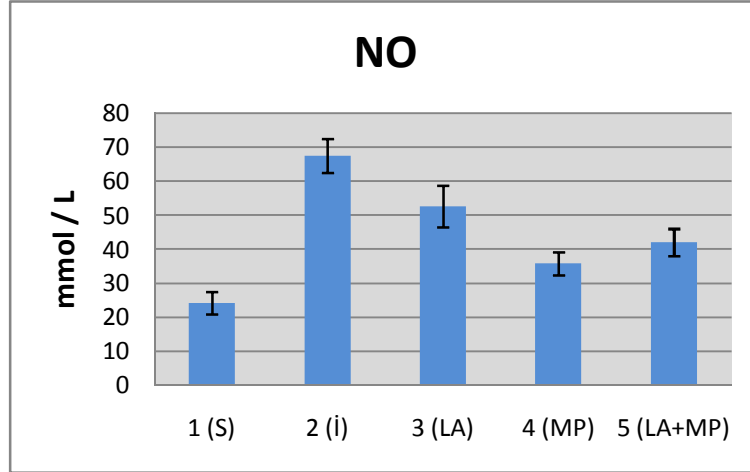
SERUM ORTALAMA DEĞERLERİ		
GRUP	MDA $\pm$ SS	NO $\pm$ SS
1	0,401 $\pm$ 0,1	24,23 $\pm$ 3,25
2	0,75 $\pm$ 0,14	67,5 $\pm$ 4,93
3	0,575 $\pm$ 0,03	52,6 $\pm$ 6,1
4	0,504 $\pm$ 0,09	35,86 $\pm$ 3,4
5	0,477 $\pm$ 0,13	42,07 $\pm$ 4,01
Grup	p	p
1-2	0,003	0,002
1-3	0,004	0,002
1-4	AD	0,002
1-5	AD	0,002
2-3	0,048	0,004
2-4	0,009	0,002
2-5	0,013	0,002
3-4	AD	0,002
3-5	AD	0,013
4-5	AD	0,018

SS: standart sapma, AD: anlamlı değil ($p>0,05$)



Şekil 17. Serum MDA ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

Serum MDA değerlendirmesinde 1.grup $0,401 \pm 0,1$, 2.grup $0,75 \pm 0,14$, 3.grup $0,575 \pm 0,03$, 4.grup $0,504 \pm 0,09$, 5.grup $0,477 \pm 0,13$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görüldü ($p=0,003$) 1.grup ile 2.grup arasındaki anlamlı fark ($p=0,003$) iskemi reperfüzyon zedelenmesinde serum MDA değerlerinin anlamlı derecede arttırdığını gösterdi. 1.grup ile 3.grup arasında anlamlı farklılık 3.grup değerleri yüksekliği yönünde mevcuttu ($p=0,004$). 1.grup ile 4.grup ve 5.grup arasındaki fark anlamlı değildi. 2.grup ile 3.grup arasında da anlamlı farklılık 2.grup değerlerinin yüksekliği yönünde bulundu ($p=0,048$) bu da 3.grubun 1.gruba göre değer yüksekliğine rağmen 2.gruba göre olumlu etkilerinin olduğunu gösterdi. 2.grup ile 4.grup ($p=0,009$) ve 5.grup ($p=0,013$) arasında anlamlı farklılık tedavi gruplarının değer düşüklüğü yönünde gözlemlendi ve olumlu etkilerinin olduğu şeklinde değerlendirildi. 3.grup, 4.grup ve 5.grupların birbirleri arasında anlamlı farklılık olmadığı görüldü.



Şekil 18. Serum NO ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

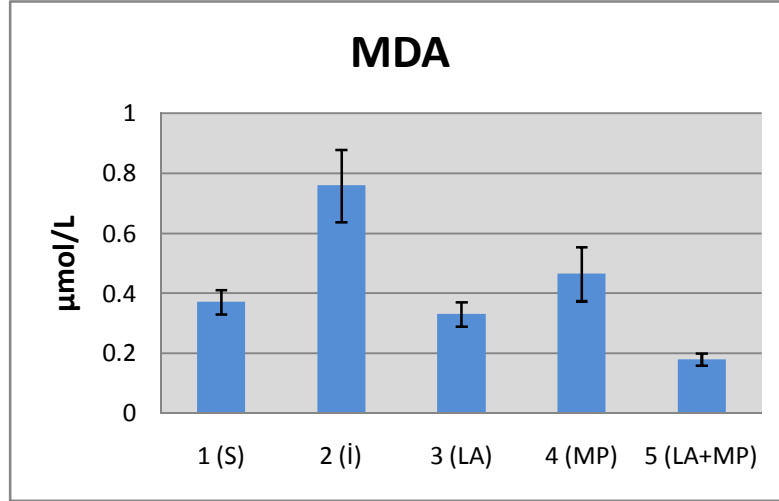
Serum NO değerlendirmesinde 1.grup $24,23 \pm 3,25$, 2.grup $67,5 \pm 4,93$, 3.grup $52,6 \pm 6,1$, 4.grup $35,86 \pm 3,4$, 5.grup $42,07 \pm 4,01$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görüldü ($P=0,002$). Bu iskemi reperfüzyon zedelenmesinde plazma NO değerlerinin anlamlı derecede arttırdığını gösterdi. 1.grup ile 3.grup, 4.grup, 5.grup arasında farklılık, 1.grup değerlerinin düşüklüğü yönünde anlamlı bulundu ($p=0,002$, $p=0,002$, $p=0,002$). 2.grup ile 3.grup ile arasında, 2.grup değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı farklılık bulundu ($P=0,004$) bu da 3.grubun 1.gruba göre değer yüksekliğine rağmen 2.gruba göre olumlu etkilerinin olduğunu gösterdi. 2.grup ile 4.grup ve 5.grupların arasında farklılık tedavi gruplarının değer düşüklüğü yönünde anlamlı olduğu görüldü ($p=0,002$) ve olumlu etkilerinin olduğu yönünde değerlendirildi. 3.grup ile 4.grup arasında 4.grup değerlerinin düşüklüğü lehine anlamlı farklılık görüldü ($p=0,002$) ve 3.grup ile 5.grup arasında da aynı yönde anlamlı farklılık ($p=0,013$) görüldü, 3.grup değerlerinin 4.grup ve 5.gruplarına göre serum NO değerlerine daha az olumlu etkisi olduğu yönünde değerlendirildi. 4.grup serum NO değerleri 5.grupa göre düşük değerleri, anlamlı ($p=0,018$) tespit edildi. Tüm tedavi gruplarının 1.gruptan anlamlı farklılıklar gösterdiği unutulmamakla beraber MP nin serum NO değerleri diğer tedavi gruplarına göre anlamlı derecede düşük olduğu ve olumlu etkilerinin LA ve LA+MP den daha iyi olduğu yönünde değerlendirildi.

4.1.4 BEYİN OMURİLİK SIVISI BİYOKİMYASAL DEĞERLERİ

Tablo 8. BOS MDA ve NO ortalama değerleri, grupların birbirleri ile karşılaştırılan p değerleri

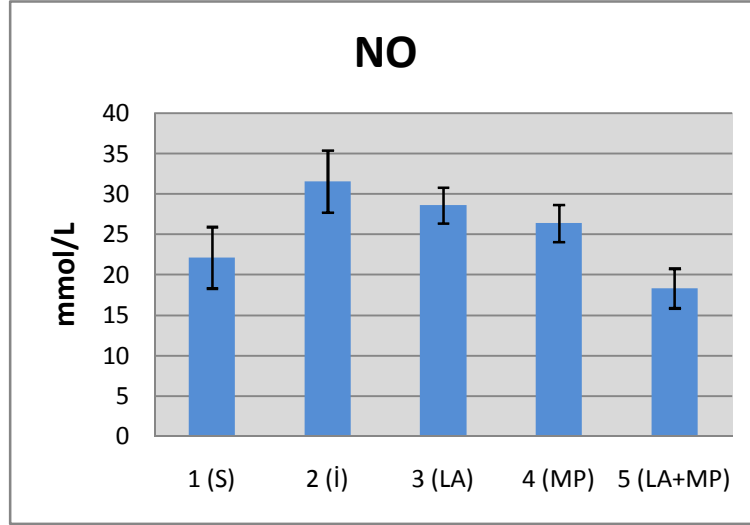
BOS ORTALAMA DEĞERLERİ		
GRUP	MDA $\pm$ SS	NO $\pm$ SS
1	0,372 $\pm$ 0,04	22,16 $\pm$ 3,8
2	0,759 $\pm$ 0,12	31,57 $\pm$ 3,85
3	0,331 $\pm$ 0,04	28,62 $\pm$ 2,23
4	0,465 $\pm$ 0,09	26,39 $\pm$ 2,3
5	0,181 $\pm$ 0,02	18,36 $\pm$ 2,45
Grup	p	p
1-2	0,002	0,003
1-3	AD	AD
1-4	AD	AD
1-5	0,002	AD
2-3	0,002	AD
2-4	0,003	AD
2-5	0,002	0,002
3-4	AD	AD
3-5	0,002	0,002
4-5	0,002	0,002

SS: standart sapma, AD: anlamlı değil(p>0,05)



Şekil 19. BOS MDA ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

BOS MDA değerlendirmesinde 1. grup $0,372 \pm 0,04$, 2. grup $0,759 \pm 0,12$, 3. grup $0,331 \pm 0,04$, 4. grup $0,465 \pm 0,09$, 5. grup $0,181 \pm 0,02$ verileri elde edildi. 2. grupta diğer gruplara göre anlamlı yükseklik görüldü ($P < 0,005$) 1.grup ile 2. grup arasındaki anlamlı fark ($P = 0,002$) iskemi reperfüzyon zedelenmesinde Beyin omurilik sıvısında MDA değerlerinin anlamlı seviyede arttığını gösterdi. 1.grup ile 3.grup ve 4.gruplarının arasında anlamlı olmayan değişiklikleri izlendi bu tedavi gruplarının BOS MDA değerlerinin 1.gruba yakın seviyelere gerilediğini gösterdi, 5.grubun ise BOS MDA değerlerinde tüm gruplarla anlamlı derecede farklılık oluşturan değer düşüklüğü izlendi ($P = 0,002$) , 1.gruptanda anlamlı derecede düşük BOS MDA değerleri saptandı ($P = 0,002$). LA tedavisinin BOS MDA değerlerinde belirgin azalmaya neden olacak etkilerinin olduğu düşünüldü.



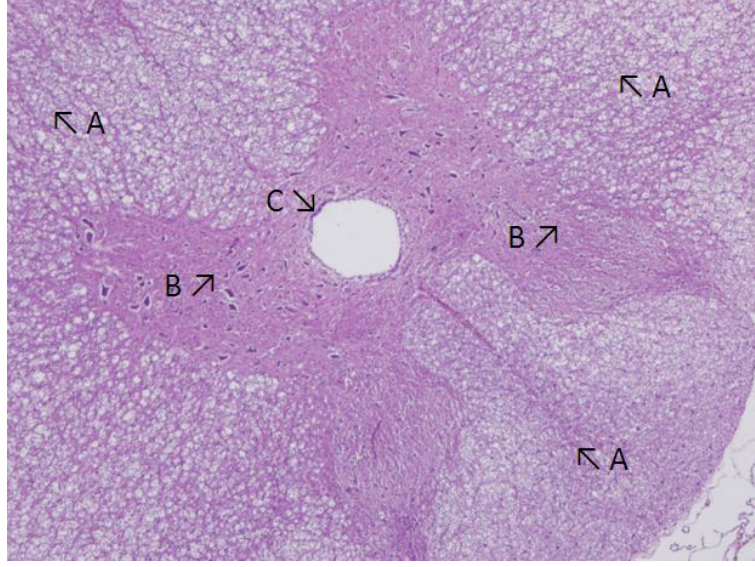
Şekil 20. BOS NO ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

BOS NO değerlendirmesinde 1.grup $22,16 \pm 3,8$, 2.grup $31,57 \pm 3,85$, 3.grup $28,62 \pm 2,23$, 4.grup $26,39 \pm 2,3$, 5.grup $18,36 \pm 2,45$ verileri elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 2.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı değişiklik görüldü ($P=0,003$) 1.grup ile 2.grup arasındaki anlamlı fark ($P=0,003$) iskemi reperfüzyon zedelenmesinde Beyin omurilik sıvısında NO değerlerinin anlamlı seviyede arttığını gösterdi. 2.grup ile 3.grup, 4.grupların arasında anlamlı değişiklik izlenmedi. 1.grup ile 3.grup ve 4.gruplarının arasında BOS NO değerleri açısından fark anlamlı değildi. 3.grubun, 4.grup, 1.grup ve 2.grup arasında anlamlı değişiklikler izlenmezken yalnızca 3.grup ile 5.grup değerlerinde farklılık görüldü ($p=0,002$) . 5.grup grubu ise BOS NO değerlerinde 2.grup ile 2.grup değerlerinin yüksekliği yönünde anlamlı farklılık izlenirken ($p=0,002$), 1.grup ile anlamlı fark izlenmemesi ve 3.grup, 4. gruplarına göre anlamlı değer düşüklüğü ($p=0,002$) görülmesi zedelemeye olumlu etkilerinin olduğu yönünde değerlendirildi.

4.2.HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

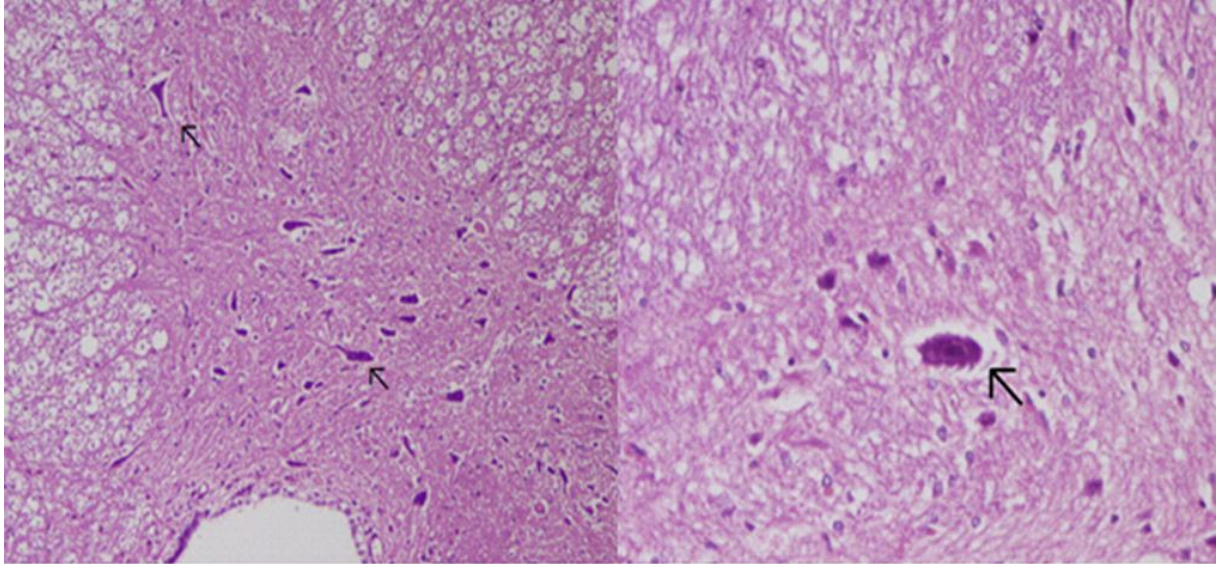
4.2.1 GRUP 1

Sham grubu ışık mikroskopik incelemelerinde omuriliğin normal gri cevher, beyaz cevher ve santral kanalın rahatlıkla seçilebildiği transvers kesit izlendi (Resim 3). Gri maddede canlı nöronlar mevcuttu (Resim 4,5).



Resim 3. Grup 1 normal özellikler gösteren spinal kord (HEx40). A: Beyaz madde, B: Gri madde, C: Santral kanal.

Sham grubu ışık mikroskopik incelemelerinde omuriliğin normal gri cevher, beyaz cevher ve santral kanalın rahatlıkla seçilebildiği transvers kesit .

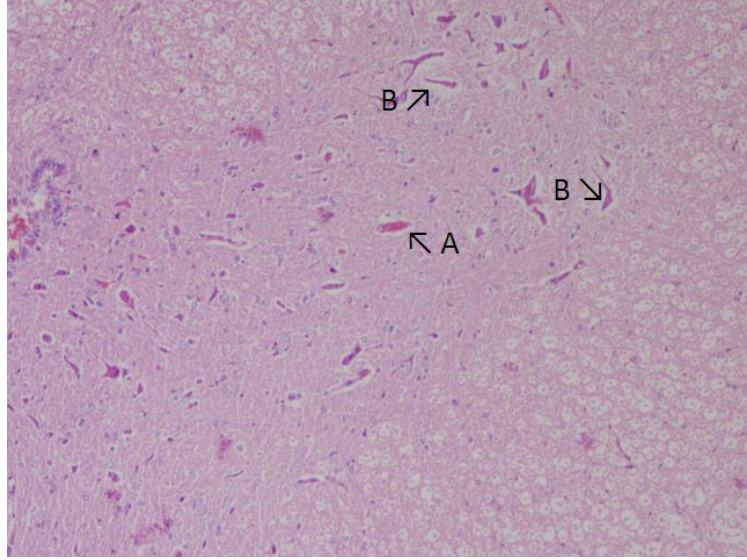


Resim 4. Grup 1 Gri madde, içerisinde canlı nöronlar
↗: Canlı nöronlar

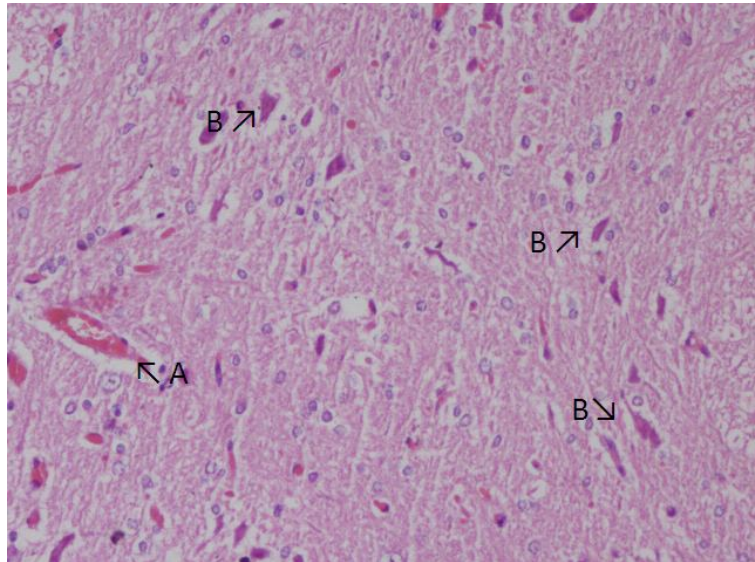
Resim 5. Nükleusu ve sitoplazmik granülleri seçilebilen canlı nöronun daha büyük büyütmedeki görünümü (HEx200).

4.2.2 GRUP 2

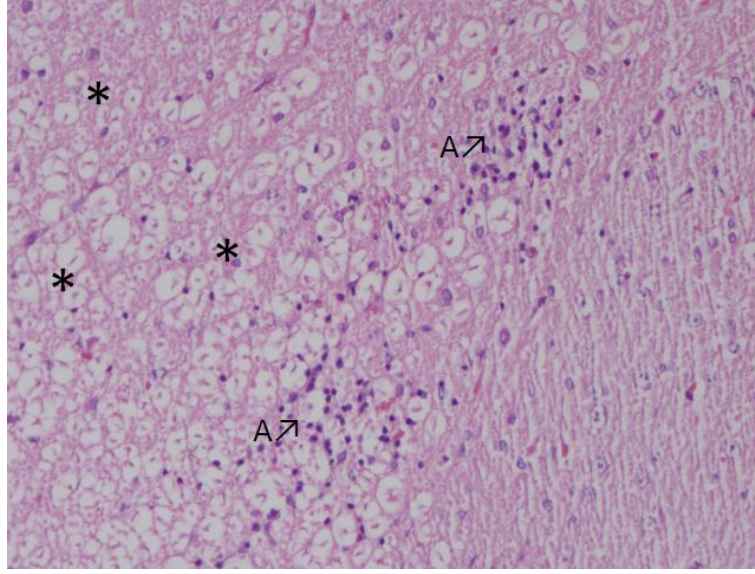
Grup 2' de gri madde içerisinde konjesyon ve piknotik nükleuslu eozinofilik sitoplazmalı zedelenmiş nöronlar seçiliyordu (Resim 6, 7). Beyaz maddede ödem ve mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu mevcuttu (Resim 8).



Resim 6. Grup 2; konjesyon ve zedelenmiş nöronlar içeren gri madde (HEx100). A: Konjesyone damar kesitleri B: Zedelenmiş nöronlar



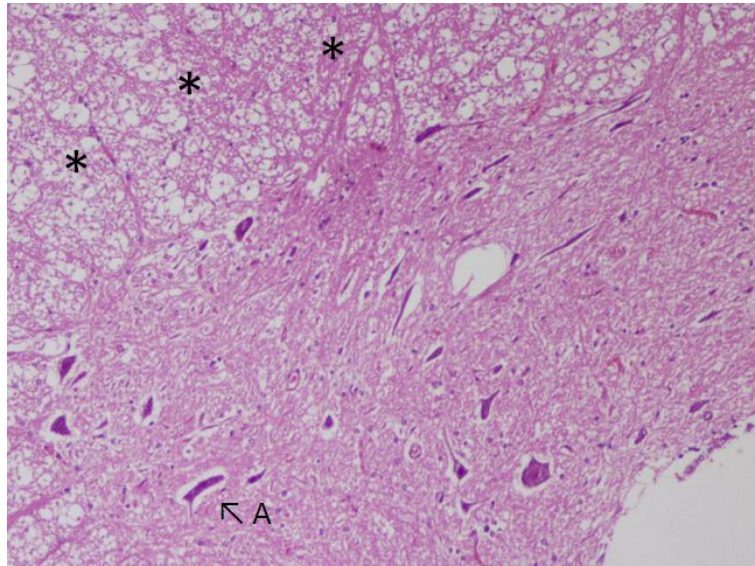
Resim 7. Grup 2; piknotik nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı zedelenmiş nöronların daha büyük büyütmedeki görünümü (HEx200). A: Konjesyone damar kesitleri B: Zedelenmiş nöronlar



Resim 8. Grup 2; beyaz maddede ödem ve mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (HEEx200). *: Beyaz madde içerisinde ödemli alan A: Mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu.

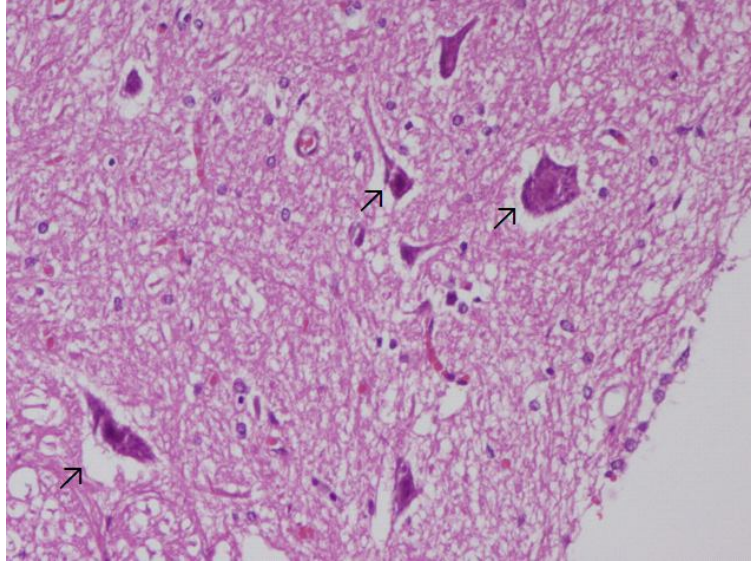
4.2.3 GRUP 3

Grup 3' de ödem ve konjesyon mevcuttu, ancak gri maddede canlı nöronlar izleniyordu (Resim 9,10).



Resim 9. Beyaz maddede ödem ve gri maddede canlı nöronlar (HEEx100).

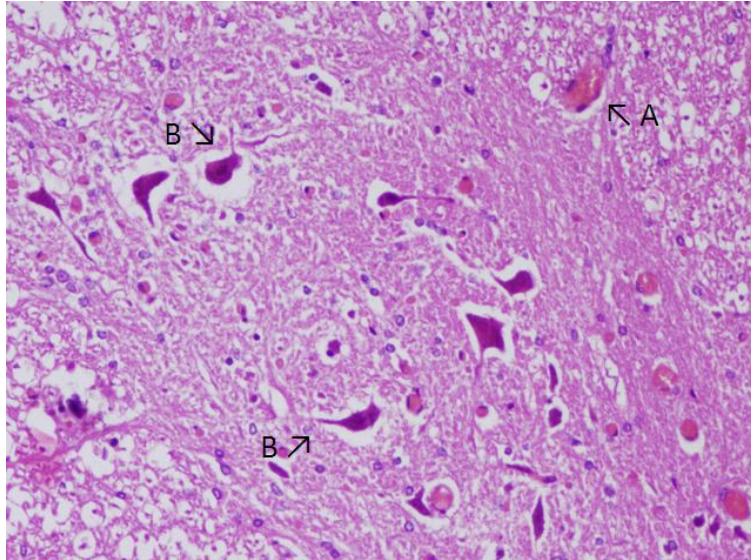
*: Beyaz maddede ödem A: Canlı nöronların görünümü.



Resim 10. Grup 3; gevşek nükleer kromatine sahip, sitoplazmik granülleri seçilebilen canlı nöronların daha büyük büyütmedeki görünümü (HEx200). ↗ : Canlı nöronlar.

4.2.4 GRUP 4

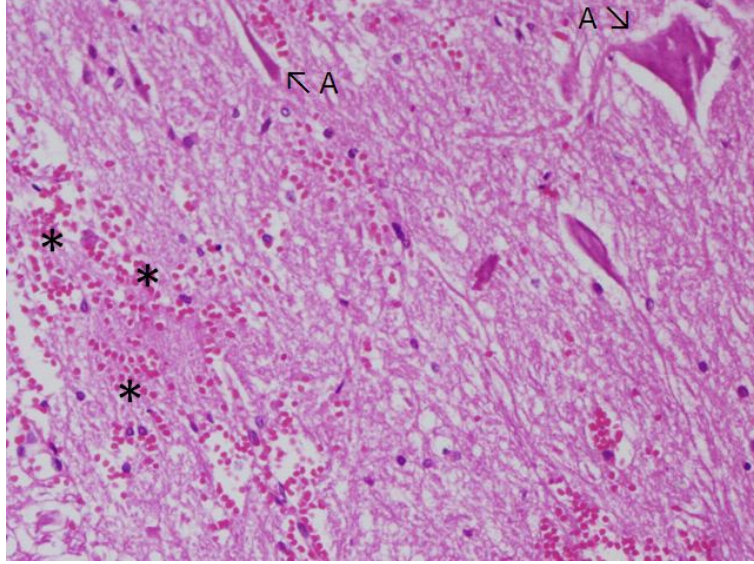
Grup 4' de gri maddede konjesyon ve canlı nöronlar izleniyordu (Resim11).



Resim 11. Grup 4; gri maddede konjesyon ve canlı nöronlar (HEx200). A:Gri maddede konjesyone damar kesitleri, B: Canlı nöronlar

4.2.5 GRUP 5

Grup 5’de gri madde içerisinde konjesyon, hemoraji ve zedelenmiş nöronlar seçiliyordu (Resim 12). Beyaz maddede ödem mevcuttu.



Resim 12. Grup 5; gri maddede konjesyon, hemoraji ve zedelenmiş nöronlar (HEx200).

*: Gri maddede hemorajik alan, A: Zedelenmiş nöronlar.

Tablo 9. Histopatolojik sonuçların ortalama değerleri, grupların birbirleri ile karşılaştırılan p değerleri

	HİSTOPATOLOJİ ORTALAMA DEĞERLERİ					
GRUP	Konjesyon	Hemoraji	Ödem	MİH İnfiltrasyonu	Nekroz	Nöronal Viabilite
1	1,143	1,143	1	2	1	1
2	1,714	1,857	2	1,571	1	0,155
3	2	1,143	2	1,429	1	1
4	2	2	1	2	1	1
5	2	1,143	2	1,286	1	0,183
Grup	p	p	p	p	p	p
1-2	0,037	0,035	P<0,001	AD	AD	0,001
1-3	0,002	AD	P<0,001	0,023	AD	AD
1-4	0,002	0,002	AD	AD	AD	AD
1-5	0,002	AD	P<0,001	0,007	AD	0,001
2-3	AD	0,035	AD	AD	AD	0,001
2-4	AD	P<0,001	P<0,001	AD	AD	0,001
2-5	AD	0,035	AD	AD	AD	AD
3-4	AD	0,002	P<0,001	0,023	AD	AD
3-5	AD	AD	AD	AD	AD	0,001
4-5	AD	0,002	P<0,001	0,007	AD	0,001

SS: standart sapma, AD: anlamlı değil(p>0,05)

Konjesyon verilerinin istatistiksel analizi sonucu ortalama değerleri 1.grup: 1,143 2.grup: 1,714, 3.grup: 2, 4.grup: 2, 5.grup: 2 olarak elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında anlamlı farklılık izlendi (p=0,037) bu iskemi-reperfüzyon hasarıyla spinal kord dokusunun etkilenmiş olduğu şeklinde değerlendirildi. 1.grup ile diğer tüm tedavi grupları arasında, tedavi gruplarının değer yüksekliği yönünde anlamlı farklılık mevcuttu (p=0,002, p=0,002, p=0,002). Konjesyon yönünden 2.grup, 3.grup, 4.grup ve 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi.

Hemoraji verilerinin istatistiksel analizi sonucu ortalama değerleri 1.grup: 1,143, 2.grup: 1,857, 3.grup: 1,143, 4.grup:2, 5.grup: 1,143 olarak elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında anlamlı farklılık izlendi ($p=0,035$) bu iskemi–reperfüzyon hasarıyla spinal kord dokusunun etkilenmiş olduğu şeklinde değerlendirildi. 1.grup ile 3.grup ve 5.grup arasında anlamlı fark bulunmadı, 1.grup ile 4.grup arasında, 4.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde fark anlamlıydı ($p=0,002$). 2.grup ile 3.grup ve 5.gruplar arasında 2.grubun değer yüksekliği ile ilişkili olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0,035$, $p=0,035$), 2.grup ile 4.grup arasında ise 4.grubun değer yüksekliği yönünde fark anlamlıydı ($P<0,001$). 3.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 4.grup değerleri ile 3.grup ve 5.gruplar arasında, 4.grubun değer yüksekliği ile ilişkili olarak anlamlı farklılıklar izlendi ($p=0,002$, $p=0,002$).

Ödem verilerinin istatistiksel analizi sonucu ortalama değerleri 1.grup: 1, 2.grup: 2, 3.grup: 2, 4.grup: 1, 5.grup: 2 olarak elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında anlamlı farklılık izlendi ($p<0,001$) bu iskemi–reperfüzyon hasarıyla spinal kord dokusunun etkilenmiş olduğu şeklinde değerlendirildi. 1.grup ile 3.grup arasında ki fark 3.grubun yüksekliği yönünde anlamlıydı ($p<0,001$). 1.grup ile 4.grup arasında anlamlı fark bulunamadı, 1.grup ile 5 grup arasında, 5.grubun değerlerinin yüksekliği yönünde fark anlamlıydı ($p<0,001$). 2.grup ile 3.grup arasında anlamlı fark bulunamadı, 2.grup ile 4.grup arasında ise 2.grubun değer yüksekliği yönünde fark anlamlı alındı($P<0,001$). 2.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 3.grup değerleri ile 4.grup arasında, 3.grubun değer yüksekliği ile ilişkili olarak anlamlı farklılıklar izlendi ($P<0,001$). 3.grup ile 5.grup arasında anlamlı fark bulunamadı.

Mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu değerlendirmeleri, istatistiksel analizi sonucu ortalama değerleri 1.grup: 2, 2.grup: 1,571, 3.grup: 1,429, 4.grup:2, 5.grup: 1,286 olarak elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasındaki 1.grubun değer yüksekliği yönündeki fark anlamlı değildi. 1.grup ile 3.grup ve 5.gruplar arasında 1.grubun değer yüksekliği yönündeki fark anlamlıydı ($p=0,023$, $p=0,007$). 1.grup ile 4.grup arasında farklılık izlenmedi. 2.grup ile 3.grup, 4.grup ve 5.gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 3.grup ve 4.grup arasında, 4.grubun değer

yüksekliği yönünde fark anlamlıydı($p=0,023$). 3.grup ve 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 4.grup ve 5.grup arasında, 4.grubun değeriinde yüksekliği yönünde anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0,007$).

Gruplarda nekroz izlenmedi.

Nöronal viabilite verilerinin puanlamasının istatistiksel analizi sonucu ortalama değeri 1.grup: 1, 2.grup: 0,155, 3.grup: 1 , 4.grup:1, 5.grup: 0,183 olarak elde edildi. 1.grup ile 2.grup arasında 1.grubun değeriinde yükseklik yönünde anlamlı farklılık izlendi ($p=0,001$). 1.grup ile 3.grup ve 4.grup arasında farklılık bulunmadı, 1.grup ile 5.grup arasında, 5.grubun değeriinin düşükliğü yönünde fark anlamlıydı ($p=0,001$). 2.grup ile 3.grup ve 4.gruplar arasında 2.grubun değeri düşükliğü ile ilişkili olarak anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0,001$, $p=0,001$), 2.grup ile 5.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 3.grup ile 4.grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi. 3.grup ile 5.grup arasında 3.grubun değeri yüksekliği ile ilişkili olarak anlamlı farklılıklar izlendi ($p=0,001$). 4.grup ile 5.grup arasında, 4.grubun değeri yüksekliği ile ilişkili olarak anlamlı farklılıklar izlendi ($p=0,001$).

4.3 NÖROFONKSİYONEL BULGULAR

Tablo 10. Nörofonksiyonel değerlendirme sonuçlarının ortalama değerleri, grupların birbirleri ile karşılaştırılan p değerleri

	TARLOV ORTALAMA DEĞERLERİ			
GRUP	0/h	12/h	24/h	48/h
1	5	5	5	5
2	0	0,143	0,286	0,286
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0,286	0,429	0,429
Grup	p	p	p	p
1-2	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
1-3	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
1-4	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
1-5	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
2-3	AD	AD	AD	AD
2-4	AD	AD	AD	AD
2-5	AD	AD	AD	AD
3-4	AD	AD	AD	AD
3-5	AD	AD	AD	AD
4-5	AD	AD	AD	AD

SS: standart sapma, AD: anlamlı değil(p>0,05)

Cerrahi prosedür sonrası, sham grubunda herhangi bir nörolojik defisit izlenmezken (Tarlov5), diğer gruplardaki deneklerde ciddi kuvvet kusurları (Tarlov $\leq$ 3) ilk değerlendirmeden itibaren mevcuttu. İstatistik olarak 1.grup ile diğer tüm gruplarda anlamlı farklılık görüldü (p<0,001) . İlerleyen saatlerde de 1.grup ile tedavi grupları arasında fark istatistiksel olarak değişmedi. 2.grup, 3.grup, 4.grup ve 5.grup arasında farklılıklar olsa da anlamlı değildi.

5.TARTIŞMA

Omurilik yaralanması ve sonuçları; görülme sıklığının görece yüksek olması, ferdi ve toplumsal yıkıcı etkileri yanında, fikir birliğine varılmış kür sağlayan tedavi protokolünün olmaması nedeni ile halen önemli bir sağlık ve sosyal problemidir(2). Amerika Birleşik Devletleri'nde 183,000-230,000 kişi spinal kord yaralanması kaynaklı sakatlıkla yaşamaktadır. Her yıl bunlara 10,000 yeni olgu eklenmektedir (4). Her bir komplet kord yaralanması topluma ortalama tedavi masrafları ve kişisel iş gücü kaybı nedeniyle yaşam boyu yaklaşık 1,5 milyon dolara mal olmaktadır. Bu nedenle spinal kord yaralanmasında etkin tedavi yöntemlerinin bulunması topluma büyük ekonomik fayda sağlayacaktır (10).

Deneyisel çalışmalar insan omurilik travmasına yakın bir travma modelinin geliştirilmesidir. Hayvan omurilik travma modeli, insan omurilik travmasının biyomekanik özelliklerine benzer olmalı, travma sonrası omurilikte benzer morfolojik ve patolojik özellikleri gösterebilmeli ve deneyisel tedavi protokolleri sonrasında gelişecek fonksiyonel iyileşme insanlarda görülebilecek iyileşmeye benzer olmalıdır (130).

Spinal kord iskemisi, fizyopatolojisinde yer alan nörotoksisite ve hücre içi kalsiyum artışı, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal oluşumu gibi mekanizmalar karmaşık bir ilişki içindedir. Reperfüzyon ise, bir yandan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan ani ve fazla miktarda oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları, iskemik hasara uğramış dokularda özellikle serbest oksijen radikallerinin artması ile oluşan hasarı artırmaktadır. Spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla serbest radikal gidericileri, antiinflamatuvar ajanlar, kalsiyum kanal blokerleri, membran stabilizatörleri, eksitatuvar amino asit reseptör antagonistleri, antiödem tedavi ve antiagregan ajanlar gibi pek çok ajan kullanılmıştır (131).

İskemik spinal kord yaralanması torasik ve torakoabdominal aort anevrizması cerrahileri esnasında karşılaşılan önemli bir problemidir (20). Aort

cerrahisi esnasında aort'un klemplenmesi spinal kordda yaralanma meydana getirir. Reperfüzyon iskemik yaralanmayı arttırır, iyileşme sürecini uzatır. Bu tür cerrahilerden sonra spinal kord yaralanmasının %40 olduğu belirtilmiştir (132). Torasik aorta cerrahi sonrası parapleji ciddi bir komplikasyon olabilmekte, insidansı %4-%33 arasında rapor edilmiştir (133).

Distal aort cerrahisinde spinal kord zedelenmesini önleyen tam etkili ve güvenli bir koruma yönteminin varlığından söz edilemez. Bu hasarı önlemeye yönelik birçok çalışma yapılmıştır ve arayışlar hala sürmektedir. Bu amaçla, halen pasif şantlar ya da parsiyel bypass yardımıyla distal aorta perfüzyonun arttırılması, serebrospinal sıvıyı drene ederek spinal kord basıncının düşürülmesi, önemli interkostal ve lomber arterlerin korunması veya reimplantasyonu, hızlı cerrahi, operasyon esnasında cerraha spinal kord disfonksiyonu hakkında bilgi veren somatosensör ve evoke potansiyel ölçümü yaparak spinal kord fonksiyonlarının operasyon süresince izlenmesi, intratekal vazodilatatörler ile kollateral kan dolaşımının arttırılması, lokal ya da sistemik hipotermi ile spinal kordun iskemiyeye olan toleransının arttırılması ve çeşitli farmakolojik ajanlarla reperfüzyon hasarının azaltılması gibi birçok yöntem tek tek veya farklı kombinasyonlarda kullanılmaktadır (134,135).

Tavşanlarda spinal kord kan akımı segmentaldir ve aortaya renal arter çıkışından sonra uygulanacak klipaj ile iç organlar hasar görmeden omurilikte iskemiyeye meydana getirilebilmektedir. Oklüzyon süresi ile histopatolojik ve klinik sonuçlar arasındaki düzgün ilişki nedeniyle iyi bir model olarak sıklıkla kullanılmaktadır (136-137). Çalışmamızda, iyi bir iskemiyeye reperfüzyon modeli olduğu için denek olarak tavşan seçildi.

Akut spinal kord hasarında kortikosteroidler, antiinflamatuvar etkinlikleri ve buna bağlı olarak ödemi azaltması nedeniyle 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır ve deneysel çalışmaların önemli bir kısmında yararlılığı ortaya konulmuştur (63,64,138). Buna karşın nöroprotektif etkinliğinin mekanizması tam anlaşılamamıştır. Lipit peroksidasyonu, inflamatuvar sitokinlerin inhibisyonu, inflamatuvar immün hücre modülasyonu gibi mekanizmalarla etki gösterdiği

düşünülmektedir. Ayrıca vasküler perfüzyonu artırmakta ve kalsiyumun hücreye geçişi ile hücre içinde birikimini önlemektedir (65). Glukokortikoidlerin lipid peroksidasyonunu önlemesi en güçlü nöroprotektif etkileridir. MP bu konuda diğer glikokortikoidlere göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (66) Medulla spinalis yaralanmalarında halen en yaygın klinik kullanımı olan ajan MP'dir (63). MP uygun doz ve uygun zamanda uygulanması ile spinal kord yaralanması nörolojik defisitlerinde klinik ve deneysel çalışmalarla faydası olduğu gösterilmiştir (13,69,139). Ancak yüksek doz kortikosteroidlerin ciddi yan etkileri ve klinik kür de yetersizliği yeni nöroprotektif ajanlara yönelik çalışmaları gerekli kılmaktadır. Günümüzde MP akut spinal kord hasarlanması tedavisinde kullanılması güncel olarak kabul edilen tek ilaçtır.(10,71). MP çalışmamızda, yukarıda bahis edilen durumlar ve LA etkilerini karşılaştırabileceğimiz, üstünlüklerini veya eksiklerini tartabileceğimiz de önemli kılavuz olması nedeniyle seçildi.

MP tek başına kullanılmasının yanı sıra kombine tedavilerle bu nöroprotektif etkinin artırılması araştırmacılarının ilgisini çekmiştir. Daneyemez M. spinal kord hasarı oluşturulan ratlarda MP tedavisi ile MP ve vitamin E kombinasyon tedavisini kullandığı deneklerde, iskemik sahanın boyutları tedavi edilmeyen gruba göre daha küçük, adrenalin, noradrenalin ve dopamin seviyeleri daha düşük olarak saptamıştır; ancak MP tek başına verilmesiyle vitamin E ile kombine edilmesi arasında farklılık saptamamıştır (140). Xiong M ve ark. yaptıkları retrospektif klinik bir çalışmada tedavide eritropoetin (EPO) ve MP kullanmışlar, EPO ve MP kullanılan grupta, sadece MP kullanılan grubu göre nörolojik fonksiyonlarda, 1,2 yıllık dönemde, erken döneme göre anlamlı düzelme tespit etmişlerdir (141).

LA ise antioksidan özellikleri olan ve bu yönüyle serbest radikallere karşı metabolizmada koruyucu etkilere sahip önemli bir reaktiftir. Metabolizmada vitamin E ve glutatyonu rejenere ederek aktif hale getirir. LA antioksidan olarak suda ve yağda çözündüğü için önemli bir ajandır. Bu yönüyle suda çözünen vitamin C ve yağda çözünen vitamin E gibi hem hücre dışında hem de hücre membranında koruyucu etkileri olduğu belirtilmektedir (16). Oksidatif metabolizmadaki LA; lipoamid gibi mitokondrideki α -ketoasit dehidrogenaz komplekslerinin temel kofaktörü olarak bilinir (142). Yapılan çalışmalarda LA

türevi olan lipoatın; serbest radikallere karşı koruyucu etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (143,144).

Emmez H ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, spinal kord İ/R tavşan modelinde alfa lipoik asitin anti-apoptotik ve nöroprotektif etkilerini araştırdıklarında, NO,GSH,MDA seviyelerinde antioksidan özellikler gösteren anlamlı değişiklikler hem doku hem serum örneklerinde gösterilmiştir. SOD seviyelerinde bu özellikler izlenmemiş, histopatolojik olarak hücre dejenerasyonu ve infiltrasyon parametrelerinde önemli farklılıklar bulunmuştur. LA'nın SKY'de olumlu etkileri olduğu ifade edilmiştir (145). MDA değerleri bizim çalışmamızda tedavi gruplarında sham ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ancak serumda tedavi grubu için benzer şekilde değerler anlamlı düşme göstermektedir. Bizim yaptığımız çalışmada SOD değerleri sadece dokuda çalışıldı ve İ/R grubunda sham grubuna göre yükselme görüldü, tedavi gruplarında da İ/R grubundan anlamlı değer artışı görüldü. NO değerlerinde bu çalışmayla uyumlu olarak İ/R grubunda anlamlı artış, tedavi gruplarında olumlu anlamda azalma görüldü.

Shaafi S. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada spinal kord İ/R sıçan modelinde alfa lipoik asitin etkilerini araştırmışlar ve nörolojik fonksiyon olarak LA tedavi grubunda İ/R grubuna göre anlamlı değişiklikler bildirmişlerdir. İ/R grubunda spinal kord doku GSH-Px ve SOD aktivitesi önemli ölçüde düştüğü, LA ile tedavi edilen grupta, GSH-Px ve SOD düzeylerinin yükseldiği bulunmuştur. MDA değerlerinde sadece IR grubu diğerleri ile anlamlı farklılıklar göstermiş ve yüksek değerler bulunmuştur (146). Bizim çalışmamızda İ/R grubu GSH-Px ve SOD aktivitesi artış göstermiştir, tedavi gruplarında ise benzer şekilde enzim aktivitelerinin artışı izlendi. MDA değerlerinde anlamlı değişiklikler tedavi grubunun plazma ve BOS değerleri olumlu iken doku örneklerinde anlamlı artış göstermektedir. Bizim çalışmamızda tedavi grubu SOD ve GSH-Px değerleri benzer şekilde sadece LA verilen grupta artmış, MP ve LA+MP verilen gruplar İ/R grubu ile farklılık göstermemiştir. Nörolojik fonksiyon olarak anlamlı değişiklikler bizim çalışmamızda izlenmemiştir.

MDA değerleri alışmamızda BOS'dan elde edilen sonuçlarda İ/R grubunda, sham grubundan belirgin şekilde artmış bulundu buda lipit peroksidasyonunun aktivasyonunu göstermiştir. BOS MDA değerlerinin yüksek olması santral sinir siteminin iskemi ve reperfüzyondan olumsuz etkilenmiş olduğunu göstermektedir. LA verilen grup MDA değerleri sham grubunun bile altında bulunması, LA nın lipit peroksidasyonunu baskıladığını göstermiştir. Ancak LA verilen grup ile MP verilen gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmezken LA+MP verilen grup BOS MDA değerleri sham grubundan bile anlamlı derecede düşük olmuştu. LA+MP verilen grubun santral sinir sisteminde İ/R nin olumsuz etkilerini ve ayrıca sham grubunun da maruz kaldığı travmatik etkilerle oluşan lipit peroksidasyonunu tetikleyen kaskadı baskılamış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Serum MDA değerleri analiz edildiğinde İ/R grubunun anlamlı şekilde sham grubundan yüksek sonuçları olduğu görüldü. Buda iskemi reperfüzyon ile sistemik olarak lipit peroksidasyonun aktive olduğunu göstermiştir. LA verilen grup İ/R grubuna göre MDA değerlerinde anlamlı azalma olması LA'nın bu hasarlanma kaskadında olumlu etkilerinin sham grubuna MDA değerlerini yaklaştırma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Ancak bu fark BOS MDA değerlerindeki gibi sham grubundan daha fazla azalma şeklinde değildi. Sham grubu ile LA verilen grup arasında sham grubunun lehine anlamlı farklılık izlenmiştir. MP verilen grup sonuçlar yönünden LA verilen gruba göre daha olumlu, LA+MP verilen grupta LA ve MP verilen gruplara göre farklılık anlamlı değildi. Spinal kord doku MDA değerleri analizinde sham grubuna göre MDA değerlerinin İ/R grubunda anlamlı derecede artmış olduğunu bununda İ/R sonucu hasarlanmanın olduğu şeklinde yorumlandı. Ancak alışmamızda tedavi grubu MDA değerleri serum ve BOS da azalmış olsa da doku örneklerinde artış göstermiştir. Bu durum verilen tedavilerin olumlu etkileri olsa da spinal kord dokusu için yeterli dozlarda olmayabileceği, spinal kord doku örneklerinde iskeminin geri dönüşümsüz hasarlara yol aımmış olabileceği anlamlarına gelebilir, MDA doku değerleri Emmez H ve ark. alışmalarına göre benzerlik göstermemektedir (145), Shaafi S. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada İ/R grubunun doku MDA yüksekliğini göstermesi ve tedavi gruplarında anlamlı değişiklik izlenmemesi bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir (146).

Biyolojik sistemler, enzimatik sistemlerin aktive olması ile SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GSH-Px (glutasyon peroksidaz) ve diğer antioksidanların kombinasyonu ile oksidatif hasara karşı korunurlar (147). Çalışmamızda, antioksidan olarak görev yapan, dokuda SOD GSH-Px, CAT ölçümleri değerlendirildi.

SOD doku değerleri analizinde tedavi gruplarında özellikle LA grubunda İ/R grubuna göre anlamlı yükselmiş olması antioksidan aktivitenin arttığını göstermekteydi MP'nin antioksidan etki yönünden İ/R grubundan anlamlı farklılığı gözlenmemiştir. GSH-Px değerlerinin analizinde sham grubuna göre İ/R grubunda GSH-Px'in artması bu grupta antioksidan aktivitenin arttığını göstermekteydi. Tedavi gruplarında ise bu enzim aktivitesi özellikle LA grubunda İ/R grubuna göre belirgin şekilde artmıştır. LA ve MP tedavi gruplarının birbirlerine üstünlükleri görülmezken, LA'nın üstünlüğü LA+MP grubuyla arasında anlamlı farklılığa neden oldu. LA+MP grubunda SOD ve GSH-Px enzim seviyelerinin LA'nın tek başına olan etkisinden daha az yükseltebilmişler ve bu seviye iki veri grubunda da MP ve LA'nın tek başına olan etkilerinden daha az olmuştur. CAT spinal kord doku değerleri analizinde çalışmamızda yine İ/R grubunun sham grubuna göre değer artışı anlamlı değildi, LA grubunda diğer gruplara göre belirgin artışı görüldü. İ/R ve sham gruplarından anlamlı şekilde değer artışları görüldü. LA'nın antioksidan etkisi MP ve LA+MP gruplarından fazla olsa da anlamlı değildi.

Nitrik oksit (NO), güçlü bir serbest radikaldir. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile L-arjinin den L-citrulline dönüştürülerek oluşur. Nitrik oksit reaksiyon ürünü, peroksinitrit güçlü oksitleyici bir ajandır ve hücrel yaralanma oluşumuna neden olur (148). Çalışmamızda BOS, serum ve dokuda NO düzeyi değerlendirildi. BOS NO değerleri analiz edildiğinde iskemi grubunda, sham grubundan anlamlı yükseklik izlenirken tedavi gruplarında normal değerlere yaklaşma eğilimi gözlemlendi. Ancak sadece LA+MP grubuyla İ/R grubu arasında anlamlı farklılık tespit edildi. Serum NO değerleri analiz edildiğinde İ/R grubu değerleri sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştı. Tedavi grupları sham

grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ve İ/R grubundanda anlamlı derecede düşük oldukları görüldü. MP verilen grup diğerlerine göre anlamlı değer düşüklüğü gösterdi. Serum NO değerleri göz önüne alındığında MP'nin sistemik olarak NO seviyelerini azaltarak daha faydalı olduğu yönünde yorumlanabilir. Doku NO değerleri analizinde; sham grubu ile İ/R grubu arasındaki farkı anlamlandırmaya da İ/R grubu ile tedavi grupları arasında belirgin farklılıklar tedavi gruplarının lehine anlamlıydı. MP yine değer olarak en düşük NO seviyeleri gösterse de tedavi grupları arasındaki fark anlamlı değildi. Bu durum tedavi gruplarının spinal kord dokusunu koruyucu etkilerini göstermiştir.

Biyokimyasal olarak; çalışmamızda LA, MP ve LA+MP uygulamasının iskemi-reperfüzyon hasarında spinal kord dokusunda, serumda ve BOS'da antioksidan enzim aktivitelerinde artışa yol açacak etkilerle, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu azaltarak serbest radikal düzeylerini düşürüp organı koruduğu gösterilmiştir.

Histopatolojik olarak konjesyon, hemoraji, ödem ve nekroz, x100 büyütmede Hauet ve arkadaşları tarafından tanımlanan semikantitatif skalaya göre yapıldı (128). Konjesyon değerlendirildiğinde sham grubu ile diğer tüm gruplar arasındaki fark anlamlıydı. İ/R grubu ve tedavi grupları farklılıkları anlamlı değildi. Hemoraji puanlaması sonuçları değerlendirildiğinde sham grubu LA grubu ve LA+MP grubu değerleri farklılık göstermedi. İ/R grubu ve MP grubunda değerler sham grubuna göre anlamlı yüksek bulundu. Ödem değerlendirmesi sham grubu ile İ/R grubu arasında ki anlamlı fark MP grubundada görüldü. Ödem yönünden MP, sham grubu değerlerine yaklaşırken diğer tedavi grubunda ortalama değerler İ/R grubundan farklı değildi. Çalışmamızda hiçbir grupta nekroz izlenmedi. Nöronal viabilite x200 büyütmede değerlendirildi. Gri maddede gevşek nükleer kromatin ve sitoplazmik Nissl granülleri içeren nöronlar canlı, piknotik nükleuslu, eozinofilik sitoplazmalı nöronlar hasarlı olarak kabul edildi ve her denek hayvanının zedelenmemiş canlı nöronlarının, tüm nöronlara oranı hesaplanarak kantitatif bir indeks olan nöronal viabilite kullanıldı (129). Çalışmamızda nöronal viabilite açısından sham grubu ile İ/R grubu arasında anlamlı farklılık izlendi. LA ve MP gruplarında bu değerlerin sham grubu ile aynı

değerlere yükseldiği görüldü. İ/R grubundan anlamlı olarak yüksek değerler tedavi gruplarının olumlu etkisini gösterirken LA+MP grubunda İ/R grubu ile farklılık görülmedi. LA+MP uygulamasının herbirinin tek tek uygulanmasından daha olumsuz histopatolojik sonuçlara yol açabileceği düşünülmüştür.

Nörofonksiyon değerlendirmesinde Tarlov skoru kullanıldı ve sham grubu ile İ/R grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı. 0.,12.,24.,48. Saatlerde farklılıklar izlense de tüm grupların, değerlendirme saatlerinde anlamlı farklılık gözlenmedi.

Sonuç olarak, spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında, biyokimyasal, histopatolojik ve nörolojik değerlendirmelere dayanarak, günümüzün tek tedavi seçeneği olan MP kliniklerimizde de görüldüğü gibi, olumlu etkileri fonksiyonel olarak değişikliklere neden olmamaktadır. Deneysel verilere göre, MP spinal kord hasarının şiddetini azalmaktadır, çalışmamızda kullanılan LA'nın antioksidan özellikleri ile MP'ye belirgin üstünlükleri olmamış, karmaşık sekonder yaralanma prosesinde antioksidan özellikleri olduğu görülmüştür. Ancak literatürler tarandığında görüleceği gibi birçok ajanın faydalı etkileri olmuştur(137,140,145,146,149-151). Yeni strateji kombine tedaviler geliştirilerek, nöroprotektif özellikleri olan ve yan etki profili geniş MP'nin doz azaltılmasına neden olacak yardımcı ajanlar eklenerek, deneysel çalışmaların, yaygın, uzun süreli klinik çalışmalarla desteklenmesi olmalıdır.

6.SONUÇLAR

1. İskemi-reperfüzyon yaralanması inflamatuvar yanıt ve oksidatif strese neden olmuştur.
2. İskemi-reperfüzyon yaralanması sonucu oksidatif stress indüklenerek MDA değerleri serum, BOS, ve dokuda yükselmiştir.
3. İskemi-reperfüzyon yaralanması sonucu oksidatif strese yanıt olarak doku CAT, SOD, GSH-Px değerleri artmıştır. CAT değerlerinde artış anlamlı değilken, diğerlerinde anlamlı bulunmuştur. Bu durum oksidatif strese adaptif yanıt olarak değerlendirilmiştir.
4. İskemi-reperfüzyon yaralanması sonucu oksidatif stres göstergelerinden NO doku, serum ve BOS da artmıştır. Dokuda artışı, çalışmamızda anlamlı olmamıştır.
5. İskemi-reperfüzyon yaralanması sonucu doku ışık mikroskopisinde hemoraji, konjesyon ve ödem artmış, nöronal viabilite azalmıştır. MİH inflamasyonunda ise anlamlı değişiklik izlenmemiştir.
6. İskemi-reperfüzyon yaralanması sonucu nörolojik fonksiyonlarda ileri kayıp ortaya çıkmıştır. Antioksidan, antinflamatuvar ajan uygulamakla nörolojik fonksiyon değişiklikleri olmamıştır.
7. LA veya MP uygulanması ile doku MDA değerlerinde anlamlı değişiklik olmamış, MP ile İ/R grubundan anlamlı artış görülmüştür. LA+MP uygulanması ise doku MDA değerlerini tüm gruplardan daha fazla arttırmıştır. Çalışmamızda kombine tedavi ile oksidatif stres kanıtlarından olan MDA anlamlı şekilde artmıştır.
8. LA kullanılması ile dokuda CAT, SOD, GSH-Px artmıştır, LA belirgin şekilde antioksidan etkinlik göstermiştir. Bu artış MP ve LA+MP daha fazla olmuştur.
9. MDA değerleri esas alındığında tedavi gruplarında serum ve BOS gibi sistemik kompartmanda olumlu etkiler görülmüşse, LA dışındaki tedavi gruplarında olumsuz yönde artış izlenmiştir. Anti oksidan enzimler özellikle LA uygulandığında doku, serum ve BOS'da artış göstermiştir. LA uygulanması ile MDA değerlerinin artışı anlamlı değildir.
10. Çalışmamızın hiçbir grubunda spinal kord dokusunda nekroz izlenmemiştir.

11. LA uygulanan grupta hemoraji belirgin azalmıştır. Bu grupta MİH inflamasyonu, MP ye göre daha olumlu sonuçlar göstermiştir.
12. Ödem MP uygulanması ile belirgin azalmıştır. Diğer tedavi gruplarında İ/R grubundan farklılık izlenmemiştir.
13. MP uygulamasının NO değerlerinde daha çok azalmaya neden olarak oksidatif stresi de baskılayabileceği görülmüştür.
14. Nöronal viabilite LA veya MP uygulandığında anlamlı artış görülmüştür. Ancak kombine edildiğinde olumsuz etki görülmüş ve tedavi uygulanmayan gruptan dahada değer azalması tespit edilmiştir.
15. LA uygulanması doku örneklerinde MP ve LA+MP ye göre antioksidan etkinliği anlamlı şekilde arttırmıştır. Ancak oksidatif stresi azalttığı çalışmamızda kanıtlanamamıştır.

7.ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ

Omurilik yaralanmasında birincil zedelenme travma anında olan zedelenmedir. İkincil zedelenme ise oluşan birincil zedelenmenin başlattığı saatler içerisinde gelişen, metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasarlardır. İkincil zedelenme mekanizmaları arasında yer alan iki faktör serbest radikaller ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır.

Bu çalışmada, tavşanda iskemi-reperfüzyon modeli kullanılarak, daha önce farklı çalışmalarda nöroprotektif etkisi çalışılmış olan alfa lipoik asit ve metilprednizolonun koruyucu etkileri araştırıldı.

Benzer amaçtaki çalışmalarda sıklıkla tercih edilen, abdominal aortaya kros-klemp uygulaması örnek alınıp, omurilikte meydana gelecek iskemi-reperfüzyon hasarı değerlendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

35 adet yeni zellanda tipi tavşan randomize olarak 5 adet gruba ayrıldı, Sham (n=7), iskemi-reperfüzyon (n=7), alfalipoik asit(LA), (n=7), metilprednizolon(MP) (n=7), ve alfalipoik asit ile birlikte metilprednizolon(LA+MP) (n=7), tedavi gruplarıydı. Sham grubu sadece abdominal cerrahiye maruz kalırken, diğer gruplardaki deneklere 30 dakika süresince aortik kros-klemp uygulaması sonrası reperfüzyon sağlandı.3.gruba 100 mgr/kg LA, 4.gruba 30 mgr/kg MP, 5.gruba 100 mgr/kg LA, ve 30 mgr/kg MP intraperitoneal olarak verildi. 1., 12., 24., 48. saatlerde nörolojik muayeneleri Tarlov skalası ile takip edildi ve 48. saatin sonunda denekler doku, BOS ve kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi.

Etkileri değerlendirmek için, serum ve BOS örneklerinde, malonildialdehit (MDA), nitrik oksid (NO), omurilik doku örneklerinde MDA, NO, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksid dizmutaz (SOD), katalaz (CAT) düzeyleri biyokimyasal olarak çalışıldı. Omurilik doku örneklerinden ayrıca histopatolojik

değerlendirme yapıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak hesaplanıp, gruplar arasında mukayese edildi.

BULGULAR:

Çalışmamızda spinal kord doku örnekleri biyokimyasal analizinde İ/R grubunda MDA değerleri anlamlı artış gösterdi ($p=0,002$). NO değerlerinde fark anlamlı değildi. Tedavi ile MDA değerleri arttı. Bu artış LA grubunda anlamlı değilken MP ve LA MP grubunda anlamlıydı.

Doku örneklerinde LA tedavisi ile İ/R grubuna göre antioksidan enzimler SOD ($p=0,002$); GSH-Px ($p=0,002$), CAT ($p=0,049$) anlamlı şekilde arttı ancak MDA değerlerinde İ/R grubuna göre fark bulunamadı, MP ve LA+MP tedavisi ile Doku MDA değerleri İ/R grubuna göre anlamlı ($p=0,004, p=0,002$) arttı, NO seviyeleri tedavi gruplarında İ/R grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p=0,016, p=0,003, p=0,015$)

Histopatolojik nöronal viabilite İ/R grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p=0,001$) LA ve MP ayrı ayrı uygulanması ile elde edilen değerler İ/R grubuna göre anlamlı artış gösterdi ($p=0,001, p=0,001$). LA+MP uygulanması ile İ/R grubu arasında anlamlı değişiklik izlenmedi.

Nörolojik fonksiyon incelendiğinde İ/R grubu ile tedavi grupları arasında anlamlı farklılık izlenmedi.

SONUÇ:

LA veya MP uygulanması ile spinal kord da antioksidan etkinlik gösterildi, oksidatif stresi azalttığı kanıtlanamadı, histopatolojik olarak LA veya MP uygulanması ile spinal kord dokusunun korunduğuna yönelik anlamlı etkiler görüldü. Nörofonksiyonel olarak tedavi gruplarının faydası gösterilemedi.

8.SUMMARY

Primary spinal cord injury is defined as the injury occurring at the time of the trauma. The metabolic and biochemical processes lead to the secondary trauma in the following hours after the primary trauma. Free radicals and ischemic reperfusion injury are two factors which play role in secondary injury.

In this study we searched the protective effect of alpha lipoic acid and methylprednisolone, where their neuro-protective effects were earlier studied by different writers, by using the ischemy-reperfusion model in rabbits.

Ischemy-reperfusion injury on spinal cord is assessed with abdominal aorta cross-clamping procedure which is generally preferred in the same type of studies.

MATERIALS AND METHODS

35 new zealand rabbits were randomized into five groups. Group 1; Sham(n=7), group 2; ischemy-reperfusion(n=7), group 3; alpha lipoic acid treatment (n=7) group 4; methylprednisolone treatment and group 5; alpha lipoic acid and methylprednisolone treatment. Although group 1 was experienced with only abdominal surgery, subjects in other groups were experienced with abdominal aorta cross – clamping for 30 minutes and then reperfusion was supplied. 100 mgr /kg LA for group 3, 30 mgr/kg MP for group 4, 100 mgr/kg LA and 30 mgr/kg MP for group 5 was intraperitoneally administered. Neurologic examination with tarlov scale was done at 1th, 12th, 24th and 48th hours and subjects were sacrificed at the end of 48. hour after tissue, cerebrospinal fluid (CSF) and blood sample were obtained.

To evaluate the effects; biochemical examination of malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels in plasma and CSF; malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), glutathione peroxidase (GSH-px), catalase (CAT) and super oxide dismutase (SOD) levels in tissue samples were assessed. Spinal tissue samples were also assessed histopathologically. Results were calculated statistically and compared between the groups.

DIAGNOSES:

With the biochemical analyse of spinal cord tissue samples ,MDA levels in I/R group were significantly increased($p=0,002$). NO levels weren't meaningful.MDA levels were increased with the treatment.This increasement wasn't meaningful in LA group ,but meaningful in MP and MP-LA groups.

After LA treatment ; antioxidant enzymes SOD($p=0,002$),GSH-Px($p=0,002$),CAT($p=0,049$) were increased meaningfully considering I/R group,but MDA levels weren't different meaningfully considering I/R group.After MP and MP-LA treatment tissue MDA levels were meaningfully increased considering I/R group($p=0,004$, $p=0,002$).In all treatment groups NO levels were meaningfully decreased considering I/R group($p=0,016$, $p=0,003$, $p=0,015$)

In I/R group histopathological neuronal viability decreased meaningfully considering sham group($p=0,001$),the values obtained by separte administration of LA and MP ; showed meaningfully increasement considering I/R group($p=0,001$, $p=0,001$). Administration of LA and MP together didn't show any differance considering I/R group.

No meaningful difference was observed in neurological function between treatment groups and I/R group.

RESULT:

Antioxidant efficiency on spinal cord is shown by administration of LA or MP, but decreasing oxidative stress wasn't proven.Histopathologically, meaningful effects for protection of spinal cord tissue were observed by administration of LA or MP. No benefits neurofunctionally were observed in any treatment groups.

9. KAYNAKLAR

1. Snell RS Sinir sistemine giriş ve yapılanması. Snell RS,MD,Ph.D. Klinik Nöroanatomi. Çeviri Ed.: Yıldırım M. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri-2000 ;3-47.
2. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. Clin.Neuropharmacology 2001; 24 (5): 265-279
3. Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanmasının patofizyolojisi. Ed Kofralı E, Zileli M. Temel nöroşirurji cilt 2, türk nöroşirurji derneği yayınları Ankara 2010; 118:1623-1636.
4. Li M, Ona VO, Chen M, et al: Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. Neuroscience. , 2000;99: 333-342.
5. Kirshblum S:Rehabilitation of spinal cord injury. In: Delisa JA, Gans BM, (Eds). Physical Medicine and Rehabilitation: Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005; 1715-1751.
6. Zileli M. Torakolomber travmalar Omurilik ve Omurga Cerrahisi Ed. M. Zileli ve A.Fahir Özer, 2.baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir. 2002;925-944.
7. Wan IY, Angelini GD, Brayn AJ, Ryder I, Underwood NJ. Prevention of spinal cord ischemia during descending thoracic and thoracoabdominal aortic surgery. European J Cardio- Thorac Surg 2001; 19:203-13.
8. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. Surg Clin North Am 1992; 72: 65-83.
9. Şenel A, Kaya AH Omurilik Yaralanmasında Farmakolojik Tedavi. Ed Kofralı E, Zileli M. Temel nöroşirurji cilt 2, türk nöroşirurji derneği yayınları Ankara , 119:1637-1642, 2010
10. Tator CH: Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. J Neurosurg. 1991;75: 15-26.

11. Hall ED, Wolf DL, M.S: A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg.* 1986; 64:951-961.
12. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine Journal.* 2004; 4(4):451-464.
13. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al. A randomised, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990; 322:1405-1411.
14. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, et al. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1 year follow up. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J Neurosurg* 1998; 89: 699-706.
15. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137:1-53.
16. Biewenga GP, Haenen GR, Bast A: The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol.*1997; 29 (3): 315-317.
17. Buyukkinaci S, Ofluoğlu E, Toplamaoğlu H. Spinal Kord Tarihi Sinir Sistemi Cerrahisi Derg. 2008; 1: 67-72.
18. Derene J-Ph, Debru A, Grassino AE, Whitelaw WA. History of diaphragm physiology: the achievements of Galen. *Eur Respir J.*1995; 8:154-60.
19. Sonntag VKH. History of spinal disorders. In: Menezes AH and Sonntag VKH Ed.s: *Principles of spinal surgery.* Mc Graw-Hill, New York. 1996; p.3-23.
20. Naderi S, Ture U, Pait TG. History of the spinal cord localization. *Neurosurg Focus.* 2004; 16:15.
21. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine.* 2002; 27(14):1504-1510.
22. Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine.* 2003; 28(13):1481-1484.

23. Zileli M, Gülmen V. Deneysel omurilik yaralanması. Omurilik ve Omurga Cerrahisi Ed. M. Zileli ve A.Fahir Özer, 2.baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir. 2002; 951-956.
24. Netter FH: Embriyoloji, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders. 2007; pp: 130-147.
25. Çavdar S. Omurga ve Omurilik Anatomisi ve Embriyolojisi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi Ed. M. Zileli ve A.Fahir Özer, 2.baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir. 2002; 15-42.
26. Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918, Newyork Bartleby. com. 2000.
27. Netter FH: Beyin ve omurlığın anatomisi, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders. 2007; 36-66.
28. Snell RS: Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomisi, Çev Ed. Yıldırım M Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, İstanbul, 2000; 157-177.
29. Arslantaş D, Özbek Z: Travmatik Omurilik Yaralanmaları Epidemiyolojisi. Omurga Travmalarında Tedavi Prensipleri Ed: Şenel A, Çaylı. Türk Nöroşirurji Derneği Spinal ve Periferik Sinir Cerrahisi Öğretim ve Eğitim Grubu yayınları No:11, Ankara, 2011, s:1-10
30. Bryce TN, Ragnarsson KT, Stein AB. Spinal cord injury. Ed. Braddom RL Physical Medicine and Rehabilitation. WB Saunders Company. 2007;1285-1349.
31. Wen-Ta C, et al: Epidemiology of Traumatic Spinal Cord Injury: Comparisons Between Developed and Developing Countries. Asia-Pacific Journal Of Public Health. 2010; 22:9-18.
32. DeVivo MJ, Krause JS, Lammertse DP. Recent trends in mortality and causes of death among persons with spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil 1999; 80(11):1411-1419.
33. Fehlings MG, Sekhon LH, Tator CH: The role and timing of decompression in acute spinal cord injury. Spine. 2001; 26: 101-110.

34. Kaptanoğlu E, Charles H, Tator CH: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.baskı, Meta basım, Bornova, İzmir, 2002; 813-832.
35. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J: Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. Clin. Neuropharmacology. , 2001; 24 (5): 254-264.
36. Büket S, Yağdı T. Distal aort Cerrahisi Sırasında Spinal kord Korunması. İstanbul: Yüce Reklam/Yayım/Dağıtım Ağ. 2003; 65-132.
37. Mutch WA, Graham MR, Halliday WC, Thiessen DB, Girling LG. Use of neuroanesthesia adjuncts (hyperventilation and mannitol administration) improves neurological outcome after thoracic aortic cross-clamping in dogs. Stroke. 1993; 24:1204-1210.
38. İplikçioglu C: Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.Baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 2002; 459-465.
39. Kale A: Deneysel spinal kord iskemi reperfüzyon yaralanmasında Gabapentinin etkileri. Doktora tezi Dn. Doğulu F. G.Ü.T.F Beyin Sinir Cerrahi AD. Ankara 2007.
40. Svensson L.G, Crawford E.S: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations, and statistical analyses. Current Problems in Surgery. Part-I:819-89, 1992.
41. With Jianping S: Ischemia, reperfusion, and no-reflow phenomenon.In:Svensson L.G, Crawford E.S, eds. Cardiovascular and vascular disease of the aorta. U.S.A. W.B. Saunders Company. 1997;194-218.
42. Krause G.S, White B.C, Aust S.D, et al: Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. Critical Care Med. 1988; 16:714-26.
43. Choi D: Antagonizing excitotoxicity: a therapeutic strategy for stroke? Mt Sinai J Med. 1998; 65:133-138.
44. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM: Principles of biochemistry, New York, Worth Publishers Inc. ed2. 1993; 268-97.
45. Siesjö BK: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. J Neurosurg. 1992; 77:169-84.

46. Symon L: The scientific basis of cerebral infarction. in: Suzuki J. Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke, Sendai, Springer-Verlag Press. 1987; 237-9.
47. Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG: Role of L-and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience*. 2000; 99:179-188.
48. Siesjö BK, Memezawa H, Smith ML: Neurocytotoxicity: pharmacological implications. *Fundam Clin Pharmacol*. 1991; 5:755-767.
49. Siesjö BK, Smith ML: The biochemical basis of ischemic brain lesions. *Arzneim.-Forsch/ Drug Res*. 1991; 41:288-292.
50. Hollier LH: Protecting the brain and spinal cord. *J Vasc Surg*. 1987; 5:524-528.
51. Kirshner DL, Kirshner RL, Heggeness LM, De-Weese JA: Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion. *J Vasc Surg*. 1989; 9:305-308.
52. McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (Hemocuprein). *J Biol Chem*. 1969; 244:6049-6055.
53. Plaa GL, Witschi H: Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Ann Rev Pharmacol*. 1976; 26:203-217.
54. Majewska MD, Strosznajder J, Lazarewicz J: Effect of ischemia, anoxia and barbiturate anesthesia on free radical oxidation of mitochondrial phospholipids. *Brain Res*. 1978; 158:423-434.
55. Michael C.M, Lorne H.B, Scott E.L, et al: Prevention spinal cord injury after repair of the thoracic or thoracoabdominal aorta. *Annals of Thoracic Surgery*. 1995; 59:245-252.
56. Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, Rodzen C, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB: Vasodilating prostalands attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann Surg*. , 1989; Vol 209: 219.
57. Ueda Y, Matsuo K, Kamei T, Ono H, Kayashima K, Tobimatsu M, Konomi K. Prostaglandin E₁ but not E₂ is cytoprotective of energy metabolism and reticuloendothelial function in the ischemic canine liver. *Trans Proc*. 1987; 19:1329-1330.

58. Sundberg R, Lindell S, Jamieson NV, Southard JH, Beizer FO. Preservation of rabbit livers by continuous hypothermic perfusion after donor pretreatment with chlorpromazine and methylprednisolone. *Trans Proc.* 1987; 20:998.
59. Jeffrey A. H, Scott E.L, Irving L.K, et al: Complete prevention of postischemic spinal cord injury by means of regional infusion with hypothermic saline and adenosine. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.*1994; 107:536-542.
60. Qayumi A.K, Michael T.J, Katerina D, et al: Additive effect of allopurinol and deferoxamine in the prevention of spinal cord injury caused by aortic crossclamping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 1994; 107:1203-1209.
61. Moore W.M Jr, Hollier L.H: The influence of severity of spinal cord ischemia in the etiology of delayed-onset paraplegia. *Annals of Surgery.* 1991; 213:427-431.
62. Özdemir M, Attar A: Omurilik Yaralanmaları ve Tedavi Prensipleri. Omurga Travmalarında Tedavi Prensipleri Ed: Şenel A, Çaylı. Türk Nöroşirurji Derneği Spinal ve Periferik Sinir Cerrahisi Öğretim ve Eğitim Grubu yayınları No:11, Ankara, 2011; 285-290.
63. Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx.* 2004;1:80-100.
64. Ducker TB, Zeidman SM. Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* 1994;19:2281-7.) (Faden AI. Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol.* 1997; 72:377-386.
65. Young W. Molecular mechanisms of spinal cord injury therapies. In: Kalb RG, Strimatter SM, editors. *Neurobiology of spinal cord injury.* Totowa: Humana Pres; 2000; 241-276.
66. Braughler JM. Lipid peroxidation-induced inhibition of gamma-aminobutyric acid uptake in rat brain synaptosomes: protection by glucocorticoids. *J Neurochem* 1985; 44:1282-1288.
67. Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998; 56:341-358.

68. Hall ED, Braughler JM. Glucocorticoid mechanisms in acute spinal cord injury: a review and therapeutic rationale. 92 Nisan - April 2007 Surg Neurol 1982; 18:320-327.
69. Bracken MB, Collins WF, Freeman DF et al Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury. JAMA.1984; 1: 45–52.
70. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. Neurochirurgie 1991; 37:291-302.
71. Kerimoğlu M, Hancı V, Kerimoğlu A. Spinal hasarlanmalar. ikincil hücrel hasar fizyopatolojisi ve tedaviye etkisi. Sendrom. 2006;18:26-32.
72. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. GM-1 ganglioside in human spinal cord injury. J Neurotrauma. 1992; 9:517- 530.
73. Tatlı M, Güzel A, Okten Aİ: Omurilik Yaralanmalarının Medikal Tedavisi C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 27 (4):165–172.
74. Svensson LG, Crawford ES, Hess KR. Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. Journal of Vascular Surgery. , 1993; 17:357-370.
75. Livesay J.J, Cooley D.A, Ventemiglia R.A: Surgical experience in descending thoracic aneurysmectomy with and without adjuncts to avoid ischemia. Annals of Thoracic Surgery. 1995; 39:37-46.
76. Katz N.M, Blacstone E.H, Kirklin J.W: Incremental risk factors for spinal cord injury following operation for acute traumatic aortic transection. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 1981; 81:669-674.
77. Hollier L.H, Symmonds J.B, Pairolero P.C: Thoracoabdominal aortic aneurysm repair: analysis of postoperative morbidity. Arch Surgery. 1988; 123:871-875.
78. Sun J, Hirsh D, Svensson G. Spinal cord protection by papaverine and intrathecal cooling during aortic crossclamping. J Cardiovascular Surgery. 1998; 39:839-842.
79. Gangemi JJ, Kern JA, Ross SD, et al. Retrograde perfusion with a sodium channel antagonist provides ischemic spinal cord protection. Ann Thorac Surg. 2000; 69:1744-1749.
80. Ross SD, Kern JA, Gangemi JJ, Laurent CR, et al. Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cool the spinal cord and reduces the risk

- of paraplegia after thoracic aortic clamping. J Thorac Cardiovasc Surg. 2000; 119:588-95.
81. Aşkın Ender Topal, Ayşe Yıldırım, Özlem Pamukçu, Gönül Ölmez. Aort Cerrahisinde Fenitoin ile Spinal Kord Korunması. Dicle Tıp Dergisi. 2004; 31: 7-14.
82. Omurilik Yaralanmasında Farmakolojik Tedavi. Omurilik ve Omurga Cerrahisi 2. Baskı, Cilt 1, Ed. Zileli M, Özer AF. İzmir, 2002; 833-839.
83. Chan P.H, Longar S, Fishman R.A: Protective effects of liposom entrapped superoxide dismutase on post-traumatic brain edema. Ann Neurol. 1987; 21:540-547.
84. Lankin V. Z. : The Enzymatic systems in the regulation of free radical lipid peroxidation. Free radicals, Nitric Oxide, and Inflammation: Molecular, biochemical, and clinical aspects. NATO Science Series.2003; 344:8-23.
85. Sözmen Y. E. :Yaşlanma Biyokimyası. Ed: Onat T. , Emerk K. , Sözmen Y. E. , İnsan Biyokimyası.Palme Yayıncılık, Ankara, 2002; 665-674.
86. Dormandy T. L. : An approach to free radicals. Lancet. 1983; 29:1010-1014.
87. Uysal M. : Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan –antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. Klinik Gelişim. 1998; 11:336-341.
88. Pryor W. A. : Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. Ann Rev Physiol.1986; 48:657-667.
89. Duke J. B. : The biology of oxygen radicals. Science.1978; 201:875-880.
90. Slater F. T. : Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. Meth. Enzymol. 1984; 105: 283-293
91. Halliwell B. , Gutteridge J. M. : Free radicals in Biology and Medicine., Third edition, Oxford University Press, New York. , 1999; 36-225
92. Van Dyke K. , Castronova V. , et all : Cellular Chemiluminescence. London: CRC pres, 1987; 1-67.
93. Allen R. C. , Loose L. D. : Phagocytic activation of a luminol dependent chemiluminescence in rabbit alveolar and peritoneal macrophages. Biochem Biophys Commun.1976; 69:245-253.

94. Wilson M. E. , Trush M. A. , Van Dayke K. , Kyle J. M. , Mullet M. D. , Neal W. A. : Luminol-dependent chemiluminescence analysis of opsonophagocytic dysfunctions. *J Immunol Methods.* , 1978; 23:315-323
95. Hallivell B. , Gutteridge J. M. : The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* Jul. 1990; 280(1):1-8.
96. Carreau JP. Biosynthesis of lipoic acid via unsaturated fatty acids. *Methods Enzymol.* 1979; 62:152-158.
97. Akkus i. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, 1. Baskı. Konya 1995; 1-84.
98. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksid dismutaz. *Biyokimya Dergisi.* 1986; 3: 59-76.
99. Seven A, Candan G. Antioksidant defense systems. *Cerrahpasa J Med.* 1996; 27: 41-50.
100. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology Medicine.* 2001; 31: 1287-1312.
101. Sorg O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *C R Biologies.* 2004; 327: 649-662.
102. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a prooxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999; 13: 1007-1024.
103. Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2001; 385: 20-27.
104. Ghibu S, Lauzier B, Delemasure S, Amoureux S, Sicard P, Vergely C, Muresan A, Mogosan C, Rochette L. Antioxidant properties of alpha-lipoic acid: effects on red blood membrane permeability and adaptation of isolated rat heart to reversible ischemia. *Mol Cell Biochem.* 2009; 320: 141–148.
105. Kramer K, Packer L. : R-alpha-lipoic acid. In: Kramer K, Hoppe P, Packer L, eds. *Nutraceuticals in Health and Disease Prevention.* New York: Marcel Dekker, Inc. 2001; 129-164.
106. Cicchillo R. M. , Iwig D. F. , Jones A. D., et al. : Lipoyl synthase requires two equivalents of S-adenosyl-L-methionine to synthesize one equivalent of lipoic acid. *Biochemistry.* 2004; 43(21):6378-6386.

- 107.Jiang Y, Gong D, Liu H, Yang C, Sun Z, Kong C. Ability of alpha-lipoic acid to reverse the diabetic cystopathy in a rat model. *Acta Pharmacol Sin*. 2008; 29(6): 713-719.
- 108.Zhao X. , Miller J. R. , Jiang Y. , Marletta M. A. , Cronan J. E. : Assembly of the covalent linkage between lipoic acid and its cognate enzymes. *Chem Biol*. 2003; 10(12):1293-1302.
- 109.Cicchillo R. M. , Booker S. J. : Mechanistic investigations of lipoic acid biosynthesis in *Escherichia coli*: both sulfur atoms in lipoic acid are contributed by the same lipoyl synthase polypeptide. *J Am Chem Soc*. 2005; 127(9):2860-2861.
- 110.Miller J. R. , Busby R. W. , Jordan S. W. , et al. : *Escherichia coli* LipA is a lipoyl synthase: in vitro biosynthesis of lipoylated pyruvate dehydrogenase complex from octanoyl-acyl carrier protein. *Biochemistry*. , 2000; 239(49):15166-15178.
- 111.Bustamante J. , Lodge J. K. , Marcocci L. , Tritschler H. J. , Packer L. , Rihn B. H. : Alpha-lipoic acid in liver metabolism and disease. *Free Radic Biol Med*. 1998; 24(6):1023-1039.
- 112.Harris R. A. , Joshi M. , Jeoung N. H. , Obayashi M. : Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism. *J Nutr*. 2005; 135:1527-1530.
- 113.Jones W. , Li X. , Qu Z. C. , Perriott L. , Whitesell R. R. , May J. M. : Uptake, recycling, and antioxidant actions of alpha-lipoic acid in endothelial cells. *Free Radic Biol Med*. 2002; 33(1):83-93.
- 114.Horramaki N. , Han D. , Handelman G. J. , Tritschler H. J. , Packer L. : Cytosolic and mitochondrial systems for NADH- and NADPH- dependent reduction of LA. *Free Rad Biol Med*. 1997; 22: 535-542.
- 115.Devasagayam T. P. A. , Mascia P. D. , Kaiser S. , Sies H. : Singlet oxygen induced single-strand breaks in plasmid pBR322 DNA: The enhancing effect of thiols. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1088: 409-412.
- 116.Pryor W. A. , Squadrito G. L. : The chemistry of peroxynitrite: Product from reaction of Nitric oxide with superoxide. *Am. J. Physiol* 1995 ; 267 : 699-722.

- 117.Constantinescu A. , Tritschler H. , Packer L. : LA protects against hemolysis of human erythrocyte induced by peroxy radicals. *Biochem Mol Biol Int.* 1994; 33: 669-676.
- 118.Renu A. Kowluru and Pooi-See Chan : Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy. *Experimental Diabetes Research* Volume 2007, Article ID 4360.
- 119.Cremer DR, Rabeler R, Roberts A, Lynch B.. Safety evaluation of α -lipoic acid (ALA). *Regul Toxicol Pharmacol.* 2006; 46: 29–41
- 120.Kurtoğlu B, Yörükoğlu K, Sevinç M, Kırkalı Z. İnterstisyel sistitin patogenezi üzerine histokimyasal ve immunohistokimyasal bir çalışma. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi.* 1998; 5(2,3): 126-132.
- 121.Baur A, Harrer T, Peukert M, Jahn G, Kalden JR, Fleckenstein B. Alphalipoic acid is an effective inhibitor of human immuno-deficiency virus (HIV-1) replication. *Klin Wochenschr.* 1991; 69: 722-724.
- 122.Ö. Tetik, F. İslamoğlu, T. Yağdi, Y. Atay, T. Calkavur, C. Özbek, L. Canpolat, S. Buket and M. Vüksel An Intraaortic Solution Trial to Prevent Spinal Cord Injury in a Rabbit Model *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2001; 22, 175–179.
- 123.Hammouda A el-R, Khalil MM and Salem A. Lipit peroxidation products in pleural fluid for seperation of transudates and exudates, *Clin Chem* 1995;41:1314-1315.
- 124.Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;36:1440-1443.
- 125.Sun Y, Oberley LW and Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin Chem* 1988;34:497-500.
- 126.Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.
- 127.Aebi H. Catalase in vitro. *Enzymol.* 1984; 105:121-126.
- 128.Hauet T, Mothes D, Goujon J-M, Caritez JC, Carretier M, Le Moyec L, Eugene M, Tillement J-P. Trimetazidine prevents renal injury in the

isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia. Transplantation 1997; 64:1082-1086.

- 129.Cassada DC, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Linden J, Rieger JM, Rosin D, Kron IL, Kern JA. Adenosine A2A agonist reduces paralysis after spinal cord ischemia: correlation with A2A receptor expression on motor neurons. Ann Thorac Surg 2002; 74: 838-44.
- 130.Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM. Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. Adv Neurol 1993; 59:75–89.
- 131.Guerit JM, Verhelst R, Rubay J, Khoury G, Matta A, Dion R. Multilevel somatosensory evoked potentials (SEPs) for spinal cord monitoring in descending thoracic and thoraco-abdominal aortic surgery. Eur J Cardiothorac Surg 1996; 10:93-103.
- 132.Svensson LG, Von Ritter CM, Groeneveld HT, Rickards ES, Hunter SJ, Robinson MF, 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.
- 133.Svensson, L.G., Rickards, E., Coull, A., Rogers, G., Fimmel, C.J., Hinder, R.A., Relationship of spinal cord blood flow to vascular anatomy during thoracic aortic cross-clamping and shunting. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1986; 91:71– 78.
- 134.Crawford E.S, Coselli J.S, Hazim J. S: Thoracoabdominal aortic aneurysm. In: Rutherford R.B, eds. Vascular Surgery third ed. U.S.A: Saunders Company. 1989; 927-942.
- 135.Scott D.Ross, John A. Kern, James J. Gangemi et al: Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cools the spinal cord and reduces the risk of paraplegia after thoracic aortic clamping. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 2000; 119:588-595.

136. Caparrelli DJ, Cattaneo SM 2nd, Bethea BT, et al: Pharmacological preconditioning ameliorates neurological injury in a model of spinal cord ischemia. *Ann Thorac Surg.* 2002; 74:838–844.
137. Lee CJ, Kim KW, Lee HM, et al: The effect of thalidomide on spinal cord ischemia/reperfusion injury in a rabbit model. *Spinal Cord.* 2007;45:149–157.
138. Faden AI. Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol.* 1997;72:377-86.
139. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF et al. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1-year follow up data. Results of the second national acute spinal cord injury study. *J Neurosurg.* 1992; 76: 23–31.
140. Daneyemez M. Silicone after treatment with methylprednisolone and vitamin E in rats. *Spine* 1999;24:2201-5
141. Xiong M, Chen S, Yu H, Liu Z, Zeng Y, Li F. Neuroprotection of erythropoietin and methylprednisolone against spinal cord ischemia-reperfusion injury. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2011; 5:652-656.
142. Packer L: α -Lipoic acid; metabolic antioxidant which regulates NF-KB signal transduction and protects against oxidative injury. *Drug Metab Rev.* 1998; 30 (2): 245-275
143. Cameron NE, Cotter MA, Horrobin DH, Tritschler HJ: Effects of α -lipoic acid on neurovascular function in diabetic rats: interaction with essential fatty acids. *Diabetologia.* 1998; 41: 390-399.
144. Kozlov AV, Gille L, Stanick K, Nohl H: Dihydrolipoic acid maintains ubiquinone in the antioxidant active form, by two electron reduction of ubiquinone and one electron reduction of ubisemiquinone. *Arch Biochem Biophys.* 1999; 363:148-154.
145. Emmez H, Yildirim Z, Kale A, Töngge M, Durdağ E, Börcek AO, Uçankuş LN, Doğulu F, Kiliç N, Baykaner MK. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of α -lipoic acid on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rabbits. *Acta Neurochir (Wien).* 2010; 152(9):1591-1600.

146. Shaafi S, Afrooz MR, Hajipour B, Dadadshi A, Hosseini MM, Khodadadi A. Anti-oxidative effect of lipoic Acid in spinal cord ischemia/reperfusion. *Med Princ Pract* 2011; 20:19–22.
147. Frenkel K. Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. *Pharmac Ther*. 1992; 53:127-166.
148. Habib S, Ali A. Biochemistry of Nitric Oxide. *Ind J Clin Biochem*. 2011; 26(1):3–17.
149. Gaviria M, Privat A, d'Arbigny P, Kamenka J, Haton H, Ohanna F. Neuroprotective effects of a novel NMDA antagonist, Gacyclidine, after experimental contusive spinal cord injury in adult rats. *Brain Res*. 2000;874:200-209.
150. Li S, Tator CH. Effects of MK801 on evoked potentials, spinal cord blood flow and cord edema in acute spinal cord injury in rats. *Spinal Cord*. 1999;37:820-832.
151. Saunders RD, Dugan LL, Demediuk P, Means ED, Horrocks LA, Anderson DK. Effects of methylprednisolone and the combination of alpha-tocopherol and selenium on arachidonic acid metabolism and lipid peroxidation in traumatized spinal cord tissue. *J Neurochem* 1987;49:24-31.