

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASINDA
GABAPENTİN'İN NÖROPROTEKTİF
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. GÜNDÜZ KADİR İSTAN

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2010

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASINDA
GABAPENTİN'İN NÖROPROTEKTİF
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÜNDÜZ KADİR İSTAN

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2009kb060 sayı ile desteklenmiştir

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemedi doktorluk sanatının inceliklerini bana öğreten, başta tez danışmanım Prof.Dr.SERHAT ERBAYRAKTAR olmak üzere değerli hocalarım Prof.Dr.Ümit ACAR, Prof.Dr.Metin GÜNER ve Prof.Dr.Nuri ARDA'ya, mesleki gelişimimdeki katkılarının yanında bir ağabey olarak desteklerini hep hissettiğim Prof.Dr.Kemal YÜCESOY, Doç.Dr.Ercan ÖZER ve Op.Dr. Orhan KALEMCİ'ye, asistanlık hayatım boyunca uykusuz geceleri paylaştığım, dosttan öte ailem gibi hissettiğim,Dr. Birol BAYRAKTAR ve Dr.Ceren KIZMAZOĞLU başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.'dan Prof.Dr.Necati GÖKMEN'e, Histoloji A.D.'da Doç.Dr.Alper BAĞRIYANIK'a,Fizyoloji A.D.'Öğr.Gör.Dr.Müge Kıray'a,Moleküler Tıp A.D, Yard.Doç.Dr. Zübeyde ERBAYRAKTAR'a ,ameliyatta geçen günlerimde güleryüzleri ve çalışkanlıkları ile hayatı bizler için kolaylaştıran, dostlarım, ameliyathane hemşirelerimiz Sema AKIN, Evrim GÖLÜNÇ ve Sevgi DENİZ'e, her zaman yanımdaki Hüseyin VARLI'ya ameliyathane personelimiz Erol GÜRDAL başta olmak üzere tüm ameliyathane çalışanlarına, servisteki hastalarımıza büyük bir özveri ile bakan servis sorumlu hemşiremiz Şirin AKYIL başta olmak üzere, tüm servis hemşireleri ve personellerine, anabilim dalı sekreterimiz Şule UYANIKER'e ve hayatımın her anında desteklerini ve sevgilerini yanımda hissettiğim eşim Kübra İSTAN'a ve tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Gündüz Kadir İSTAN

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
1- OMURİLİK TRAVMASININ TARİHÇESİ	2
2- OMURİLİK TRAVMASI İLE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR	4
3- OMURİLİK YARALANMALARINDA HASAR MEKANİZMALARI	8
3.1- PRİMER HASAR MEKANİZMALARI.....	8
3.2- SEKONDER HASAR MEKANİZMALARI.....	9
3.2.1. Sistemik Etkiler.....	14
3.2.2. Lokal Vasküler Etkiler ve Spinal İskemi.....	14
3.2.3. Biyokimyasal Etkiler.....	15
3.2.4. Elektrolit Dengesizlikleri.....	17
3.2.5. Serbest Radikal Oluşumu ve Lipid Peroksidasyonu.....	19
3.2.6. Ödem.....	21
3.2.7. Apoptoz	21
3.2.8. İnflamasyon	22
4- SPİNAL KORD HASARININ PATOLOJİSİ	24
4.1- AKUT DÖNEMİ	25
4.1.1.Makroskopik Görünüm	25
4.1.2.Mikroskopik Görünüm.....	25
4.2.SUBAKUT DÖNEM	26
4.3.KRONİK DÖNEM	27
5-İNSAN SPİNAL KORD YARALANMASIYLA DENEYSEL MODELLER	
ARASINDAKİ BENZERLİKLERİ VE FARKLILIKLARI	28
6- SPİNAL KORD YARALANMASINDA MODERN FARMAKOLOJİK	
YAKLAŞIMLAR	30
6.1- Kortikosteroidler	32
6.2-Gangliozidler	33
6.3-Aminosteroidler (Lazoroidler)	34
6.4-Opioid Reseptör Antagonistleri	35
6.5-Eksitatör Aminoasit Antagonistleri.....	35

6.6-Kalsiyum Kanal Blokörleri	36
6.7-Sodyum Kanal Blokörleri ve Magnezyum	36
6.8- Potasyum Kanal Blokerleri	37
6.9-Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar	37
6.10-Antiinflamatuvar Ajanlar	38
6.11-Nörotransmitter Reseptör Antagonistleri	38
6.12-Nörotrofik Faktörler	38
6.13-Spinal Kord Onarımı ve Hücrel Transplantasyon	39
6.14-Nötralizan Antikorlar	39
6.15-Melatonin	40
6.16-Hipotermi	40
6.17- Hiperbarik Oksijen	40
6.18. Diğer Tedavi Denemeleri	40
7- GABAPENTİN	42
7.1-FARMAKODİNAMİK ÖZELLİKLERİ	42
7.2-FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ	43
7.3-ENDİKASYONLARI	44
7.4-KONTRENDİKASYONLAR	44
7.5-UYARILAR/ÖNLEMLER	44
7.6-YAN ETKİLER	44
7.7-LABORATUVAR BULGULARI	45
7.8-İLAÇ ETKİLEŞİMLERİ VE DİĞER ETKİLEŞİMLER	45
7.9-DOZ AŞIMI	45
7.10-GABAPENTİNİN ETKİ MEKANİZMALARI VE NÖROPROTEKTİF ETKİSİ	45
7.11. DENEY HAYVANLARINDA GABAPENTİNİN FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ	48

GEREÇ VE YÖNTEMLER	49
1- KULLANILAN DENEKLERİN BAKIM YERİ VE KOŞULLARI	49
2- KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR	49
3- ANESTEZİ	49
4- DENEY GRUPLARI	50
5- CERRAHİ İŞLEM.....	50
6- DENEY HAYVANLARININ POSTOPERATİF İZLEMLERİ.....	54
6.1- DENEY HAYVANLARININ SAKRİFİKASYONU.....	54
7- DAVRANIŞ TESTİ VE FONKSİYONEL İYİLEŞMENİN DEĞERLENDİRİLMESİ	57
7.1- INCLİNED PLANE TESTİ.....	57
7.2- BASSO, BEATTİE, BRESNAHAN (BBB) SKORLAMASI	57
8- HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME	60
9- İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	63
BULGULAR	64
1- VÜCUT AĞIRLIKLARI.....	64
2- İNCLİNED PLANE TESTİ SONUÇLARI.....	65
3- BBB SKORLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	66
4- HİSTOLOJİK BULGULAR.....	70
4.1-HEMOTOKSİEN-EOZİN BOYAMA	70
4.2-APOPİTOZİS.....	76
4.2.1-Tunel Boyama	76
4.2.2- Kaspaz 3-İmünohistokimyasal Boyama	83
TARTIŞMA.....	88
SONUÇLAR	97
KAYNAKLAR.....	99

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Omurilik yaralanma modellerinin tarihsel gelişimi	6
Tablo 2: Deneysel omurilik yaralanma modelleri	7
Tablo 3: Omurilik yaralanmasında primer hasar mekanizmaları.....	8
Tablo 4: Spinal kord yaralanmasında sekonder hasar mekanizmaları	12
Tablo 5: Akut spinal kord hasarının patolojisi	26
Tablo 6: Spinal kord hasarının kronik döneminde izlenen patolojik değişiklikler	28
Tablo 7: İnsan ve kemirgenlerde spinal kord yaralanmasında cevabın karşılaştırılması	29
Tablo 8: Omurilik hasarında potansiyel olarak etkili olabilecek ilaçlar	32
Tablo 9: BBB davranış derecelendirme skalası.....	59
Tablo 10: Histolojik skora.....	61
Tablo 11: Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları	64
Tablo 12: Zamana göre inclined plane dereceleri.....	67
Tablo 13: Zamana göre BBB skorları	70
Tablo 14: Deneklerin histolojik skorları.....	75
Tablo 15: Tunel pozitif hücre oranları.....	82
Tablo 16: Antikaspaz-3 pozitif hücre oranları	87

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Spinal kord yaralanmasının patofizyolojisi	13
Şekil 2: Akut omurilik hasarının mekanizmaları	24
Şekil 3: Gabapentin'in yapısı	42

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Grupların inclined plane açısı ortalamaları.....	67
Grafik 2: Grupların BBB skor ortalamaları	70
Grafik 3:Tünel Pozitif hücre yüzdesi.....	82
Grafik 4: Antikaspaz-3 pozitif hücre yüzdesi	87

RESİM LİSTESİ

Resim 1:Operasyon bölgesi traş edildi ve antisepsi sağlandı.....	51
Resim 2:Paravertebral adeleler laminalardan sıyrıldı	51
Resim 3:Laminektomi sonrası	52
Resim 4:Spinal kordun anevrizma klipi ile klipaji	52
Resim 5:Spinal kordun klipaji sırasında	53
Resim 6:Spinal kordaki anevrizma klipin kaldırılması	53
Resim 7:Rat sırt üstü pozisyonda cerrahi saha hazırlanmış olarak görülüyor.....	55
Resim 8:Cilt ve ciltaltı geçildi	55
Resim 9:Sternum sağ ve sol tarafından açılarak yukarıya doğru kaldırıldı.....	56
Resim 10:Sol ventrikülden SF ile irrigasyon	56
Resim11:Sham grubuna ait medulla spinalis tranvers kesiti x4 lük büyütme	71
Resim12:Sham grubuna ait medulla spinalis x40 lük büyütme.....	71
Resim13: Grup 2'e ait medulla spinalis tranvers kesiti x4 lük büyütme	72
Resim14: Grup 2'e ait medulla spinalis x40 lük büyütme	72
Resim15: Grup 3'e ait medulla spinalis tranvers kesiti x4 lük büyütme	73
Resim16: Grup 3'e ait medulla spinalis tranvers kesiti x40 lük büyütme	73
Resim17: Grup 4'e ait medulla spinalis tranvers kesiti	74
Resim18: Grup 4'e ait medulla spinalis tranvers kesitix40 lük büyütme	74
Resim19: Sham grubu X40lık büyütme (Mayer's).	76
Resim20: Sham grubu X40lık büyütme (Metil green)	76

Resim21: Grup2 X10luk büyütm (Mayer's).....	77
Resim22: Grup2 X40lık büyütm (Mayer's).....	77
Resim23: Grup2 X40lık büyütm (Metil green).....	78
Resim24:Grup3 X10 luk büyütm (Mayer's).....	78
Resim25: Grup3 X40lık büyütm (Mayer's).....	79
Resim26:Grup3 X40lık büyütm (Metil green).....	79
Resim27:Grup4 X20lık büyütm (Mayer's).....	80
Resim28: Grup4 X40lık büyütm (Mayer's).....	80
Resim29:Grup3 X40lık büyütm (Metil gren).....	81
Resim30:Sham X10luk büyütm (kaspaz)	83
Resim31: Sham X20 lik büyütm (kaspaz).....	83
Resim32: Grup2 X20 lik büyütm (kaspaz)	84
Resim33: Grup2 X40 lık büyütm(kaspaz).....	84
Resim34:Grup3 X10 luk büyütm (kaspaz).....	85
Resim35: Grup3 X40 lık büyütm (kaspaz).....	85
Resim36: Grup4X10 luk büyütm (kaspaz).....	86
Resim37: Grup4 X40 lık büyütm (kaspaz).....	86

KISALTMALAR

SKY	Spinal Kord Yaralanması
İV	İntravenöz
GABA	Gama amino bütirik asit
Tx	Tromboxan
NMDA	N-metil D-aspartat
Ca⁺⁺	Kalsiyum
Na⁺	Sodyum
Cl⁻	Klor
Fe	Demir
K⁺	Potasyum
NO	Nitrik oksit
IPA	İnclined plane açısı
IPT	İnclined plane testi
BBB	Basso, Beattie, Bresnahan
AE	Arka ekstremit
ÖE	Ön ekstremit
4-AP	4-aminopiridin
5-HT	Seratonin
Th	Torakal
H-E	Hematoksilen- eozin
Ort	Ortalama
SS	Standart sapma

DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASINDA GABAPENTİN'İN NÖROPROTEKTİF ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Gündüz Kadir İstan, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
DEÜ Tıp Fakültesi Hastanesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, 35330 İnciraltı/ İZMİR

ÖZET

Amaç: Ratlarda deneysel omurilik yaralanması modelinde, Gabapentin'in travma öncesi ve travma sonrası uygulanmasının nöroprotektif açıdan, histolojik ve nörodavranışsal olarak etkinliğinin değerlendirilmesi planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, normal motor aktiviteye sahip Wistar Albino türü 24 adet dişi rat kullanıldı. Çalışma, her grupta 7 adet rat kullanılan 3 ana grup ve 3 adet rat kullanılan sham grubu olarak planlandı. Deneklerde, cerrahi işlem öncesi 35 mg ketamin ve 5 mg ksilazin verilerek anestezi sağlandı. Grup1 (sham): Sadece laminektomi, Grup2(kontrol):Laminektomi ve travma uygulanan grup, Grup3 (ilaç): Laminektomi ve travma uygulanmasından 2 saat sonrasında Gabapentin 150mg/kg intravenöz uygulanan grup, Grup 4 (ilaç): Laminektomi ve Gabapentin 150mg/kg intravenöz uygulanmasını takiben, 5 dakika sonra travma uygulanan grup olarak düzenlendi. Standart travma amacıyla, 63 gramlık kuvvet uygulayan Yaşargil anevrizma klipi (Aesculap FE 721 K) ile dura ve spinal kord çepçevre saracak şekilde bir dakika süreyle kliplendi. Cerrahi sonrasında tüm deneklere, fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi amacı ile 1.,10.,20. ve 30. günlerde nörodavranışsal testler uygulandı ve 30. gün sonunda denekler sakrifiye edilerek travma alanından alınan örnekler Hemaktoksilen&Eosin, Tunel ve Kaspaz3 boyama uygulanarak histolojik değerlendirmeye alındı.

Bulgular: Nörodavranışsal testlerin ve histolojik değerlendirmelerin sonuçları karşılaştırıldığında, Gabapentin uygulanan gruptaki iyileşmenin diğer gruptan anlamlı derecede iyi olduğu görüldü. Grup3 ve grup4 karşılaştırıldığında; nörodavranışsal ve histolojik olarak grup 4'deki iyileşme anlamlı derecede iyi bulundu.

Sonuçlar: Spinal kord travması oluşturulan ratlarda Gabapentin uygulamasının, nörodavranışsal ve histopatolojik olarak iyileşmeyi arttırdığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gabapentin, nöroprotektif etki, Spinal travma, spinal kord yaralanması

EVALUATION OF NEUROPROTECTIVE EFFICACY OF GABAPENTIN (GBP) IN EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY (SCI)

Gündüz Kadir İstan, MD., Dokuz Eylul University, School of Medicine, Department of Neurosurgery, Inciralti – Izmir / Turkey

ABSTRACT

Objective: Purpose of this study was to evaluate the neuroprotective efficacy of pre- and post- traumatic Gabapentin administration in histological and neurobehavioral recovery in a rat experimental spinal cord injury (SCI) model.

Material and Method: Twenty-four Wistar Albino female rats having normal motor activities were allocated randomly into three main groups to contain seven rats in each and a sham-operated group of 3 rats. Rats were preoperatively anesthetized with 35 mg ketamine and 5 mg ksilozin. Model was constructed so that Group 1 (sham-operated group) had only laminectomy; Group 2 (control group) had laminectomy and traumatized; Group 3 (treatment group) administered with Gabapentin (150 mg/kg intravenous) two-hours after the laminectomy and trauma; Group 4 had laminectomy, injected with Gabapentin (150 mg/kg intravenous) and then traumatized 5 minutes after injection. For the purposes of creating a standard trauma, a Yasargil aneurysm clip (Aesculap FE 721 K) with a 63-gram closing force was applied for one minute around the dura and the spinal cord. In order to assess the functional recovery following the surgical procedure, neurobehavioral tests were carried out in all rats on days 1, 10, 20 and 30. At the end of the 30th day, all rats were killed and samples obtained from the traumatized area were stained via hematoxylin-eosin, TUNEL method and caspase-3 for histological assessment.

Results: Comparison among the results of neurobehavioral tests and histological assessments showed that Groups administered with Gabapentin revealed significantly better recovery than other groups. Group 4 showed significantly better recovery than Group 3 in terms of neurobehavioral and histological results.

Conclusion: Treatment of spinal cord injury (SCI) with Gabapentin improves histological and neurobehavioral recovery in experimentally traumatized rats.

Keywords: Gabapentin, neuroprotective effect, spinal trauma, spinal cord injury (SCI)

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut omurilik yaralanması; modern toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen, ciddi ve harap edici bir nörolojik problem olması ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunmaması nedeniyle günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biridir(1,2). Her yıl ABD’de ortalama 10.000-15.000 akut spinal kord yaralanmasına maruz kalan yeni vaka bildirilmekte, 4.000 olgu hastaneye yetiştirilemeden ölürken, 1.000 olgu hastane izlemi sırasında kaybedilmektedir. Çoğu ülkede insidansın 20-40/1 000 000 arasında değişmesi ve bu vakaların yaş ortalamasının 16-30 olduğu görülmektedir(3,7,8). Olguların % 64-80’i erkektir ve yaklaşık yarısı nörolojik açıdan komplet hasara sahiptir. Komplet hasarın % 54’ü kuadripleji ve % 46’sı parapleji şeklindedir. Bu olguların hastanede kalış süreleri ve rehabilitasyonları uzun süreli ve tekrarlayıcıdır. Tedavi sonrası hayat kalitesi, sosyal ve ekonomik hayata dönüş ise düşük sınırlardadır (14,15). Bu hastaların yaşam boyu süren tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları ile yaşadıkları sosyal ve psikolojik problemler gözönüne getirildiğinde, hastayı, ailesini ve ülke ekonomisini etkileyen ciddi bir sağlık problemi ile karşılaşırız (16). Bu, olayın toplum üzerindeki yarattığı travmanın büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir.

Travmatik spinal kord yaralanmalarının en yaygın nedenleri sıklık sırasına göre; motorlu araç kazaları (yaklaşık % 50), düşmeler, ateşli silah yaralanmaları veya kesici-delici aletlerle oluşmuş penetran yaralanmalar ve spor kazalarıdır. En sık servikal bölge ve dorsolomber bileşke bölgesindeki spinal kord etkilenmektedir (14,17,29,30).

Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde, omurilikte oluşan lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler, klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır(6). Bununla bağlantılı olarak, omurilik yaralanmasının patofizyolojisinde oluşan hasarın primer ve sekonder mekanizmalarla olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bunlar; birincil mekanik hasar ve bunun tarafından tetiklenerek oluşan ve birçok etkenin rol oynadığı sekonder hasarlanmalardır(12). Omurilik hasarının akut safhasındaki tedavi çalışmalarının büyük çoğunluğu sekonder nörotoksik oluşumları engellemeyi ya da bu sürecin ilerlemesini durdurabilmeyi amaçlar (19,34,35).

Halen akut omurilik yaralanmasının tedavisi üzerine yapılan araştırma çabaları, çağdaş yaklaşıma değerli katkılarda bulunmaktadır, fakat kalıcı ve anlamlı derecede etkili ve aynı zamanda evrensel bir tedavi protokolü geliştirilebilmiş değildir (12,13).

Gabapentin, gama amino bütirik asit (GABA) analogu olan antikonvülzan, nöropatik ağrı tedavisinde efektif bir analjezik olarak kullanılan bir farmakolojik ajandır (178). Spastisite tedavisinde spinal refleksleri azaltmak ve nöbet modellerinde, nöbet eşiğini arttırmak amacıyla kullanıma girmiştir. Deneysel hayvan ağrı modellerinde antinosiseptif etkinliği gösterilmiştir. Parsiyel nöbet ve nöropatik ağrı tedavisinde klinik kullanımı mevcuttur(13,178).Deneysel olarak diabet oluşturulan ratlarda oluşan glial ve nöronal hasar gözlenmiştir. Kontrol grubu ile Gabapentin 50 mg/kg verilen grup karşılaştırıldığında Gabapentin grubunda nörodejenerasyonun azaldığı gözlenmiştir(179). Deneysel çalışmalarda farelerde deneysel serebral iskemi modellerinde 150-200 mg/kg kullanım ile Gabapentin'in nöroprotektif etkinliği olduğu gösterilmiştir (180). Çalışmamızda deneysel omurilik yaralanma modelinde travma öncesi ve sonrasında uygulanan 150 mg/kg Gabapentin'in nöroprotektif etkinliği değerlendirilecektir.

Bu çalışmada ratlarda deneysel omurilik yaralanması modelinde, Gabapentin'in travma öncesi ve travma sonrası uygulanmasının, nöroprotektif açıdan, histolojik ve nörodavranışsal olarak etkinliğinin değerlendirilmesi planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1- OMURİLİK TRAVMASININ TARİHÇESİ

Akut omurilik yaralanması yüzyıllardır bilinen bir patolojik durum olup, toplumu sosyal ve ekonomik açıdan derinden etkilemektedir. Omurilik yaralanmasında oluşan hasarı önlemede veya iyileştirmede etkin tedavi halen bulunamamıştır ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememesi nedeniyle günümüzün en ciddi sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir (2, 18,40).

Akut omurilik hasarı tanı ve tedavisi ile ilgili çalışmalar antik döneme kadar uzanmaktadır (19). Bu konuda bilinen ilk yazılı belge Eski Mısır'da milattan önce 17. yüzyılda yazıldığı düşünülen papirüslerdir. 1930'da Breasted tarafından tercüme edilmiş olan "Edwin Smith" cerrahi papirüsünde omurilik yaralanmalarının medikal tarihçesine ilk kez rastlanmaktadır (47,57). İmhotep bu papirüsde sözü edilen ilk cerrahdır. İmhotep (58), Büyük Piramitlerin yapımı sırasında 48 travmanın altısında omurilik hasarı tespit etmiştir. Bu yüksek oranda omurilik hasarı nedeni ile spinal travmalar üzerine çalışma yapılabilmektedir. Bu lezyonu anlatarak, ligaman hasarını, vertebral subluksasyon ve dislokasyonu tanımlamış; üst ve alt servikal vertebra yaralanmalarında kuadripleji ve parapleji olacağını belirtmiştir. Bu belgede değerlendirilen olgulara göre hastalar, tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gereken olgular ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmıştır. Edwin Smith papirüsünde bulunan spinal hasar hakkındaki bilgiler yaklaşık 4500 yıl geçmiş olmasına rağmen geçerliliğini korumaktadır(35,54). Edwin Smith papirüsüne göre:

Boynunda omurga kırığı tarifnamesi: Boynunda omurga kırığı bulunan birini incelediğinizde bir omurganın diğerinin içine geçtiğini; bundan dolayı kişinin sessiz kaldığını ve konuşmadığını, başının öne aşağı doğru sallandığını, kişinin kol ve bacaklarının farkında olmadığını ve idrarını damla damla yaptığını görürsünüz. Bu kişi ile ilgili söyleyebileceğiniz şudur: "Boynunda omurga kırığı olan kişi her iki kolunun ve bacağının hissini ve de konuşma yetisini kaybetmiştir. Aslında kişi kaybedilmiştir, çünkü bu rahatsızlık tedavi edilemeyecektir." (20)

Yunanlı filozof Hipokrat (M.Ö. 460–377) vertebra dislokasyonuna eşlik eden ekstremiteler paralizileri hakkında geniş bilgiler vermiş ve paraplejiyi tariflemiştir. Kırık ve dislokasyonları redükte etmek için kendine özgü bir traksiyon cihazı geliştirmiştir(22). Ayrıca mevcut kayıtlar MÖ. 400 yıllarında Hipokrat'ın, spinal hasarlanması bulunan hastalara bal, eşek sütü ve beyaz şaraptan oluşan yüksek hacimli sıvı tedavisi önerdiğini göstermektedir.

Hayvan deneyleri ilk kez Galen (M.S.130–201) tarafından yapılmıştır. Kesilen medulla segmentinin altında duyu ve hareket kaybı olduğunu göstermiştir (23). Omuriliğe boylamasına yapılan kesinin hasar oluşturmadığını ancak enine yapılan

kesinin motor ve duyuşal bozukluğuna neden olduğunu söylemiştir. Bu sayede Hipokrat' ın omurilik yaralanmalarında lezyon seviyesinin altında motor ve duyu kaybı olduğu konusundaki hipotezini yaptığı anatomik ve nörofizyolojik çalışmalarla doğrulamıştır (67).

Egeli Paulus (625-690) traksiyon ile omurilik hasarının önlenemeyeceğini düşünerek ilk kez dekompresif cerrahi fikrini ortaya koymuş ve laminektomi uygulamasını tanımlamıştır (24-25).

1543'de yayınlanan kitabında Andreas Vesalius, insan sinir sistemi üzerine detaylı şekilde çizimler yapmıştır. 16. yüzyılda Fransız cerrah Pare, odundan bir düzeneş kurmuş ve spinal dislokasyonları redükte etmeyi amaçlamıştır. Bu amaçla vertebra ve sinirleri öne itmeyi önermiştir.

1646'da Fabricius Hildanus, yumuşak dokular ve spinöz çıkıntılara bir çivi takıp klemp ile çekerek servikal fraktür ve dislokasyonlarda redüksiyon ve traksiyonu amaçlamıştır. 1762'de Louis, lomber bölgede paraplejiye yol açan metal bir fragmanı komplikasyonsuz olarak çıkartmış ve tam iyileşme bildirmiştir (24,25).

2- OMURİLİK TRAVMASI İLE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR

İlk fizyopatolojik çalışma ancak 1890 yılında Schamus tarafından yapılabilmekmiştir. Schamus, tahtalardan hazırladığı bir düzeneği kullanarak tavşanların sırtına travma uygulamış, travmadan sonra spinal kord içinde dejenerasyon ve kavitasyonların olduğunu gözlemiştir. 1897'de Lundberg, kobay kordunda kontüzyonu takiben anterolateral beyaz cevher dejenerasyonunun geliştiğini bildirmiştir(68)

1906'da Santiago Ramon Cajal, santral sinir sistemi yapısını tarif ederek Nobel ödölünü kazanmıştır.

1911'de Reginald Allen omurilik üzerine ağırlık düşürerek hasar oluşturma tekniğini anlatmıştır. Köpeklerde torasik laminektomi yaptıktan sonra, hayvanların durasının yüzeyine dik açıyla bir tüp yerleştirmiş, bu tüp aracılığı ile spinal kordun üzerine farklı miktarlarda ağırlıklar düşürmüş, böylelikle farklı şiddette travmalar oluşturmıştır. Ağırlık düşürme modeli olarak bilinen bu modelde travmanın şiddeti; ağırlık ile yüksekliğin çarpımına eşittir (gr-cm). Dura üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık, tüp içinden düşürölmüş, böylelikle travma

oluşturulmuştur. Yazar, köpeklerde 345 gr-cm. şiddetindeki bir travmanın orta şiddette yaralanmaya, 420 gr-cm'nin spastik parapareziye, 450 gr-cm'nin de kalıcı paraplejiye yol açtığını göstermiştir.

Ağırlık düşürme modelin en büyük dezavantajı, posterior kord kompresyonu oluşturmastır. Oysa insanlarda anterior kord kompresyonu yaygındır. Buna karşın bu model, insanlardaki spinal kord yaralanmasının biyomekaniğini çok iyi taklit eden bir modeldir (69,70).

1943'de rehabilitasyon amacıyla Sir Ludwig Guttmann, Ulusal Stoke Mandeville Omurga Merkezi'ni açmıştır. Birinci Dünya Savaşı sırasında servikal omurilik hasarlarında %80 oranında 1–2 hafta içinde ölüm gerçekleşmekteyken bu merkezde yapılan özel programlarla birlikte bu grup hastalarda ilerleme kaydedilmiştir.

Tarlov 1953' de epidural aralıkta balon şişirerek omurilik yaralanması yaratmıştır.

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde omurilik, çeşitli zaman aralıklarında değişik kapanma gücüne sahip anevrizma klipleri ile klibe edilmekte 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 yaratmaktadır (19,73,74).

Watson 1986'da lazer ile omurilik kesisi yapmıştır. Stokes ve Reider 1990' da omuriliğe yapılacak darbenin şiddetini ve hızını önceden belirleyip darbe sonunda ön görülen travmanın olup olmadığını denetleyen elektromekanik bir cihaz geliştirmişlerdir (67).

Bu modellerle birlikte birçok deneysel omurilik hasar modeli geliştirilmiştir(76).

Araştırmacı	Tarih	Model
Galen	2. yy	Omurilik insizyonu
Watson	1891	Köpekleri yüksekten düşürme
Allen	1911	Omurilik üzerine ağırlık düşürme
McVeigh	1923	Omurilik üzerine parmakla basma
Tarlov	1953	Epidural aralıkta balon
Fontaine	1954	Klemp ile omuriliği sıkıştırma
Rivlin	1978	Omuriliğe anevrizma klibi
Watson	1986	Omuriliğe lazer ile insizyon
Benzel	1990	Omurgayı klemp ile sıkıştırma
Stokes	1990	Elektromekanik kontüzyon

Tablo 1: Omurilik yaralanma modellerinin tarihsel gelişimi (27)

Spinal kordte travma oluşturan modellerinin bu kadar çok teknikle uygulanması bunları standartize edilmesi gerekliliğini ortaya çıkartmıştır. Bu nedenle Chung daha standart, daha ideal hayvan modeli oluşturulması adına bazı kriterler önermiş, Collins de buna atıfta bulunarak spinal kord travması ve tedavi metodlarını yeniden gözden geçirmiştir (67).

Bahsedilen bu kriterler;

1. Oluşturulacak travma, doku hasarı ya da nöronal disfonksiyon, hayvandan hayvana değişmez şekilde yaratılabilmeli, travma sonrası değerlendirilecek parametrelerdeki varyasyonlar kabul edilebilir sınırlarda olmalı, preklinik çalışma başlamadan önce bu sınırlar belirlenmelidir.

2. Hayvan modelindeki kaçınılmaz yan etkiler (cerrahi yaralanma, anestezi ajanlarının etkisi, metabolik ve hemodinamik değişiklikler) en aza indirgenmeli, çalışma başlamadan olası etkiler tanımlanmalıdır.

3. Çalışmanın sonuçları tekrarlanabilir ve sayısal hale getirilebilir olmalıdır.

A) Travmatik Yaralanma
1- Akut Kinetik Kompresyon Kaf Klip Balon Vertebral dislokasyon <i>Impactor.</i>
2- Akut Statik Kompresyon Ağırlık uygulanması
3- Ağırlık Düşürme
4- Akselerasyon- deselerasyon
5- Distraksiyon
6- Transeksiyon parsiyel, komplet lazer, bistüri
B) Non-travmatik Yaralanma
1- İskemi Aort oklüzyonu Selektif arter ya da ven oklüzyonu
2-Tümör kompresyonu
3- Kimyasal

Tablo 2: Deneysel omurilik yaralanma modelleri (27)

3- OMURİLİK YARALANMALARINDA HASAR MEKANİZMALARI

3.1- PRİMER HASAR MEKANİZMALARI

Spinal korde travmayı takiben nöron ve aksonlarda oluşan mekanik hasar; primer hasar olarak adlandırılmaktadır. Primer hasarlanma beklenmedik nedenlere bağlı olduğu için genellikle engellenemez ve şiddeti değiştirilemez (5,32). Yaralanmanın yaygınlığı ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli boyutlarına da dayanmaktadır. Geniş kanallar her hangi bir mekanik strese bir tampon sağlayabilse de, dar kanallarda böyle bir rezerv yoktur (26)

Mekanik Güç	Hasar Mekanizması
Darbe ve kalıcı kompresyon	Patlama fraktürü, fraktür-dislokasyon
Darbe ve geçici kompresyon	Hiperekstansiyon
Distraksiyon	Hiperfleksiyon
Laserasyon, transeksiyon	Patlama fraktürü, laminar fraktür, ateşli silah yaralanması

Tablo 3 : Omurilik yaralanmasında primer hasar mekanizmaları (32)

İnsan omurilik yaralanmasında ilk ve en sık görülen mekanizma (birinci mekanizma), darbe sonrası devam eden omurilik kompresyonudur (33). Burst fraktürlerinde geriye doğru yer değiştiren kemik fragmanların kordu sıkıştırması, fraktür dislokasyon ve akut disk rüptürlerinde bu kanıtlanmıştır (18)

İkinci mekanizmada yalnızca darbenin geçici süre ile oluşturduğu kompresyon mevcuttur ve altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerde hiperekstansiyon yaralanmalarında görülür (18).

Üçüncü mekanizma da, distraksiyon, aksiyel planda spinal kolonu gerici kuvvetlerin oluşturduğu mekanizmadır. Spinal kord ve/veya onun kan akımını sağlayan elemanlarının gerilmesi ve yırtılması söz konusudur.

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. Ayrıca bu tip yaralanma travmanın radyolojik kanıtı olmadan yetişkinlerde altta yatan dejeneratif spinal hastalık durumunda spinal kord yaralanmasına yol açan bir sendromdur (18).

En son primer hasar mekanizması laserasyon ve transeksiyondur. Laserasyon; ateşli silah ile yaralanma, keskin kemik fragmanların dislokasyonu veya ciddi distraksiyon sonucu meydana gelir ve minör hasardan komplet transeksiyona kadar çeşitli derecelerde olabilir (18).

Primer hasarda ilk mekanik hasar santral gri cevherden başlarken, beyaz cevher nispeten korunmaktadır. Gri cevherin hasar görmeye yatkınlığı daha yumuşak olan yapısına ve daha fazla olan damarlanmasına bağlanmaktadır. Genelde omurilik içindeki kanama arka kısımdan başlar ve ilk mekanik hasardan sonra omurilik içindeki kan akımı kesilir. Omurilik kan akımındaki kesilme, hipoksi ve iskemiye bağlı lokal enfarktların gelişimine neden olmaktadır. Bu özellikler, daha yüksek metabolik ihtiyaçları nedeni ile gri cevherde hasar verici olmaktadır. Hasar yerinden geçen nöronlar fiziksel olarak kopmuş ve azalmış myelin kalınlığı göstermektedir (77). Sinir iletimi, mikrohemorajiler ve ödeme bağlı olarak hasar yerinin yakınında da bozulabilmektedir Gri cevherin hasar sonrası ilk saatte geri dönüşümsüz olarak hasar gördüğü düşünülürken beyaz cevherde bu 72 saatte olmaktadır (78,79).

3.2- SEKONDER HASAR MEKANİZMALARI

Omurilik yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, omurilik travmalı hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya atılmıştır (80). Primer hasardan sonraki saatler ve günler ve hatta haftalar içinde gelişen bir takım patofizyolojik, hemodinamik ve biyokimyasal mekanizmalarla

devam eden, artan doku kaybı dönemidir(81,82). Yapılan çalışmalarda travmanın tipinin yanı sıra primer hasardan çok sekonder doku hasarlanmasının daha gürültülü seyrettiği bildirilmiştir. Primer hasarlanmayı o an önleyebilecek fazla bir şey olmamasına rağmen sekonder hasarlanma evresinde nöronları koruyabilecek tedavi sistemleri söz konusu olabilir.

Bu nedenle son dönemde yapılan deneysel çalışmalarda bu sekonder yaralanmanın önüne geçebilecek medikal tedaviler üzerinde durulmaya başlanmıştır(82,83,84).

Akut yaralanma sonrası ilk 15 dakikada gri maddede peteşiyal kanamalar, beyaz maddede ödem oluşur. 2-4 saatte gri maddedeki kanamalar artar ve ödem oluşur. Zamanla patolojik değişikliklerin kötüleştiği, öyle ki yaralanmadan 6 gün sonra ileri derecede nekroz oluştuğu gösterilmiştir(85,86).

Bu projesi ile 1978’de Nemecek, ışık mikroskopunda yaralanmış dokudaki intravasküler trombusları göstermiş ve bu ciddi nekrozu “otodestrüksiyon” olarak tanımlamıştır(37).

Spinal kord yaralanmalarında sekonder hasar mekanizmaları, birbiriyle ilişkilidir ve tetikleyen dört ana teoride toplanmıştır:

1. Serbest oksijen radikalleri teorisi: İskemik dokuda fazla miktarda biriken radikaller ve onların ürünleri doku hasarının ilerlemesine neden olurlar.
2. Kalsiyum teorisi: Serbest kalsiyum iyonlarının nörotransmitter kanallardan fazla miktarda geçişi sonucu doku yıkım enzimleri olan fosfolipaz, proteaz ve fosfatazin aktive olmaları doku harabiyetine neden olur.
3. Opiat reseptör teorisi: Naloxone gibi opiat reseptör blokörleri nörolojik iyileşmeyi hızlandırır.
4. Enflamasyon teorisi: Lipid enflamasyon mediatörleri ve diğer sitokinler lezyon sahasında birikirler ve takiben makrofaj ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonuna neden olurlar.

Bu teoriler ışığında spinal kord yaralanmalarında nöroprotektör etkisi olabileceği düşünülen pek çok madde denenmiştir. Opiat reseptör antagonistleri, steroidler (metilprednizolon), antioksidan maddeler ve serbest radikal tutucular, gangliozidler, tirotropin salıcı hormon ve analogları, araşidonik asit modülatörleri, glutamat reseptör blokerleri, monoamin modülatörleri, kalsiyum kanal antagonistleri,

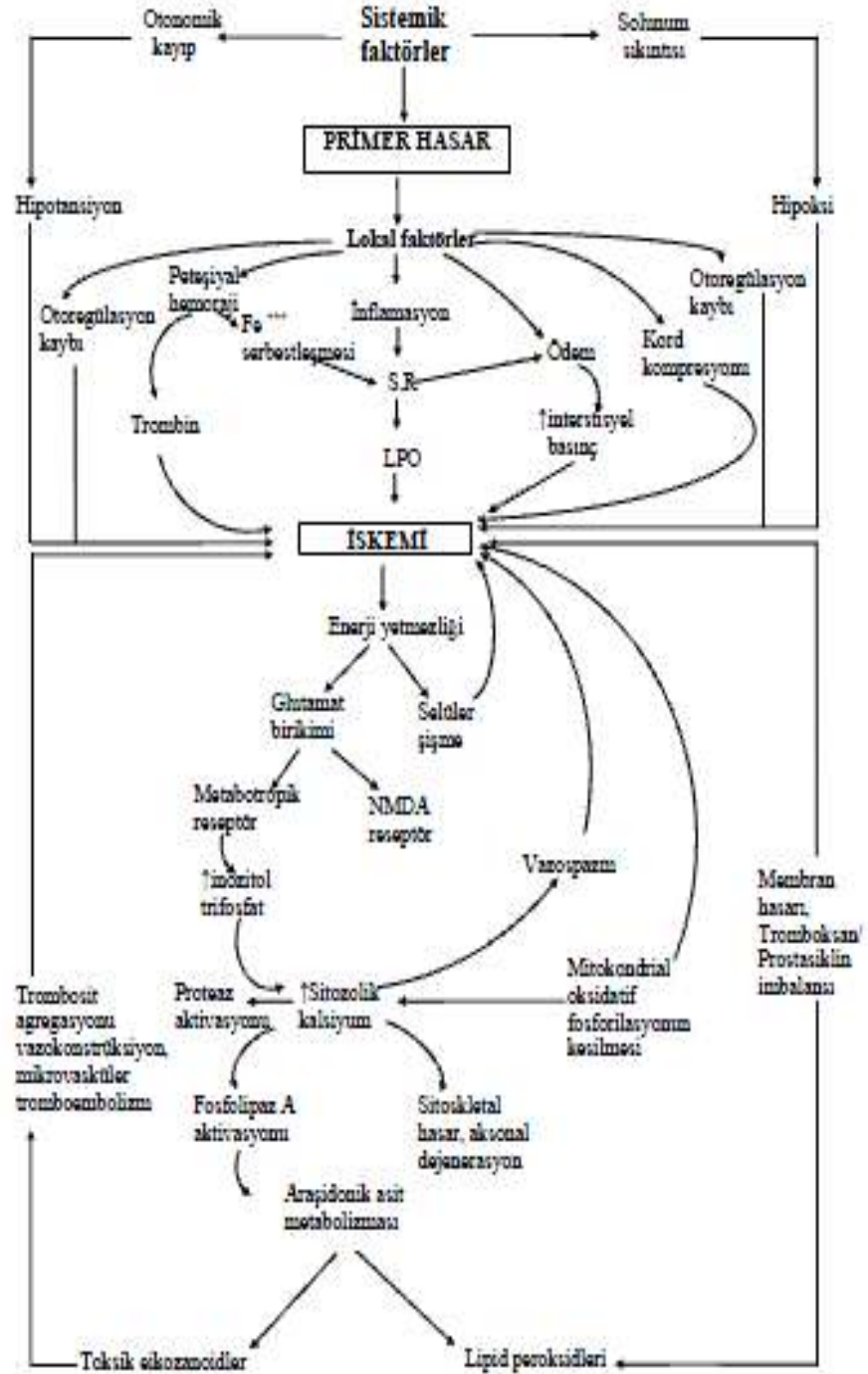
nonsteroidal antiinflamatuvarlar, immünsupresifler, büyüme faktörleri, serotonin reseptör blokerleri ve sodyum kanal blokerleri bu amaçla kullanılmışlardır.

Bunlar arasından sadece metilprednizolon klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (9,10,31,38,39).

Artmış glutamat seviyesi, eksitotoksisite, oksidatif hasar, iskemi, nitrik oksidin Ca^{+} 'a bağlı üretimi, hücresel membranlarda serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu sekonder yaralanma kaskadının içerikleridir (87).

Sistemik Etkiler(Nörojenik şok)
Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi Kan basıncında kısa süreli artış, sonra uzun süreli hipotansiyon Periferik dirençte azalma Kardiak debide azalma
Omurilik Dolaşımında Lokal Vasküler Hasar
Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma Özellikle gri cevherde hemoraji Mikrodolaşımda kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm
Biyokimyasal Değişiklikler
Serbest radikal üretimi Lipid peroksidasyonu Eksitotoksitite: glutamat Nörotransmitter birikimi Ketakolaminler-noradrenalin,dopamin Araşidonik asit salınması Eikazanoid üretimi Prostaglandinler Endojen opioidler Sitokinler
Elektrolit
İntasellüler kalsiyumda artış Ekstrasellüler potasyumda artış İntrasellüler sodyumda artış
Yangısal Yanıt
Serbest Radikal üretimi Makrofajlar Aksonal Yıkım, Miyelin Artıklarının Salınımı Sitokinlerin Salınması Glial hücre aktivasyonu Oligodendroglial sitotoksik etkiler Wallerian dejenerasyon
Ödem
Apoptozis
Enerji metabolizmasında kayıp
ATP üretiminde azalma

Tablo 4: Sekonder hasar oluşumunda etkili olan mekanizmalar özetlenmiştir



Şekil 1: Akut spinal kord yaralanması mekanizması (89)

3.2.1. Sistemik Etkiler:

Akut omurilik yaralanması olası sistemik etkilerini nörojenik şok ve respiratuar yetmezlik olarak göstermektedir(18). Nörojenik şok, vasomotor uyarının ciddi paralizisinin neden olduğu yetersiz doku perfüzyonu olarak tarif edilmektedir. Bu tablo kardiyak output'un depresyonu ve periferik rezistansdaki azalma ile oluşan hipotansiyon ve bradikardi ile karakterizedir. Bu etkiler sempatik tonusun azalması ve artan vagal tonusa bağlı miyokardiyal fonksiyon bozulması ile ilişkilidir (90). Nörojenik şok tablosu, tedavi edilmezse nöral doku hasarını şiddetlendirir(18). Oluşan şokun derecesi meydana gelen omurilik yaralanmasının seviyesi ile ilişkilidir. Özellikle servikal düzeyde meydana gelen hasar, çok ciddi bir nörojenik şok tablosu ortaya çıkarabilmektedir (91). Omurilik yaralanmasında nörojenik şokun nedeni, sempatik tonusun azalması ve vagusun anormal kardiyak etkisi ile bradikardi gelişmesidir(31). Travmatik spinal kordun otoregülasyonu kaybetmesi nedeniyle oluşan sistemik hipotansiyon, posttravmatik iskemiyi şiddetlendirmektedir ve bu yüzden hemen tedavi edilmelidir. Ancak intramedüller hiperemi ve hemorajiden kaçınmak amacıyla kan basıncı, yalnızca normotansif seviyelerde tutulmalıdır (12).

3.2.2. Lokal Vasküler Etkiler ve Spinal iskemi

Lokal etkiler hasarlı spinal kord segmentinde otoregülasyon kaybı, hem gri, hem beyaz cevherde özellikle hemorajik ve komşu bölgelerde mikrosirkülasyonda belirgin azalmadır(86). Akut spinal kord travmasında, erken ve geç safhalarda, omurilik üzerinde vasküler hasara bağlı ciddi değişiklikler oluşmaktadır. Tüm modellerde ve insan omurilik yaralanmasında en sık görülen etki, özellikle gri cevher ve omuriliğin santralinde görülen hemorajidir. İlk mekanik darbenin etkisi ile kapiller, venüller ve bazı arteriollerde yırtılmalar olur ve saatler içinde hemorajide progresyon görülür. Ayrıca nadiren direkt travmaya bağlı anterior spinal arter gibi geniş damarlarda hasar meydana gelmektedir, bu damarlar direkt mekanik travmadan genellikle kurtulmaktadırlar(5,41). Omurilik yaralanması sonrası venüllerde ve kapillerlerde akım bozulur. Mikrosirkülasyon bozukluğu yalnız travma alanında değil, rostral ve kaudalde de görülür. Mikrosirkülasyonun bozulmasına, direkt mekanik etkiye bağlı ortaya çıkan vazospazm yanında, travma sonrası açığa çıkan

katekolaminler, glutamat ve prostoglandinlere bağılı ortaya çıkan vazospazm da etkili olmaktadır(5,70). İntravasküler tromboz, tromboxan A2 etkisi ile başlar ve bu da iskemiye neden olur. Eksitotoksik aminoasitler de iskemi yapabilir. Glutamat bir nörotransmitterdir ve EAA'dir.

Nöronların iskemiye dayanıksızlığının sebebi bilinmemekle beraber glutamat sorumlu tutulmaktadır. Glutamat reseptör aktivasyonunun iskemik hasarda önemli rolü vardır. Glutamat reseptörlerinin uyarılması, önce Na⁺'un hücre içine toplanarak sitotoksik ödem oluşmasına neden olur. Daha sonra hücre içi Ca²⁺ toplanması ile nöronal harabiyet olur. Hücre içi Ca²⁺, kalsiyum bağımlı proteazları aktive ederek daha fazla hasara yol açar (86).

Sekonder hasarda önemli rol oynadığı düşünülen posttravmatik iskemi konsepti, geri dönüşlü ve tedavi edilebilir olması nedeniyle önem taşımaktadır (70).

Omuriliğin çok farklı arteriyel kan basınçlarında omurilik kan akımını sabit tutma özelliğine otoregülasyon denir. Omurilik vasküler yatağında otoregülasyonun bozulması, perfüzyon basıncının düşmesi ile dokulara gereksinim duyduğu kadar metabolit ve oksijen ulaşmasını engelleyen nedenlerden biri de spinal şoktur (86). Tator ve arkadaşlarının yaptığı çalışma göstermiştir ki omurilik kan akımının otoregülasyonu travma ile belirgin şekilde etkilenmiştir. Ciddi travma sonrasında oluşan sistemik hipotansiyon omurilik kan akımını azaltmıştır. Travmadan sonra oluşan sistemik kan basıncının 160 mmHg'dan yükseğe çıkması omuriliğin yaralanan bölgesinin kan akımını belirgin derecede arttırmadığı gözlemlenmiştir (85,86).

3.2.3. Biyokimyasal Etkiler:

Akut spinal kord yaralanmasında biyokimyasal bozukluklar ve eşlik eden sıvı-elektrolit bozuklukları önemli bir rol oynamaktadır. Eksitatör nörotransmitterlerin salınarak birikip bunların spinal kord dokusuna direkt hasar verdiği hipotezi ileri sürülmüştür(89). Elektrofizyolojik çalışmalar, nörotransmitter olarak işlev yapan aminoasit ileticilerin iki grupta toplanabileceğini göstermiştir. Eksitatör aminoasitler iki karboksilik asit grubu içerirler (L-Glutamik asit ve L-Aspartik asit), inhibitör aminoasitler ise monokarboksiliktir (Gama aminobütirik asit, Glisin, Taurin, Prolin, B-

Alanin). Glutamat santral sinir sisteminin en önemli eksitator nörotransmitteridir (18).

Omurilik yaralanması takiben dakikalar içinde Glutamat ve aspartat salınımının arttığı gösterilmiştir. Orta şiddetli yaralanmalarda 2-4 kat yükselme olurken, şiddetli yaralanmalarda 10 kat kadar yükselme olabilir. Glutamat, yaralanmadan sonra 15 dakikada tepe değerine ulaşırken 120 dakika kadar yüksek kalabilir (44).

Glutamatın duysal iletimin sağlanmasında, ayrıca motor aktivite, hafıza, öğrenme ve spinal reflekslerin düzenlenmesi gibi birçok fonksiyonda rol aldığı düşünülmektedir (42).

Aspartatın da spinal korda eksitator ara nöronlarda iletilmesi, motor ve spinal reflekslerin düzenlenmesinde rol alması olasıdır(42).

Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve ark. tarafından tanımlanmış ve eksitotoksitite olarak isimlendirilmiştir (18,43). Bu eksitotoksitenin epilepsi, nörodejeneratif hastalıklar, travma, serebral iskemi gibi birçok nörolojik hastalıkta doku hasarını arttırdığı düşünülmektedir (43).

Glutamat reseptör aktivasyonu; intrasellüler sodyumun birikimi, sitotoksik ödem ve intrasellüler asidoza neden olup, Na-K-ATPaz bozukluğu, sodyum ve suyun daha fazla intrasellüler birikimini ve potasyumun ekstrasellüler kaybını arttırmaktadır (70). Ek olarak intrasellüler kalsiyum birikerek fizyolojide ve takip eden hasarda önemli değişikliklere neden olmaktadır. İntrasellüler kalsiyum birikimi kalsiyuma bağımlı proteazların ve lipazların aktivasyonuna yol açar. Bu enzimlerin aktivasyonu hücre membranının ve nöroflamanların hasarına neden olur (45).

Glutamat nörotoksitesi reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumuna da yönetilmektedir. Eksitotoksitite; özellikle NMDA reseptörleri tarafından yönetilen, en sonunda nöronal ölüme yol açan, lipid peroksidasyonu, Na-K ATPaz aktivasyon inhibisyonu, membran sodyum kanallarının inaktivasyonu, mitokondri solunum zinciri enzim inhibisyonu, gliseraldehit 3P dehidrogenaz inaktivasyonu ve önemli proteinlerin diğer oksidatif modifikasyonları gibi mekanizmalara neden olan kompleks olayları başlatmaktadır (90).

Omurilik yaralanmasında glutamat antagonistleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. N-methyl D-Aspartate (NMDA) reseptör antagonisti olan 3-propyl-L-phosphonic acid (CPP) ve dizocilopine (MK-801) ile yapılan çalışmalar travmatik ve

iskemik omurilik hasarında histolojik ve klinik iyileşmeye neden olduklarını göstermiştir (46).

GABA beyindeki ana inhibitör transmitterdir. İyonotropik GABA_A ve GABA_C (Cl⁻ iyonu geçişine izin verir) ve metabotropik GABA_B (G proteinlerine bağlı olup K⁺ kanallarında geçirgenliği artırırken adenilil siklazı ve buna bağlı Ca⁺ akışını inhibe eder) bilinen üç GABA reseptörüdür. GABA_A çok sayıda ilaç için hedeftir. Benzodiazepinler GABA_A üzerinden etkiyerek hücre içine Cl⁻ akışını artırır ve güçlü aksiyolitik, kas gevşetici, antikonvülzan ve sedatif etkiler oluşur. Barbitüratlar ve alkol de kısmen Cl⁻ kanalları üzerinden Cl⁻ geçişini artırırlar. Barbitüratlar GABA yokluğunda direkt olarak bu reseptörleri uyarırlar(31).

Gabapentin, bir inhibitör nörotransmitter olan GABA' nın yapısal analogu olarak dizayn edilmiştir(91). Gabapentin iskemi modeli(hayvan modellerinde) antikonvülzan, antinosiseptif, anksiyolitik ve nöroprotektif etkinliğinde farklı mekanizmalar rapor edilmiştir. İn vitro ve in vivo çalışmalarda, Gabapentinin GAD aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. Bu da beyin dokusunda GABA' nın glutamattan sentezini arttırmaktadır(92,93). Gabapentin iskemi model Gabapentin, GABAA ve GABAB' de veya beyindeki GABA alım taşıyıcılarında etkin değildir. Gabapentinin, beyinde voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının alfa2delta alt üniteleri ile birlikte bulunan bağlanma bölgelerine yüksek afinitesi vardır.

Araşidonik asit, eikosanoid ve prostoglandinlerin travma sonrası aşırı üretimi lipid peroksidasyonuna neden olur ve serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasına yol açarak hücre hasarına neden olur (31).

Endojen opioidlerin travma sonrası lokal ve sistemik dolaşıma etkilerinin sekonder hasara neden olduğu bildirilmektedir (43).

3.2.4. Elektrolit Dengesizlikleri:

SSS'nde yaralanmayı takiben nöronal dejenerasyonun patogenezinde Ca⁺'a karşı oluşan membran geçirgenliğindeki değişiklikler önemli yer tutar(94). İntraselüler Ca⁺ artışı proteazların, endonükleazların aktivasyonuna apoptoz, nekroz, mitokondrial hasar ve asidoza öncülük eder ve artmış Serbest Radikal

üretimi aksonal yaralanma ile sonuçlanır(31). Ekstrasellüler 1mM konsantrasyonunda bulunan serbest kalsiyum, istirahat halindeki hücrede intrasellüler olarak 0. 1 VM konsantrasyonda bulunan serbest kalsiyumun yaklaşık 10 bin katı yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır(95). Spinal kord yaralanmasında, bu büyük gradient farkı ile hücre içine kalsiyum iyon girişi olur. Kalsiyumun travma sonrası hücre içine girişi 3 yolla olmaktadır:

- 1) Hasar görmüş olan hücre membranından,
- 2) Voltaja duyarlı kalsiyum kanallarından,
- 3) Glutamat ile aktive olan kalsiyum kanallarından.

Kalsiyumun hücre içine girmesi nörotoksisiteyi tetikler(47). Hücre içinde aşırı kalsiyum birikimi sonucunda, serbest yağ asitlerinin salınımı, fosfolipaz A2 aktivasyonu, Ca^{+2} bağımlı Adenozin 5'trifosforilaz aktivasyonuna bağlı enerji rezervlerinin tükenmesi, toksik eikosanoid sentezi, serbest radikal oluşumu, reseptör proteinlerin kovalent modifikasyonu, hücre iskeletinin mikrotubuler ve nörofilament komponentlerinin modifikasyonu, mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması, aksonal dejenerasyon, proteaz, fosforilaz, endonükleaz gibi litik enzimlerin aktivasyonu meydana gelir(28). Kalsiyum kanal blokörlerin sekonder hasara yönelik çalışmalarda denenmiş ve iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğine dair sonuçlar elde edilmiştir (48).

Omurilik travmasında elektrolit konsantrasyonundaki anormallikler ile gradient değişiklikleri olduğu görülmüştür. Na^{+} 'un hücre içine girmesi ve hücre dışında K^{+} konsantrasyonu artmasının aksonal iletimi durdurduğu gösterilmiştir(31). Dekametazon tedavisi yaralı spinal korddan K^{+} kaybını önlemiştir. Bu belirgin posttravmatik motor fonksiyon düzelmesi ile birlikte olmuştur (96). Kalsiyum'un hem Na^{+} , K^{+} akımında önemli rolü olduğu, hem de bazı nörotransmitterlerin depolanması ve salınmasında rolü olduğu saptanmıştır (31).

Kalsiyum ile aktive olan fosforilazlarda nitrik oksit sentetaz gibi enzimleri aktive eder ve bunun sonucu açığa çıkan nitrik oksit de Na^{+} geçirgenliğinde artmaya neden olur (31,85).

Sodyuma bağlı hücre yaralanmasının potansiyel mekanizmaları;

1. Sitotoksik ödem indüksiyonu,
2. İntraselüler fosfolipaz aktivitesinin stimülasyonu
3. Na⁺/H⁺ kapısı yolu ile intraselüler asidoz
4. Na⁺/Ca⁺ değiştiricisinin ters çalışması ile intraselüler Ca⁺ artışı

3.2.5. Serbest Radikal Oluşumu ve Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikaller dış yörüngelerinde fazladan (çiftlenmemiş) bir elektron bulunduran moleküllerdir (49). Elektronlar, dış yörüngelerinde çiftler halinde bulunduklarında o bileşik daha kararlı ve sabit bir yapıya sahip olur. Eksik elektronlu moleküller ise kararlı değildirler. Kolaylıkla elektron alıp vererek, herhangi bir molekül ile reaksiyona girebilirler. Serbest oksijen radikallerinin yarı ömürleri çok kısa olmasına rağmen genel olarak çok reaktiftirler(97). Serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun organ ve dokularda meydana getirdiği hasar ve hastalıkların patogenezindeki rolleri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Yaşlanma, dejeneratif hastalıklar, yanıklar, akciğer hastalıkları, karsinogenez, diabet, ateroskleroz ve katarakt oluşumundaki etkileri birçok çalışmada kanıtlanmıştır (98). Yoğun serbest radikal oluşumunun önlenmesi hücre yaşamı için önemli bir hayati ilk adımdır(26). Reaktif oksijen türevleri arasında süperoksit radikal (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikal (OH[•]), perhidroksi radikali (HO₂[•]) ve organik peroksi radikal (ROO[•]) sayılabilir Mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit radikali oluşur. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksiti hidrojen peroksite, katalaz enzimi de hidrojen peroksiti H₂O ve O₂ ye dönüştürür. Ortamda demir (Fe²⁺) gibi katalizörlerin varlığında hidrojen peroksit hidroksil radikale dönüşür(99).

Serbest radikaller normal koşullarda mitokondride oluşur ve antioksidan sistemler ile zararlı etkileri engellenir. Hücrenin maruz kaldığı iskemi ve bunu takip eden reperfüzyon esnasındaki serbest oksijen radikali artışı karşısında, endojen antioksidanlar, serbest oksijen radikal temizleyicileri ve peroksidazlar yetersiz kalmaktadır ve hücre ölümü gelişmektedir (50).

Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller enzimatik antioksidan mekanizmalar (sitokrom oksidaz sistemi, SOD'ler, katalazlar, glutatyon peroksidazlar) ya da nonenzimatik antioksidanlar (toko-ferol, karoten, glutatyon, askorbik asit, ürat, sistein, bilirubin, albumin), ya da metal bağlayıcılar (seruloplazmin, transferrin, laktoferrin) ile inaktive edilerek doku hasardan korunur (100,101).

SSS, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına daha yatkındır. Ayrıca serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilen doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile serbest radikal oluşma reaksiyonlarını katalizleyen askorbik asit ve demirin fazla miktarda olması, SSS' nin travmatik ve iskemik yaralanmadan daha çok etkilenmesine neden olur (50,51).

Serbest radikaller hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler ancak bu etkileşime en hassas yapılar lipidlerdir(52). Yüksek oranda poliansatüre yağ asitleri içeren hücre membranının yıkılması, serbest radikallere bağlı nöronal hasar oluşmasının en önemli aşamasıdır (53).

Serbest yağ asitlerinin serbest radikal ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyonu bir kez başladığında, demir özellikle lipid hidroperoksitleri oluşumunda önemli rol oynar. Fe^{+2} ; Fe^{+3} ve demir şelatları ile reaksiyona girerek yeni radikallerin oluşmasına neden olur(50,51). Omurilik yaralanmasından sonra kanamayı takiben hemoglobin, ferritin ya da transferinden demir ağığa ęıkar. Serbest demir veya demir şelatları iki seviyede serbest radikal oluşumunda etkili olur Demirin katalizlediği membran fosfolipidlerinin oksidasyonu neticesinde membran paręalanır ve hücre ölür. Ayrıca serbest oksijen radikallerinin yaptığı endotel hasarına bağlı olarak kan omurilik bariyeri bozulur (102).

Vücutta aşırı serbest radikal oluşumunu engelleyen ya da oluşmuş olan serbest radikalleri yok etme işlevine sahip biręok antioksidan mekanizma mevcuttur. Bunlar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi reaktif O_2 radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri, α -tokoferol, askorbat, ürik asit, glutatyon, betakaroten gibi radikal nötralizatörleri ve Haber-Weiss reaksiyonunu katalize eden demir ve bakırı bağlayan ferritin, transferin, serüloplazmin gibi reaktif O_2 radikallerinin oluşumunu ve yayılmasını

engelleyen, ayrıca mitokondride oluşan radikalleri suya indirgeyen sitokrom oksidaz gibi antioksidan sistemlerdir (55,56).

3.2.6. Ödem:

Ödemin yaralanma mekanizmasının bir sonucu mu olduğu, yoksa kendi başına mı hasar yarattığı tam bilinmemektedir. Ancak travma sonrası ciddi ve progresif bir ödem başlamaktadır. İskemi ile sodyumun hücre içinde artışı, sitotoksik ödeme neden olur. Ödem travma sahasının belli miktar rostralinde ve kaudalinde de görülür (31).

3.2.7 Apoptoz:

Apoptotik hücre ölümü indüklenebilir hücreler tarafından spesifik indükleyici bir uyarana aktif olarak regüle fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümüdür (103). Apoptosis terimi ilk kez Kerr ve arkadaşları tarafından 1972 yılında kullanılmıştır. Kerr fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını görmüş ve buna büzüşme nekrozu adını vermiştir(104).

Olayın, dokularda tek tek hücre kaybına sebep olduğundan latince ayrı düşmek anlamına gelen apoptozis denmiştir(Apo; ayrı, Ptozis; düşmek)(105). Apoptoz, protein sentezi ve enerji gerektiren hücrenin aktif ölümüdür(59). Primer olarak sistein proteaz enzimi olan kaspaz ailesinin üyelerinin, proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteinini bölerek aktiflemesi ile hücre ölümünün gerçekleştirilmesi esasına dayanır (18).

Kaspazlar nöronal apoptozda önemli bir yer teşkil ederler(60). Günümüze kadar 14 kaspaz rapor edilmiştir. Merkezi sinir sistemi yaralanmasında görülen apoptozda en önemli rol kaspaz 3'e aittir(61). Springer ve arkadaşları kaspaz-3 aktivasyonunun omurilik yaralanmasından 1 saat sonra 3 katına çıktığını göstermişlerdir(106). Emery ve arkadaşları omurilik yaralanmasından sonra oligodendrositlerde kaspaz-3 aktivitesinin artışı göstermişlerdir(107).

Apoptosis, genetik olarak kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla regüle edilir.

Embriyonik gelişim esnasında nöronal hücre ölümünün bir formu olarak apoptozis uzun zamandan beri bilinmektedir(26,104).

Merkezi Sinir Sistemin(MSS)'de apoptozis, hem nöronları hem de glial hücreleri etkiler. Glutamat, Kalsiyum iyonları, serbest radikaller, fas bağımlı protein faktörleri ve hücreler tarafından salınan sitokinler apoptozisin oluşumundan sorumludur (26,104,108).

Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü, omurilik yaralanmalarında önemli rol oynar ve glutaminerjik eksitotoksite, serbest radikal hasarı, sitokinler ve inflamatuvar yaralanma tarafından tetiklenir. Başlangıç yaralanmasından sonra spinal korda uygulanan travma ani fiziksel yaralanmaya neden olur. Günler ve aylarca süren doku yaralanması bu olayı izler. Sonuç olarak, hücre nekroza veya apoptozise giderek son bulur (26,104,108,109).

Yakın zaman önce yapılan çalışmalar antiapoptotik ajanların nöroprotektif olabileceğini göstermiştir. Li ve arkadaşları akut omurilik yaralanmasından sonra kaspaz-1 ve kaspaz-3 inhibisyonunun lezyon boyutunu küçülttüğünü ve nörolojik iyileşmeye neden olduğunu gösterdiler(110).

3.2.8.İnflamasyon:

Travmatik yaralanma doku tamirinde lökositlerin aktivitelerinin kritik olduğu inflamatuvar cevap başlar. İstilacı lökositler fagositoz ile hücrel debris kaldırırlar ekstraselüler matriksi gevşeten enzimler salgırlar ve yaralı bölgede endotelial epitelyal ve konnektif doku hücrelerinin proliferasyonunu yönlendiren sitokinler salgırlar (111,112).

Yaralanmayı takiben lezyonun içine aktive astrositler ve mikroglial hücreler göç ederler. T hücreleri makrofaj aktivasyonu için ve hücrel immün cevabı oluşturmak için şarttır. Makrofajlar ve nötrofiller doku harabiyeti ve lezyonun büyümesinde rol alırlar. Makrofaj ve mikroglia sitokinlerin salınımıyla (TNF, İL-1, İL-6, İL-10) sekonder patolojik ve inflamatuvar yanıtta rol alırlar. Sitokinler inflamatuvar yanıtı ek sitokinlerin, kemokinlerin, nitrik oksidin, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin ekspresyonunu

indükleyerek SSS enflamatuvar cevabını hızlandırırlar. Aktive lökositler yara iyileşmesi için önemli olan büyüme faktörleri ve proteolitik enzimleri de salgırlar. Enflamasyonun spinal kord yaralanması sonrası hem nörokonstrüktif hem de nörodestriktif işlemlere yardımcı olduğuna inanılır.

İL-1 beta enflamasyonun majör bir mediyatörüdür ve spinal kord yaralanmasından 1 saat sonra lezyon bölgesinde artış görüldüğü, travmadan en az 72 saat sonra bile belirgin olarak yüksek kaldığı saptanmıştır. İL-10 potent bir antienflamatuvar sitokindir. T hepler hücreleri, monosit, makrofaj, mikrogliya ve astrositler tarafından sentezlenirler (113).

İL-10'un TNF üretimini azalttığı ve spinal kord yaralanması sonrasında monositler ve immün hücreler üzerinde inhibitör etki yaptığı görülmüştür (28). İki bağımsız spinal kord yaralanma modelinde yaralanmadan 30 dakika sonra sistemik İL-10 uygulanmasını takiben sistemik enflamasyonun azaldığı görülmüştür. İL-10 nöroprotektiftir, ve motor fonksiyonu iyileştirir (113).

klirik çalışmalardaki patolojik değişiklikler arasındaki benzerliğin belirgin olmasıdır (31). SKY' nın yaralanma sonrası cevabı 3 faza ayrılır; akut faz, subakut faz ve kronik faz. (114).

4.1-AKUT DÖNEM

4.1.1-Makroskopik Görünüm

Spinal kord yaralanmasını takiben genellikle vertebral kolon etrafındaki yumuşak doku hemorajiktir ve kırık ya da kırıkdislokasyon görünür durumdadır. Kolonun bölündüğü piyeslerde kırık kısmı görünür haldedir. Ekstradural boşluklarda kan genelde görünür ve aynı zamanda kord etrafındaki subaraknoid boşluklarda da kan görülebilir. Kord komşuluğunda makroskopik hasar hafif fokal tutulumdan ciddi hemorajik distrupsiyona kadar gidebilir. Bu görüntü kırık seviyesinin üst ve alt birkaç segmentine kadar görülebilir(115).

4.1.2-Mikroskopik Görünüm

Spinal kord yaralanmasında mikroskopik görünüm yaralanmanın fazına göre değişir. Travma ile başlayan birkaç günü içerir. Histolojik görüntü ödem, belirgin aksonal şişmeyle birlikte uzun traktların bozulması, kanama ve enfarkt fokuslarının kombinasyonu şeklindeedir. Kan akımı azalır, iskemik nekroz oluşur (115,116).

Travmayı takiben 15 dakika içinde gri cevherde peteşiyal kanamalar, beyaz cevherde ise ödem olur. İkinci saat içerisinde gri cevher kanamaları artar, 8. saatten sonra beyaz cevhere yayılmaya başlar. Ön boynuz hücrelerinde arka boynuz hücrelerine göre daha erken nekroz görülür(117). 8-24 saatler arasında hemodinamik bozukluk ve nekroz ışık mikroskobu ile incelenebilir düzeyde olmuştur (117).

Kan damarlarının çoğu kısmen venüller, çok sayıda nötrofil içerir. Fakat hücrelerin pek azı ektravasküler görülür. Ya lezyon tarafında ya da komşu sağlam dokudadır. Postoperatif 12 saat sonra primer lezyon alanı büyümüştür. Lezyon kenarlarındaki sağlam hücreler morfolojik bütünlüklerini kaybeder ve belirgin hücresel profil artık izlenemez. Küçük kistler ve interaksonal boşluklar hacim ve sayıca artmıştır. Aksonal dejenerasyon zonu rostrokaudal olarak genişlemiştir. Artık nötrofiller kan damarlarından göç etmeye başlamıştır, primer lezyon bölgesinde ve komşu sağlam dokuda belirgindir. Fakat makrofajlar halen görülmemektedir (118).

Elektron mikroskopi çalışmalarında ise 5. dakikada aksonlar normal iken gri cevherdeki venüller eritrositlerle şişerler. 15-30 dakikada ise eritrositler kapiller ile venüllerin etrafına ekstreaze olurlar. 4. saatte myelin kılıflar yırtılır, aksonlar dejenere olur ve iskemik endotel zedelenmesi gelişir (119).

Santral hemoraji: Kapiller , venüller ve arteriollerden özellikle gri cevher içine
Hematomyeli
Uzak kanamalar- özellikle venöz
Santral hemorajik nekroz
Post travmatik infakt
Subaraknoid kanama
Subdural veya ekstradural kanamalar-nadir
Ödem: lokal, genişleyen
Aksonal hasar: transeksiyon, aksolemma rüptürü, şişme, dev aksonlar, organelkümelenmesi
Myelin kılıf hasarı: rüptür, veziküler ayrılma , periaksonal boşluklar
İnflamasyon:Makrofajlar, mikrogliya

Tablo 5: Akut spinal kord hasarının patolojisi

4.2.SUBAKUT DÖNEM

Omurilik yaralanmasından sonra 8. günde akut dönemdeki değışiklikler azalmaya başlamıştır. Ödem azalmış ve küçük kanamalar rezorbe olmuştur. Büyük kanamalar ise organizasyon ile giderilmeye çalışılır ve rekanalizasyon izlenir (85,120,121,122). Damarların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır. Ortamda lipid ve hemosiderin yüklü makrofajlar mevcuttur. Fagositik hücreler hasarın olduğu alanda özellikle damarlar çevresinde rozetler halinde gruplar oluşturur(85,120).

Myofibroblastların kollajen üreten fibrositlere dönüşümü ile nedbe dokusu oluşurken, gliosis izlenir. Asroitik yanıt yaralanmadan 14 gün sonra maksimum düzeye ulaşır(120,121,122).

Eğer santral hemorajik nekroz oluşmuşsa, onarım boru şeklinde kistik boşluk olarak gerçekleşir. Aksonal bağlantısı kesilmiş nöronda "santral kromatolizis" olarak adlandırılan sitoplazmanın belirgin homojenizasyona uğradığı ve şiştiği, çekirdeğin ise kenara itildiği değişiklikler görülür(120,121,122).

Nöron hücrelerinin aksonunda kesi olduğunda, aksonun distal kısmında Wallerian dejenerasyonu meydana gelir. Yaralanmanın başlangıcında ödem ve kanama nedeniyle şişmiş olan omurilik onarım sonuna doğru inceler ve atrofik görünüm alır(85, 120,121,122).

Deneysel çalışmalarda rejenerasyonun üç yıla kadar yavaş hızla devam ettiği gösterilmiştir (123).

4.3.KRONİK DÖNEM

Travma sonrasında 6 ay ve daha geç dönemde izlenen değişikliklerdir (65). (Tablo6). Travma bölgesinde spinal kord üzerinde dura mater ve araknoid membran kalınlaşmıştır. Meningial zar, adeziv araknoidit olarak isimlendirilen korda veya duraya yapışıklık gösterir. Mikroskopik olarak fibrozis ve meningeal hücre proliferasyonu görülür. BOS ile dolu kistik kaviteler gelişir. Bunlar santral kanal ile birleşebilir.

Spinal kord makroskopik olarak büzülerek küçülmüştür, gri ve sert kıvamlıdır. Skar dokusunun yanı sıra bazı nöronlarda aksonal rejenerasyon, Schwan hücrelerinde remiyelinizasyon görülebilir (123).

Santral Kavitasyon
Aksonların devamlı subpial rimi
Posttravmatik infarkt
Posttravmatik syringomyeli
Kistik myelomalezi
Uzak nekrotik odak
Demiyelinizasyon
İnflamasyon
Wallerian dejenerasyon
Skar ve gliozis
Araknoidit
Atrofi
Rejeneratif süreçler-Aksonlar,Schwan hücreleri,epandim

Tablo 6:Spinal kord hasarında kronik dönemde izlenen patolojik bulgular

5-İNSAN SPİNAL KORD YARALANMASIYLA DENEYSEL MODELLER ARASINDAKİ BENZERLİKLERİ VE FARKLILIKLARI

Spinal kord yaralanmasındaki morfolojik değişimler insanlarda ve kemiricilerde benzerdir. İnsanlarda inflamatuvar komponent daha az etkilidir. Ratlarda spinal kontüzyonda sitokinlerin hızlı artışı insanlarla benzerdir (124). İnsanlarda ratlara göre astroglial yanıt belirgin şekilde azalmış ve gecikmiş olup ılımlı bir astroglial skar gelişir(125). Spinal kord hasarında Schwann hücre yanıtı insanlarda sık kemiricilerde ise daha az sıklıkta görülür.

İnsan omurilik yaralanmasını taklit etmek için birçok deneysel model geliştirilmesine rağmen bu modellerin bazı eksiklikleri vardır. Çeşitli kompresyon veya kontüzyon modellerinin birebir aynı patofizyolojik mekanizmalara sahip olmadığı bilinmelidir. Örneğin, ağırlık düşürme modeli sadece ilk darbenin

travmasını taklit eder, devam eden sıkışma kuvvetini ihmal eder. İnsanda oluşan spinal travmalarda, anterior veya anteroposterior omurilik kompresyonu olduğu halde, deneysel hayvan modellerinde çoğunlukla posterior kompresyon yaratılmaktadır. Bu nedenle, bir ilacı denerken tek bir model kullanmanın, klinik etkinliği değerlendirmedeki önemi kısıtlı kalacaktır(26). İnsanlarda ve kemirgenlerde spinal kord yaralanmasında oluşan cevaplar tablo 7’de karşılaştırılmıştır.

Dejeneratif Proçesler	KEMİRGEN	İNSAN
Vasküler Yanıt	Hemoraji, anjiogenezis	Hemoraji, anjiogenezis
İnflamasyon	Aşırı	Daha az
Demiyelinizasyon	Evet	Evet; daha az oranda
Aksonal Dejenerasyon	Wallerian dejenerasyon	Wallerian dejenerasyon
Glial Skar	Aşırı	Aşırı değil
Kist Oluşumu	Rat; Evet, Fare; Hayır	Evet
Schwann hücre yanıtı	Az oranda invazyon	Aşırı invazyon
Rejeneratif Proçesler		
Sinir liflerinde filizlenme	Evet	Evet
Remyelinizasyon	Evet	Evet
Sinir liflerinin uyumu	Evet	Evet

Tablo 7: İnsan ve kemirgenlerde spinal kord yaralanmasında cevabın karşılaştırılması (126)

6-SPİNAL KORD YARALANMASINDA MODERN FARMAKOLOJİK YAKLAŞIMLAR

Akut omurilik yaralanmasının tedavisine yönelik çalışmalar, primer hasardan ziyade sekonder hasar mekanizmalarını engellemeye odaklanmıştır (48). Geçmişten günümüze kadar akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgiye sahip olmamıza rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili, aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunamamış olması nedeniyle, özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir(2). Nöroprotektif etkilerinden dolayı deneysel omurilik yaralanma modellerinde denenilen çok sayıda maddeden (Tablo 8) sadece birinin; metilprednizolonun, kontrollü, çok merkezli, geniş klinik çalışmalarda, insanlarda fonksiyonel iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir. Faydaları konusunda karşıt fikirler olmasına rağmen, metilprednizolon, günümüzde klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (26).

Spinal kord travmasına uğramış kişiler, sempatik tonus kaybına bağlı olarak, vasküler tonusta azalma ve kanın periferde göllenmesi ile hipotansiyon, bradikardi ve soğuk ekstremitelerden oluşan triad tablosu ile karşımıza nörojenik şok tablosunda çıkabilirler(1). Bu aşamada etkili tedavi, iskemik hasarın şiddetlenmesine neden olabilecek sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyondan korunmaya yönelik olmalıdır(48,1). İnvaziv hemodinamik monitörizasyon ile vasopressör destek ve sıvı tedavisinin özenle uygulanması, tedavi sürecinin ilk basamağını oluşturmaktadır(1). Başlangıç resüstasyon değerleri temin edilince, nörolojik fonksiyonları geliştirmeye ve devamına yönelik cerrahi ve/veya spesifik patofizyolojik hedeflere yönelik farmakolojik tedavi yöntemleri değerlendirilmelidir(1).

Geliştirilmeye çalışılan farmakolojik tedavi protokollerin amacı ilerleyici nöral hasarın azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekinin en aza indirilmesidir (48).

Omurilik yaralanmaları akut, iyileşme ve kronik dönem olmak üzere üç döneme ayrılabilir. Akut yaralanma fazı, yaralanma esnasında başlar, yaralanmanın şiddetine bağlı olarak birkaç saat ile birkaç gün içinde gelişen hasar sürecini kapsar. İyileşme fazı, birkaç saat içinde başlayabileceği gibi aylarca veya yıllarca sürebilen fonksiyonların geri dönme sürecidir. Kronik faz ise fonksiyonel iyileşme sürecini kapsar(71).

Akut tedaviler

Akut tedaviler nöroprotektif ilaçları içerir ve dört gruba ayrılır:

- Antioksidanlar,
- Nörotransmitter reseptör blokerleri,
- Fosfokinaz stimulatörleri,
- Fosfataz inhibitörleri.

Kronik tedaviler

Rejenerasyon ve remiyelinizasyon yoluyla fonksiyonların iyileşmesini sağlar.

İyileştirici tedavi üç kategoride incelenir:

- Büyüme ve büyümeyi inhibe eden faktör blokerleri,
- İntrasellüler haberci modulatörler,
- Nakledilebilen hücreler veya materyaller

Metilprednizolon
Gangliozyd (GM-1)
Larazoidler (TRİLAZAD MESİLAT)
Opioid antagonistleri (NALOKSAN)
Eksitator aminoasit antagonistleri
Kalsiyum kanal blokerleri
Potasyum kanal blokerleri
Serbest radikal tutucuları
Antiinflamatuvar ajanlar
Nörotransmitter reseptör agonistleri
Nörotropik faktörler
Fetal doku transplantasyonu
Nötralizan antikorlar
Melatonin
Hiperbarik oksijen
Sistemik hipotermi

Tablo 8: Omurilik Hasarında Potansiyel Olarak Etkili Olabilecek İlaçlar (71)

6.1- Kortikosteroidler

Metilprednizolon sentetik bir glukokortikoid drogdur. Kortikosteroidlerin başlangıçta kullanımı spinal ödemi azaltıcı etkisine ve anti-inflamatuvar özelliğine bağlanmıştır(128).

Metilprednizolon daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle diğer kortikosteroidler olan deksametazon ve hidrokortizona göre klinik çalışmalarda ön plana çıkmıştır(129). Güçlü anti-inflamatuvar etkisiyle birlikte akut omurilik yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir(1).

Metilprednizolonun spinal kord hasarındaki etki mekanizması; lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımının ve aerobik enerji

metabolizmasının düzenlenmesi ile ilerleyici posttravmatik iskemiden korunma, nöroflament degradasyonunun inhibisyonu, intrasellüler kalsiyum birikiminin engellenmesi, vasoaktif prostoglandin F2 α ve tromboksan A2 formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir(1).

Spinal kord hasarında metilprednizolon tedavisinin incelendiği ilk geniş klinik çalışma (The National Acute Spinal Cord Injury Study) NASCIS I'dir. NASCIS II, 1985 ve 1988 yılları arasında yapılmıştır(130). Hastalar metilprednizolon (30 mg/kg bolus, ve takiben 23 saat süreyle 5,4 mg/kg/saat devamlı infüzyon), naloksan ve plasebo ile tedavi edilmişlerdir. Metilprednizolonun, ilk 8 saat içinde uygulandığında, nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Naloksan veya geç metilprednizolon uygulaması hiçbir olumlu etki göstermemiştir. 1998'de sonuçlanan NASCIS III, metilprednizolonun 24 saat veya 48 saatlik uygulamasının, 21aminosteroid tirilazad mesylate ile etkinliğinin karşılaştırılması için planlanmıştır.

Akut omurilik yaralanması olup, yaralanmanın ilk 3 saatinde metilprednizolon alan hastaların 24 saat süre ile idame tedavisi almaları gerekirken, travmadan sonraki 3 ile 8 saatte gecikmiş steroid tedavisi alan hastaların 48 saat idame tedavisi almaları gerektiği gösterilmiştir. Tirilazadm, metilprednizolona göre daha güçlü bir lipid peroksidasyon önleyici olmasına ve minimal glukokortikoid aktivitesine sahip olmasına rağmen, NASCIS III, bu 21-aminosteroidin klinik kullanımı için mantıklı bir açıklama getirememiştir(131). Ancak şu da belirtilmelidir ki, NASCIS II çalışmasına karşıt görüşler süregelmektedir ve pek çok araştırmacı metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır(132,133).

6.2-Ganglioidler

Asidik glikopeptidler olup santral sinir sistemi hücrelerinin membranlarının dış yaprağında yüksek konsantrasyonda bulunur. Monosialotetraheksosilganglioizid (GM-1 Ganglioizid) SSS'de nöronların aksonlarında, miyelin kılıflarında ve beyaz cevher içerisindeki glial hücrelerde bulunur(133,134).

GM-1 Ganglioizidleri hayvan deneysel çalışmalarında ve klinik çalışmalarda değerlendirilmiştir. 1991 yılında Geisler ve arkadaşları akut spinal kord yaralanmalı hastalarda GM-1 kullanımı sonuçlarını yayınlamışlardır. Nörolojik değerlendirme

Frankel skor ve ASIA motor skor ile değerlendirilmiştir. Plasebo grubuna göre GM-1 verilen grupta nörolojik iyileşme belirgin olmuştur. GM-1 hastalarındaki motor iyileşme paretik kasların güçlenmesi şeklinde değil, paralize kas grubunda gücün tekrar kazanılması şeklinde açıklanmıştır. GM-1 kullanımına bağlı yan etki görülmemiştir. Yazarlar GM-1 kullanımının AMSY sonrası etkili olduğunu ve ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu vurgulamışlardır.

1992 yılında, çok merkezli AMSY çalışmasında GM-1 kullanımı etkilerini gösteren bir çalışma başlatıldı. Bu çalışma prospektif, çift-kör bir klinik çalışma olup 797 hastayı kapsayan ve 1997 yılında bitirilen bir çalışma idi. Tüm hastalara NASCIS II protokolündeki MP dozu verilmiştir. Hastalar randomize şekilde 3 gruba ayrılmıştır: plasebo, düşük doz GM-1 (300 mg yükleme dozu ve 56 gün boyunca 100 mg/gün idame) ve yüksek doz GM-1 (600 mg yükleme dozu ve 56 gün boyunca 200 mg/gün idame). 23 saat sonunda MP tedavisinin bitimini takiben plasebo veya GM-1 tedavisine başlanmıştır. 26. haftada gruplar arasında motor iyileşme bakımından anlamlı fark bulunamamıştır. Özet olarak, eldeki kanıtlar GM-1 tedavisinin akut medulla yaralanmalarında anlamlı bir şekilde yararlı olabileceğinin desteklememektedir(135).

6.3-Aminosteroidler (Lazoroidler)

21 aminosteroiddir. Steroid olmasına rağmen steroid yan etkilerini taşımaz. antioksidan özelliği daha çoktur. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Membranı stabilize eder. U 74600 F (tirilazad mestilat) beyin ve spinal kord hasarı üzerinde denenmiştir. (27,31,138)

And ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada, tirilazad mestilat (TM) verilen kedilerde plasebo grubuna göre travma sonrası 4. haftada daha anlamlı düzelme olduğu gösterilmiştir(138). Yine Hall ve ark. 10 mg/kg TM verilen kedilerde spinal kord kan akımının plasebo ve 3 mg/kg TM grubuna göre ciddi derecede yüksek olduğu gösterilmiştir(136).

Yapılan NASCIS 3 çalışmasında; TM verilen grubun 24 saat metilprednizolon uygulanan gruba benzer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiş, ancak TM grubuna da başlangıçta bolus metilprednizolon verilmiş olması etkinin neye bağlı olduğu

konusunda net sonuca ulaşılmamasına neden olmuştur. Bu nedenle TM ile ilgili ciddi planlanmış çalışmalara gereksinin olduğu bir gerçektir(138).

6.4- Opioid Reseptör Antagonistleri

Akut omurilik yaralanması sonrası endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, sekonder hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır(138). NASCIS 2 Dinorfin kappa reseptörleri üzerinden etkilidir. Naloksan ve tiotropin releasing hormon gibi endojen antagonistler bazı havyan modellerinde spinal kord kan akımını artırıp nörolojik defisitleri azaltmışlardır(28).

Naloksan; ve birçok deneysel çalışmada omurilik yaralanması sonrası nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir. NASCIS 2 çalışmasının bir parçasını oluşturan Naloksan'ın plaseboya üstünlüğü gösterilememiş, ancak daha sonra yapılan veri analizlerinin tekrar değerlendirmelerinde travma sonrası ilk 8 saat içerisinde verildiğinde, lezyon altında düzelmenin plaseboya oranla çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte spesifik opioid reseptör antagonistlerinin daha faydalı olacağının düşünülmesi mümkündür. Opioid antagonistlerin ilaç doz programı ve tedavi zamanlamasının tespiti için başka çalışmalara ihtiyaç vardır(139).

6.5.Eksitatör Aminoasit Antagonistleri:

Eksitatör aminoasitler hücre içine kalsiyum iyonunun girişini başlatırlar. Kalsiyumun hücre içine girişi hücre ölümüne kadar giden bir reaksiyon zincirini başlatır. MK-801 ve GK-11, NMDA reseptör antagonistleridir. Deneysel çalışmalarda bu reseptörlerin hücre içine kalsiyum girişini önleyerek nörolojik fonksiyonlarda belirgin düzelme yaptığı saptanmıştır. En önemli eksitatör nörotransmitter glutamattır. Glutamat metabotropik ve ionotropik reseptörler aracılığıyla etkisini gösterir. Bu reseptörler NMDA, α -amino 3-hydroxy-5-methylisoxazile-4-propionic acid (AMPA) ve kainate (KA) reseptörleridir. GYKI 52466 AMPA reseptör antagonisti

olup deneysel çalışmalarda akut omurilik yaralanmalarından sonra önemli terapötik nöroprotektif etkili olduğu bildirilmiştir (65-71).

6.6-Kalsiyum Kanal Blokörleri

Yaralanma ve iskemi sonrası hücre membramının hasara uğraması sonucunda kalsiyum kanallarının depolarize olması sonucu hücre içine kalsiyum akışı olur(65-71). İntrasellüler kalsiyum birikimi direk nörotoksik etkisine ek olarak, vasküler düz kas hücrelerinde vazospazma yol açar. Bununla ilişkili olarak kalsiyum kanal blokörlerinin yararlı etkilerinin travma sonrası mikrovasküler yapılarda oluşan vazospazma yönelik koruyucu özelliğine bağlı olabileceği düşünölmektedir.(140)

Dihidropridin grubu kanal blokörlerinden Nimodipin üzerinde en çok çalışılmış ajandır. Yapılan deneysel çalışmalarda Nimodipin'in yararlı etkilerinin ancak travma öncesi başlandığında ortaya çıktığının görölməsi, tedavinin klinik kullanımda öneminin ve pratikliğinin sınırlandırılmasına neden olmuştur(48).

6.7 -Sodyum Kanal Blokörleri ve Magnezyum

Başlangıç travma sonrası hücre içi Na^{+2} miktarında ciddi bir artış söz konusudur. Bu nedenle sodyum kanal blokajının sekonder hasarın şiddetlenmesinin engellenmesinde önemli olabileceği düşünölmektedir.(48) Potent güçlü bir voltaja bağlı Na^{+} kanal blokeri olan Tetrodotoksin (TTX)' in fokal mikroyeksiyonu Spinal kord yaralanması'ndan sonra nörolojik defisitleri ve doku kaybını azaltır. Yaralanmadan 8 hafta sonra belirgin kurtarılmış beyaz cevher göröölür. Bu fonksiyonel defisitlerin azalması ile eř zamanlıdır. TTX tedavisi büyük çaplı aksonların kaybını belirgin azaltmıştır Yaralanma sonrası intraselüler Na^{+} yükselmesini önlemek bu yapılardaki yıkımı azaltabilir. İnternal Ca^{+} regölasyonunu koruyabilir. TTX sodyuma bağlı mitokondri ve DER gibi önemli organellerin yıkımını azaltabilir. Böylece mitokondri gibi hücresel fonksiyonları yürüten yaşamsal bir metabolik enerji kaynağı korunmuş olur. TTX tedavisi aksonal patolojinin azaltılmasını sağlar (141, 142)

Schwartz ve Fehlings yaptıkları deneysel bir çalışmada, bir sodyum kanal blokörü olan Riluzol'ün sistemik uygulanmasında ciddi nöroprotektif etkileri olduğunu gösterdiler(143).

Spinal kord yaralanmasında sonra MgSO₄ nöroprotektif özellik göstermiştir. NMDA reseptör blokajı ile nöral yapılarda glutamat toksisitesini önler Magnezyum'un lipid peroksidasyon yan ürünlerini glutamat antagonizmasından kaynaklanan indirekt etkisi ile azalttığına inanılmaktadır(144). Yüksek doz magnezyum tedavisinin (600 mg/kg MgSO₄) farelerde akut spinal kord hasarı sonrası aksonal fonksiyonlarda anlamlı gelişme sağladığı ve lipid peroksidasyonunda ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir (140,145).

6.8- Potasyum Kanal Blokerleri

Omurilik yaralanması sonrası miyelin kaybı olmaktadır. Miyelin kaybı aksonların internodal bölgelerinde potasyum kanallarının açılmasına, nöron içine potasyum akışına neden olur(65-71). Artmış ekstraselüler potasyum nöronların depolarize olmasına yol açar. Bu da nöronal iletimi etkiler ki bu durum spinal şokun altında yatan kritik sebebidir(18). Demyelinize aksonlara K⁺ girişini önlemek için tasarlanan bir K⁺ kanal blokörü olan 4 aminopiridin ile farmakoterapi sonrası inkomplet spinal kord yaralanmasında fiziksel tıp yöntemleri ve rehabilitasyonda kronik fazda fonksiyonel iyileşme gösterilmiştir (146).

6.9- Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar

Hayvanlarda SSS mekanik travması sonrasında reaktif oksijen türevlerindeki belirgin artışı artık çok iyi bilinmektedir. Reaktif oksijen türevleri (ROS) inhibisyonu çeşitli yaralanma tipleri sonrasında davranışsal ve fonksiyonel iyileşme sağlayabilir. Dokunun oksidatif stresini azaltmanın, sekonder nöron hasarını azaltmada efektif bir farmakolojik yaklaşım için potansiyel bir hedef olduğu düşünülmektedir(147). Akut omurilik yaralanması sonrası lipid peroksidasyonu endojen antioksidanlar tarafından azaltılmaktadır(148). Ancak travma sonrası α-tokoferol, retinoik asid, askorbik asid, selenyum, koenzim q gibi ubikinonlar benzeri antioksidanların seviyeleri hızla

düşmektedir(135). Bu nedenle antioksidanların replasmanı lipid peroksidasyonuna bağlı hasarın azaltılmasında etkili olabilir.

Deneyssel spinal kord hasarı çalışmalarında vitamin A ve vitamin C tedavisinin faydalı olduğu gösterilmiştir(48). Yine yapılan birçok SSS yaralanma modelinde α - tokoferol tedavisinin doku hasarını azalttığı gösterilmiştir(26).

6.10- Antiinflamatuvar Ajanlar

Yapısal yönden çeşitli farklılıklar olmakla birlikte NSAİ ilaçların hepsi COX enziminin etkilerini baskılayarak prostaglandin (PG), tromboksan A2 (TxA2) ve prostasiklin oluşumuna engel olur(149). Prostasiklin (PGI2) vasküler endotelden salınan güçlü vazodilatör ve platelet agregasyon inhibisyon etkisi olan doğal bir arakidonik asit metabolitidir(150).

Hallenbeck ve ark. yaptığı bir çalışmada PGI2'nin bulunduğu kombine tedavinin travma sonrası nörolojik fonksiyonlarda plaseboya göre anlamlı iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Siklooksijenaz inhibitörleri, tromboksan sentetaz inhibitörleri ve prostaglandin I2 ile yapılan kombine tedavinin sıçan omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir(48,26).

6.11-Nörotransmitter Reseptör Antagonistleri

Spinal aksonlar, GABA, norepinefrin ve serotonin (5-HT) gibi reseptörlere sahiptir. Çeşitli ilaçlar bu nörotransmitterlerin endojen düzeylerini arttırabilirler. 5-HT₂ reseptör agonisti kipazin, çeşitli adrenerjik agonistler ve GABA antagonistleri, spinal aksonlar üzerinde kuvvetli eksitator etkiye sahiptirler. Bu reseptörlerin antagonistleri de özellikle GABA, 5-HT ve adrenerjik antagonistlerin deneyssel omurilik hasarı modellerinde nöroprotektif etkili olduğu yayınlanmıştır (65-71).

6.12-Nörotrofik Faktörler

Nöronların yaşam süresini uzattıkları ve nekrotik alanları azalttıkları bildirilmiştir. NT3, omurilik yaralanmalarından günler veya haftalar sonra hasarlanmış aksonlarda görülen atrofi ve retrograd hücre ölümlerinin önlenmesi amacıyla verilmiştir(65-71).

6.13-Spinal Kord Onarımı ve Hücresel Transplantasyon

Spinal kord yaralandığında ilk anda nöron ve aksonlarda oluşan mekanik hasar primer yaralanma olarak adlandırılır. Primer yaralanma beklenmedik nedenlerle olduğu için genellikle engellenemez ve şiddeti değiştirilemez. Bu oluşan mekanik hasarı takiben lokal kan akımı bozukluğuna bağlı ikinci bir doku kaybı fazı izler(32). İkincil hasarı azaltmaya yönelik çok sayıda nöroprotektif ajan girişim denenmiştir. Günümüzde spinal kord yaralanması sonrası ilk saatlerde verilen yüksek doz metilprednizolon yaygın klinik kullanımdadır. Yaralanma sonrası birkaç hafta sonra kan akımından göç eden makrofajlar lezyon bölgesinde doku debrisini temizlerler, skar dokusu ile çevrili sıvı dolu kistler oluşur. Bu enflamatuvar reaksiyon sağlam kalmış spinal kord dokusunda ek hasara yol açar (12).

İnvitro çalışmalarda spontan rejenerasyonun kısa ömürlü olduğu ortaya konulmuştur. Yetişkin SSS (kısmen yetişkin sinir myelin kılıfları) nörit büyümesini bloke eden spesifik inhibitör proteinler üretirler. Bu nedenle lezyonlu kordun rejenerasyonunu sağlamak için bu inhibitör faktörleri nötralize eden çok sayıda girişimde bulunulmuştur(12).

Hücresel transplantasyon değişik spinal kord yaralanması deneysel modellerinde defisitleri azaltmak ve fonksiyonel iyileşme sağlamak amacıyla kullanılan stratejilerden biridir(152). Astrosit ve schwann hücreleri gibi destekleyici dokuların kültürde üretildikten sonra hasarlı omurilik uçlarında rejenerasyonu başlattıkları gösterilmiştir. Çeşitli araştırmalarda transplante edilmiş oligodendroglial hücrelerin de omurilikte miyelinizasyonu başlattıkları bildirilmiştir(26,134).

Kök hücre teknolojisi gelecek için şaşırtıcı olasılıklar vaad etmektedir. İnsan dokularının yeniden üretimi ve hasarlı organ onarımı (beyin ve spinal kord gibi) bunlardandır. Cerrahlar üzerinde insanda SKY'nda kök hücre transplantı konusunda büyük baskı vardır. Fakat bunun etkinliği ve tedavi endikasyonları ve morbiditesi (rejeksiyon veya geç tümör gelişimi gibi) belirsizdir (153).

6.14-Nötralizan Antikorlar

Nötralizan antikor IN-1 MSS miyelinlerinde üretilen inhibitör proteinlerden en büyük olan NI-250 adlı proteinin etkilerini bloke ettiği bildirilmiştir. Omurilik yaralanmalarında bu antikor infüzyonunun bazı aksonlarda rejenerasyona ve

dallanmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Oligodendrositlerden elde edilen myelin-associated glikoproteinde (MAG) nötralizan antikor olarak etkili bulunmuştur (65,71).

6.15-Melatonin

Antioksidan ajan olarak nöroprotektif etki gösterir. Membran lipidleri üzerine anti oksidan etkisinden dolayı deneysel çalışmalarda lipid peroksidasyonunu azaltarak omuriliği ikincil doku hasarından koruduğu bildirilmiştir (65,71).

6.16-Hipotermi

Omurilik yaralanmasından sonraki histolojik hasara karşı koruyucu etkisi ve lokomotor fonksiyonları düzeltici etkisi henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak hipotermi omurilik kan akımını önemli oranda azalttığı ve perfüzyonu etkilediği bilinmektedir(65,71). Orta derecede hipotermi apoptotik nöronal ölüm fraksiyonunu azaltmada etkili olmuştur(154). Hipotermi nöroprotektif etkisinin başlangıçta serebral metabolizmada belirgin düşüş sağlaması sonucu olduğuna inanılırdı. Fakat bu sadece metabolik depresyon ile açıklanamaz (155). Altta yatan moleküler ve hücresel mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Hipotermi diğer potansiyel nöroprotektif mekanizmaları; serbest radikal üretiminin azaltılması beyin ödeminin azaltılması, intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu azaltması, artmış GABA salınımı ve glutamat salınımının engellenmesidir (155).

6.17- Hiperbarik Oksijen

HBO tedavisinin fizyolojik etkileri, tüm vücut dokularındaki oksijen parsiyel basıncının ve konsantrasyonunun artması ile ortaya çıkar. Vazokonstrüksiyonu azaltarak vazojenik ödemi azalttığı ve kanamanın yayılımını durdurduğu bildirilmiştir(26,156). HBO tedavisi kollojen üretimini ve fibroblast bölünmesini artırarak kapiller proliferasyonu sağlar. Omurilik yaralanmasının erken döneminde (ilk 6 saat) uygulandığında iskemiye önleyerek akson ve miyelin hasarını azaltarak nöronal rejenerasyonu sağladığı ve nörolojik iyileşme üzerine etkili olduğu yayınlanmıştır (157).

18. Diğer Tedavi Denemeleri

Günümüzde omurilik yaralanması sonrası hücre ölümünün apoptotik kaskadına yönelik terapötik korunma çabaları önem kazanmıştır. Bu yönde yapılan

Çalışmalarda zDEVD fmk ile yapılan kaspaz 3 inhibisyonun deneysel kord hasarı sonrası nöroprotektif etkileri gösterilmiştir(158).

Sitokinler, serbest radikal hasarı ve eksitotoksitite gibi sekonder hasar mekanizmaları ile tetiklenen apoptoz'da bu etkene yönelik tedavinin programlı hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği düşüncesini desteklenmektedir(48).

Siklosporin A, Ca^{+2} 'un tetiklediği mitokondri iç membranındaki permabilite değişikliklerinin inhibisyonu ve lipit perokidasyonunun inhibisyonu etkisi ile hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği deneysel travmatik kord hasarında ortaya koymuş bir ajandır(48).

Minosiklin, ikinci jenerasyon siklidir. SKY modellerinde nöroprotektif özellikleri gösterilmiştir. Akut SKY sonrası farede kaspaz 1 aktivasyonunu inhibe ederek apoptozu azalttığı, lezyon boyutunu azalttığı gösterilmiştir. Minosiklin akut SKY tedavisi için uygundur, çünkü kan beyin bariyerini kolaylıkla geçer, sekonder spinal doku kaybını efektif olarak azaltabilir(159).

Akut spinal kord yaralanması takiben apoptotik hücre ölümü bilgisi nöronal hücre ölümünü limitlemek ve nörolojik fonksiyonu iyileştirmek için yeni ek stratejiler sağlayabilir. Bir antiapoptotik ajan olan. Bcl 2 onkogeninin akut Spinal kord yaralanması sonrasında histolojik sağ kalımı artırdığı gösterilmiştir (160).

Protein C, antikoaglan etkili bir proteazdır. İntramedüller hemorajileri azaltmıştır (48).

Tacrolimus (FK-506), transplantasyonda immunsupresan olarak kullanılır. Nöroprotektif etkisi farelerde gösterilmiştir. MP ile sinerjistik etki gösterir (48).

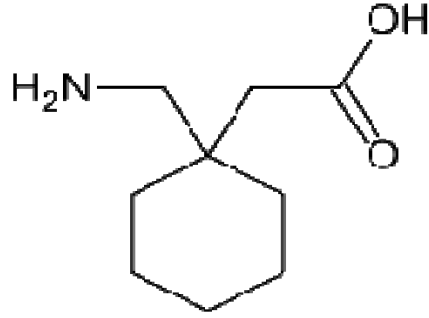
Siklosporin A, antiinflamatuvar, immunsupresif etkili ajan olup iç mitokondrial membranın Ca^{+} bağımlı permeabilitesini değiştirir ve osmotik şişme ile mitokondrial lizisi önler (48).

Akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisine yönelik modern tedavi girişimlerinin devam etmesi, bu yıkıcı problemin çözülmesindeki umudun artmasını sağlamaktadır.

7.GABAPENTİN

2-[1-(aminometil)sikloheksil]asetik asit $C_9H_{17}NO_2$

171.237 g/mol



Şekil 3:Gabapentinin yapısı

Gabapentin yeni kuşak bir antiepileptik ilaçtır. Santral sinir sisteminin (SSS) önemli bir nörotransmitteri olan gamma-amino bütirik asitin (GABA) yapısal analogudur. Amerikan Gıda ve ilaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) tarafından 1993 yılında 12 yaşından büyük hastalarda jeneralize ve diğer parsiyel epileptik nöbetlerin tedavisinde kullanılmasına onay verilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda, antiepileptik etkinliği dışında başka hastalıklarda da Gabapentinin etkili olduğuna işaret eden bulgular elde edilmiştir.

7.1-FARMAKODİNAMİK ÖZELLİKLERİ

Gabapentin, GABA' ya yapısal olarak benzeyen bir lipofilik analogdur. Kesin etki mekanizması halen bilinmemekle birlikte Gabapentin, GABA sinapslarında etki gösteren bazı ilaçlardan farklı etki mekanizmasına sahiptir. Gabapentin, GABAA ve GABAB' de veya beyindeki GABA alım taşıyıcılarında etkin değildir. Gabapentinin, beyinde voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının alfa2delta alt üniteleri ile birlikte bulunan bağlanma bölgelerine yüksek afinitesi vardır.

İn vitro olarak, Gabapentin, GABA sentezleyen glutamik asit dekarboksilaz (GAD)enzimi ile glutamat sentezleyen enzimi modüle eder.

Gabapentinin analjezik etkisi, enflamatuvar ve nöropatik ağrı hayvan modelleri üzerinde gösterilmiştir.

7.2-FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

Farmakokinetik çalışmalar, 300-4800 mg dozlarında yapılmıştır. En yüksek plazma konsantrasyonu ve eğri altı alanı (EAA) ortalama değerleri, dozla birlikte artış göstermiştir; ancak, bu artış doz artışının hafif altındadır. Her iki parametre için de, 600 mg' a kadar olan dozlarda doğrusallıktan sapma çok hafiftir.

Emilim:

Oral yoldan uygulanan 300 mg'lık Gabapentinin mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %60' ır. Tekrarlanan doz uygulamalarında, 300 mg ve 400 mg'lık dozlarda Gabapentinin biyoyararlanımı değişmez. Yemeklerle birlikte alınması Gabapentinin biyoyararlanımını anlamlı olarak etkilemez.

Dağılım:

Gabapentin plazma proteinlerine bağlanmaz ve dağılım hacmi 57.7 litredir. Epilepsili hastalarda, beyin-omurilik sıvısındaki konsantrasyonu, kararlı durumdaki plazma konsantrasyonlarının yaklaşık % 20' sidir. Gabapentin dozlarının tekrarlanmasıyla, kararlı durum plazma düzeylerine tekrarlanan doz başlangıcından itibaren 1-2 gün içinde ulaşılır ve bu düzey tedavi süresince devam eder.

Metabolizasyon:

Gabapentin insanlarda metabolize edilmez ve karma fonksiyonlu hepatik oksidaz enzimlerini indüklemey.

Atılım:

İntravenöz yoldan uygulamanın ardından Gabapentinin plazmadan atılımı en iyi doğrusal farmakokinetik özellikler ile açıklanabilir. Gabapentinin atılım yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) 5-7 saattir.

Gabapentinin atılım parametreleri, yani plazma yarılanma süresi ve renal klerensi (Cl_r), doza bağlı değildir ve tekrarlanan doz uygulamalarında değişmez. Renal klerens, Gabapentin için başlıca atılım yoludur. Gabapentin insanlarda saptanabilir ölçüde metabolize olmadığından idrarda saptanan ilaç miktarı,

Gabapentinin biyoyararlanımının göstergesidir. Oral yoldan 200 mg ¹⁴C ile işaretlenmiş Gabapentin verildikten sonra, radyoaktivitenin yaklaşık %80'i idrarda ve %20'si feçeste saptanmıştır.

7.3-ENDİKASYONLARI

Epilepsi: Sekonder jeneralize konvülsiyonların eşlik ettiği ya da etmediği, basit ya da kompleks parsiyel konvülsiyonlu yetişkin ve 12 yaş üstü çocuk hastaların tedavisinde monoterapi (yeni tanı konulan konvülsiyonlu hastaların tedavisi dahil) ya da ek tedavi olarak kullanılır.

Sekonder jeneralize konvülsiyonların eşlik ettiği ya da etmediği, parsiyel konvülsiyonlu 3 yaş ve daha büyük çocukların ek tedavisinde kullanılır.

Nöropatik ağrı: Erişkinlerde postherpetik nevralji gibi nöropatik ağrıların semptomatik tedavisinde kullanılır

7.4-KONTRENDİKASYONLAR

Etken maddeye birine aşırı duyarlılığı olduğu bilinen hastalarda, akut pankreatitli hastalarda hastalarda kullanılmamalıdır.

7.5-UYARILAR/ÖNLEMLER

Klinik çalışmalar, Gabapentinin güvenli kullanımı amacıyla klinik laboratuvar parametrelerinin düzenli izlenmesinin gerekli olmadığını ortaya koymuştur.

Kontrollü klinik çalışmalarda, hastaların % 16' sında, muhtemelen klinik açıdan önemli sayılabilecek derecede kan şekeri düzeyi dalgalanmaları gözlenmiştir. Böbrek fonksiyonları bozuk hastalarda kreatinin klerens değerleri göz önüne alınarak Gabapentin dozu ayarlanmalıdır.

Gabapentin tedavisi sırasında hemorajik pankreatit bildirilmiştir. Kronik pankreatitte Gabapentin kullanımı ile ilgili yeterli deneyim yoktur.

7.6-YAN ETKİLER

Gabapentin tedavisi sırasında en sık bildirilen yan etkiler somnolans (uykuya eğilim), uyuşukluk, halsizlik, baş dönmesi, baş ağrısı, uykusuzluk, kilo alma, anoreksi ,bulantı, kusma ve ataksidir.

Asteni, görme bozuklukları (ambliyopi ve diplopi), tremor, seğirmeler, artralji, reflekslerde artış, azalış veya reflekslerin kaybolması, diyare, disartri, düşünce

bozuklukları, amnezi, ağız kuruluğu, depresyon, konfüzyon ve duygusal değişkenlikler seyrek olarak görülür.

Daha az sıklıkta, vücuttaki tüm sistemlere ait yan etkiler görülebilir.

7.7-LABORATUVAR BULGULARI

Diğer antiepileptik ilaçlarla kombine kullanıldığında, karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme bildirilmiştir.

7.8-İLAÇ ETKİLEŞİMLERİ VE DİĞER ETKİLEŞİMLER

Karbamazepin, fenitoin, valproik asit ve fenobarbital gibi ilaçları kullanan hastalarda tedaviye Gabapentin eklendiğinde, bu ilaçların başlangıçtaki plazma düzeylerinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir. Gabapentinin mide asidini nötralize eden magnezyum ya da alüminyum içeren ilaçlarla (antasit) birlikte kullanılması, Gabapentinin biyoyararlanımını %24 oranında azaltabilir.

Gabapentin, antasit kullanılması sonrasında en az 2 saat geçmeden önce kullanılmamalıdır.

Simetidin ile birlikte kullanıldığında, Gabapentinin renal atılımı hafifçe azalır.

Alkol ya da merkezi etkili ilaçlar, Gabapentinin merkezi sinir sistemiyle ilgili bazı yan etkilerini (somnolans ve ataksi gibi) şiddetlendirebilir.

7.9-DOZ AŞIMI

Doz aşımının belirtileri baş dönmesi, diplopi, disartri, sedasyon ve hafif diyaredir. Günde 49 g'a varan Gabapentin doz aşımalarında, akut, hayatı tehdit eden toksisite gözlenmemiştir.

Gabapentin hemodiyalizle uzaklaştırılabilirse bile, deneyimler normal olarak diyalizin gerekli olmayacağını göstermektedir. Bununla birlikte, böbrek yetmezliği olan hastalarda hemodiyaliz endike olabilir

7.10-GABAPENTİNİN ETKİ MEKANİZMALARI VE NÖROPROTEKTİF ETKİSİ

Gabapentinin hücresel mekanizmalardaki farmakolojik rolü net olarak anlaşılabilmiş değilse de bazı hipotezler öne sürülmektedir. Hayvan modellerinde

antikonvülzan, antinosiseptif, anksiyolitik ve nöroprotektif etkinliğinde farklı mekanizmalar rapor edilmiştir. Gabapentinin farmakolojik etkilerini açıklamak için hücresel mekanizmalardaki çeşitli hipotezler:

- 1) Gabapentin, vücuttaki çeşitli membran bariyerlerden, spesifik aminoasit transport sistemini (sistem L) kullanarak ve bazı aminoasitlerle yarışarak geçmektedir (161,165).
- 2) GABA' nın konsantrasyon ve sentez hızını artırır (171).
- 3) Beyinde, muhtemelen voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının subuniti ile ilişkili, farklı bir bölgeye yüksek affinite ile bağlanır (172).
- 4) Çeşitli monoamin nörotransmitterlerin salınımını azaltır (173,174).
- 5) Elektrofizyolojik çalışmalar voltaj ile aktive olan Na^{+} kanallarını inhibe ettiğini gösterse de, başka çalışmalar zıt düşmektedir (175,176).
- 6) Kanda serotonin konsantrasyonunu yükseltmektedir (177).
- 7) Birçok modelde nöronal hücre ölümünü önlemektedir (166,167).

Gabapentin, bir inhibitör nörotransmitter olan GABA' nın yapısal analogu olarak dizayn edilmiş, bununla birlikte, çalışmanın sonuçlarında, Gabapentinin farmakolojik rolünde farklı mekanizmaların da rol oynadığı bildirilmiştir (16).

Sistem L aminoasit transporter özelliğinden dolayı, Gabapentin molekülleri membran bariyerleri kolaylıkla geçebilmekte ve sitozolde yüksek konsantrasyona ulaşabilmektedir (161,162). Gabapentinin, ekstrasellüler ortama göre on kat fazla bulunması, beyin sitozolünde de transport mekanizmalarının geçerli olduğunu düşündürür (163,164).

BAYDAŞ G. Ve ark yaptıkları Streptozin ile Diabet oluşturulan ratlar 2 ayrı gruba ayrılmış 1 grup kontrol ilaç verilmemiş, 2 grup 50mg/kg Gabapentin verilmiş.6 hafta sonunda GFAP,S100B, ve NSE immunoblotting yöntemiyle hipocampus, korteks ve serebellumda karşılaştırıldığında tedavi almayan grupta artışı görülmüş. Tedavi almayan grupta lipidperoksidaz ve glutatyon değerlerinin azaldığı görülmüş. Böylece Gabapentin tedavisinin diabetik ratlarda hipokampal ve kortikal nörodejenerasyonu azalttığı görülmüş(179). Anne M ve ark.12 günlük sağ karotisi bağlanan fareler de Gabapentin nöbet kontrolü ve hemisferik beyin atrofisi

karşılaştırılmış. 0, 50, 100, 150, 200 mg/kg Gabapentin intraperitoneal olarak uygulanmış. 4 hafta sonra hemisferik beyin atrofileri karşılaştırılmış. 200 mg/kg nöbeti azaltmış. 150-200 mg beyin atrofisini azaltmış. Daha düşük dozlarda ise nöroprotektif etkisi izlenememiş(180).

WA Lagrezeve ark İntraoküller basınç artırarak retinal iskemi yaratılan ratlarda Gabapentin doz ve verilme zamanı değiştirilerek ganglion hücre tabakasındaki histolojik değişiklikleri saptanmışlar. Buna göre ilk 4 saat içinde Gabapentin verilmesi nöroprotektif olarak bulunmuş.25-50-75 mg/kg verildiğinde 25mg/kg nöroprotektif olmadığı, 50-75 mg/kg nöroprotektif olduğu görülmüştür (36).

Yapılan bir çalışmada, Gabapentinin nöroprotektif etkisinde iki hipotez sunulmuştur(168). Beyin dokusunda glutamat sentezi için bir yolak, alfa-ketoglutaratın, branched-chain aminoasitlerden (lösin, isolösin, valin) Branched-Chain aminotransferaz enzimiyle (BCAA -T) transaminasyonudur. Gabapentin BCAA-T'ın kompetatif inhibitörüdür. Gabapentin, beyin sitozolünde bulunan BCAA-T'ın isoform (nöronal form)'una selektif etkiliyken, mitokondrial BCAA-T'a etkisi minimaldir (169). Gabapentin in vivo olarak BCAA-T'ın etkisini önemli oranda inhibe ederek, glutamatın sitozolik konsantrasyonunu düşürmektedir, bu da glutamata bağımlı hücre ölümünü azaltmaktadır. Rat beyninde, NMR spektroskopi ile, Gabapentin tedavisi ile glutamatın %20 oranında azaldığı gösterilmiştir (170). Gabapentin sonrası, L-lösinde glutamat sentezi in vivo olarak da gösterilmiştir.

Sonuç olarak, Gabapentinin hücresel ve moleküler aktivitesi konusunda çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen halen tam olarak bilgi sahibi değiliz. Gabapentin glutamat, glutamin veya GABA'nın metabolizma veya konsantrasyonu üzerine etki etmektedir. Bazı sonuçlar voltaj bağımlı Ca^{++} kanalları subtipleri ile ilişkisini göstermiş. Bundan sonra yapılacak yeni çalışmalar, potansiyel etki mekanizmaları ile ilgili daha fazla bilgi sahibi olmamızı sağlayacaktır.

7.11. DENEY HAYVANLARINDA GABAPENTİNİN FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

Gabapentin'in deney hayvanlarında farmakokinetik özellikleri çalışıldığında maymunlarda 25 mg/kg oral alımında biyoyararlanımı %40, fare ve ratlarda 50 mg/kg için %79, köpeklerde 50 mg/kg için oral yararlanımı %80 olarak saptanmıştır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %3 'ün altındadır. Maksimum kan düzeyine oral alımından 2 saat içinde ulaşır.

IV. farmakokinetiği ratlarda 4-500 mg/kg arasında değişen dozlarda lineerdir. Ortalama yarı ömrü IV alımından sonra ratlarda 1.7 saat, köpeklerde 2.9 saat, maymunlarda 3 saattir. Dokulara geniş olarak dağılır. Köpeklerde Gabapentin %34 oranında N-metilGabapentine metabolize olur. Fare, rat ve maymunlarda metabolizması % 5'in altındadır. İdrar yolu ile atılır. Hepatik sitokrom p 450 enzimini indüklemeyizler(151,163).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

1- KULLANILAN DENEKLERİN BAKIM YERİ VE KOŞULLARI

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında yetiştirilen, ağırlıkları 210-250 gr arasında değişen, normal motor aktiviteye sahip, 24 adet Wistar Albino türü dişi rat çalışmaya alınmıştır. Denekler, 12 saat gece ve 12 saat gündüz fotoperiyot uygulanan ve ad libitum olarak beslenen standart laboratuvar koşullarında izlenmiştir.

2- KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR

Ketamin (Ketalar, Parke-Davis. Eczacıbaşı, İstanbul)

Ksilazin (Rompun, Bayer, İstanbul)

Gabapentin (Biofarma, İstanbul)

Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun)

Sefazolin Sodyum (Sefazol, Mustafa-Nevzat, İstanbul)

3- ANESTEZİ

Cerrahi işlem öncesi tüm gruptaki hayvanlara intraperitoneal olarak 35 mg ketamin + 5 mg ksilazin uygulanarak anestezi sağlanmıştır.

4- DENEY GRUPLARI

Çalışma; her grupta 7 adet rat kullanılan 3 ana grup ve 4 adet rat kullanılan sham grubu olarak planlanmıştır:

Grup1 (sham) : Sadece laminektomi

Grup2 (kontrol) : Laminektomi ve travma uygulanan grup

Grup3 (ilaç) : Laminektomi ve travma uygulanmasından 2 saat sonrasında Gabapentin 150mg/kg intravenöz uygulanan grup

Grup 4 (ilaç) : Laminektomi ve Gabapentin 150mg/kg intravenöz uygulanmasını takiben, 5 dakika sonra travma uygulanan grup

5- CERRAHİ İŞLEM

Denekler Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deneysel Araştırma Laboratuvarı operasyon salonunda, steril şartlarda gerçekleştirildi. Cerrahi işlem öncesi tüm hayvanlara intraperitoneal olarak 35 mg/kg Ketamin, 5 mg/kg ksilazin uygulanarak anestezi sağlandı ve denekler yüzüstü pozisyonda tespit edildi (6). Tüm hayvanların genel anestezi altında sırt bölgesi traş edildi. Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi sağlandı (Resim 1). İnterskapuler mesafe referans alınarak prone pozisyonda T5-12 seviyesinde orta hat insizyonu yapılarak cilt, cilt altı dokuların geçilmesini takiben paravertebral kas fasyası açılarak kaslar laterale künt diseksiyon ile sıyrıldı (Resim 2) ve torakal 7-10 laminaları görülerek total laminektomi uygulandı (Resim 3). Bu işlemler sırasında dura mater korundu. Grup 1'e laminektomi dışında işlem yapılmadı. Grup 2'deki deneklere laminektomiye takiben ekstradural olarak 1 dakika süre ile klip (Resim 4) uygulanarak travma uygulandı. Farmakoterapi verilmedi. Grup 3'deki deneklere laminektomiye takiben ekstradural olarak 1 dakika süre ile klip uygulanarak travma yaratıldı ve kuyruk veninden açılan damar yolu aracılığı ile travmadan 2 saat sonra Gabapentin (Biofarma, İstanbul) 150mg/kg intravenöz olarak uygulandı. Daha sonra Grup 4'deki deneklere kuyruk veninden 24G nolu (Bıçakçılar/İstanbul/Türkiye)

branül ile damar yolu açıldı ve Travmadan 5dk önce Gabapentin 150mg/kg intravenöz olarak uygulandı. Deneklere laminektomiye takiben ekstradural olarak 1 dakika süre ile klip uygulanarak travma uygulandı. Standart travma amacıyla 63 gramlık kuvvet uygulayan Yaşargil anevrizma klipi (Aesculap FE 721 K) ile dura ve spinal kordu çepeçevre saracak şekilde bir dakika süreyle klipaj uygulandı. Daha sonra hemostazı takiben kaslar ve insizyon usulüne uygun kapatıldı.



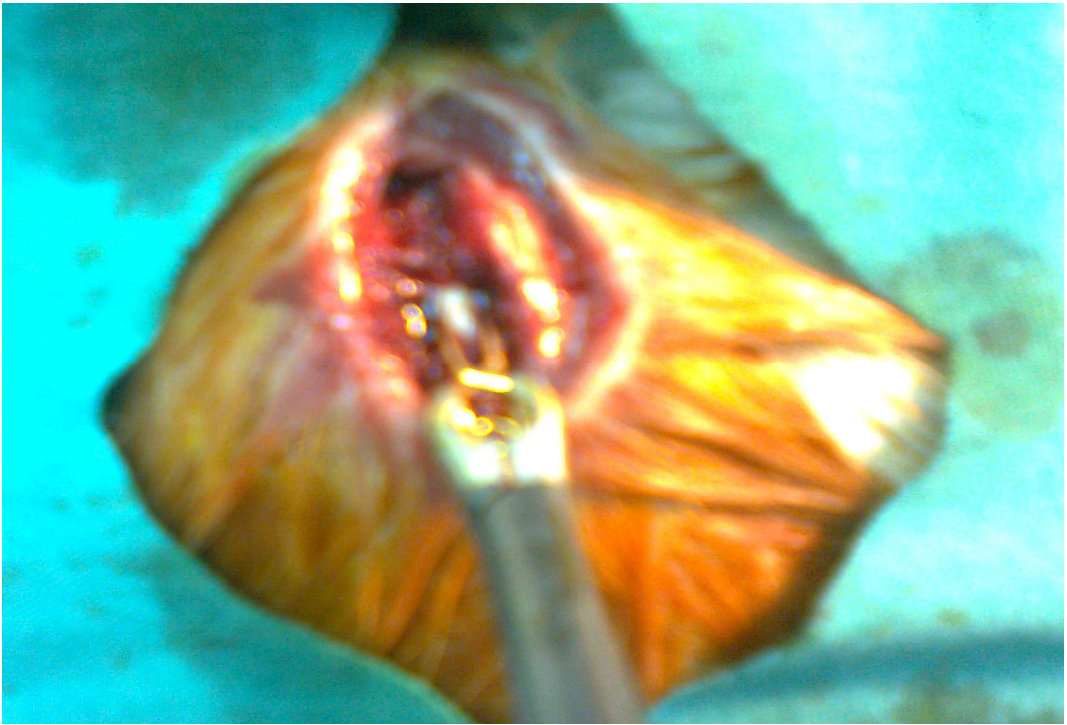
Resim 1: Operasyon bölgesi traş edildi ve antisepsi sağlandı



Resim 2: Paravertebral adeleler laminalardan sıyrıldı



Resim 3: Laminektomi sonrası



Resim 4: Spinal kordun anevrizma klipi ile klipaji



Resim 5 : Spinal kordun klipajı sırasında



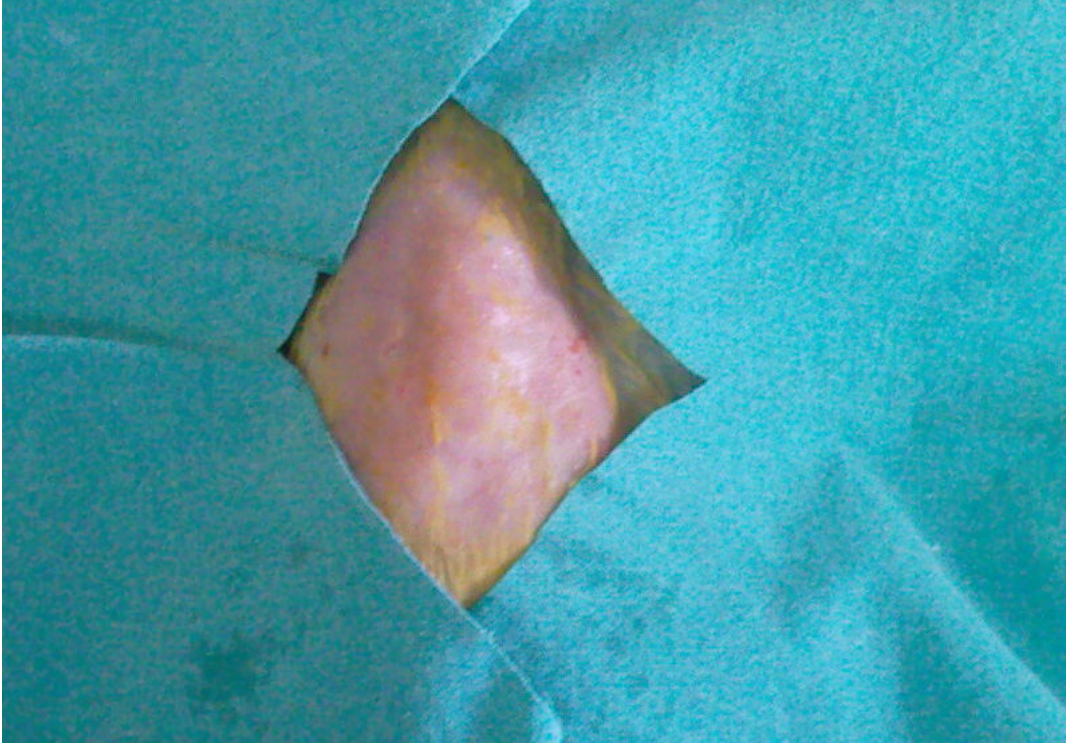
Resim 6 : Spinal kordaki anevrizma klipin kaldırılması

6- DENEY HAYVANLARININ POSTOPERATİF İZLEMLERİ

Tüm denekler postoperatif dönemde, derlenme sürelerinin sonunda kafeslerine yerleştirildi ve serbestçe beslenmelerine izin verilerek, takip süreleri boyunca, günde iki kez manuel olarak mesaneleri boşaltıldı. Tüm ratlara cerrahi saha ve üriner enfeksiyondan korunmak amacı ile ilk 3 gün intraperitoneal 40 mg/kg/gün sefazolin sodyum (Cefamezin, Eczacıbaşı İlaç San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) uygulandı. Denekler takip süresi boyunca düzenli pansumanları yapıldı ve sabah ve akşam olmak üzere günde 2 kez manuel işetildi.

6.1- DENEY HAYVANLARININ SAKRİFİKASYONU

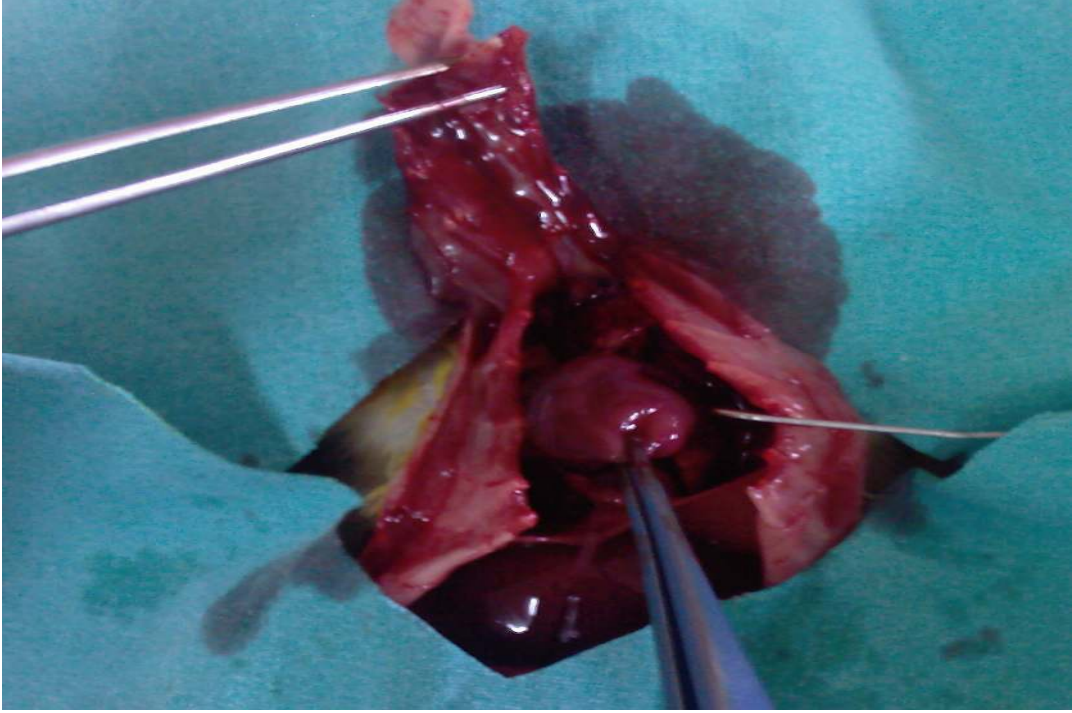
Denekler 30 günlük takip sonrası muayenelerinin yapıldı. Takiben, sakrifikasyon işlemi öncesi tüm hayvanlara eter ile inhalasyon anestezisi uygulandı. Denekler sırtüstü pozisyonda tespit edildi (Resim 7). Tüm hayvanların genel anestezi altında sırt bölgesi traş edildi. Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi sağlandı. Sternum refarns alınarak cilt ve cilt altı geçildi (Resim 8). Sternum sağ ve sol taraftan kostalardan üst sınırı kalacak şekilde serbestleştirildi (Resim 9). Kalbin sağ atriumuna 11 numara bistüri ile insizyon uygulandı. Sol ventrikulden %0.9 lık Serum Fizyolojik ile dolaşımdaki tüm kan dolaşımdan uzaklaştırılma kadar irrigate edildi (Resim 10). Takiben %10 lik formaldehit ile yıkanarak formaldehit ile fiske edildi. Hasarlanmış omurilik merkez olacak şekilde 1cc yukarı ve 1cm aşağı olmak üzere 2cm kord disseke edildi. % 10 formaldehit solusyonu içinde Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalına teslim edildi.



Resim7: Rat sırt üstü pozisyonda cerrahi saha hazırlanmış olarak görülüyor



Resim8: Cilt ve cilt altı geçildi



Resim9: Sternum sağ ve sol tarafından açılarak yukarıya doğru kaldırıldı



Resim 10:Sol ventrikülden SF ile irrigasyon

7- DAVRANIŞ TESTİ VE FONKSİYONEL İYİLEŞMENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Davranış testi ve fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi inclined plane testi (İPT) ve Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) davranış derecelendirme skalası kullanılarak yapıldı (79, 80). Tüm değerlendirmeler, tedavi grupları hakkında bilgi sahibi olmayan, aynı kişi tarafından yapılacak şekilde planlandı.

Deneklerin davranış testi ve fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi, spinal travma sonrasında 1.,10.,20.,30. günlerde yapıldı ve skorlar kaydedildi.

7.1- INCLINED PLANE TESTİ

Deneyssel akut spinal kord yaralanmalarında sık kullanılan Rivliv ve Tator'un tarif ettiği eğimli alan yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde hayvan düz bir tabla üzerine konulur. Tabla ilk olarak yere paralelken daha sonra eğimi artırılarak hayvanın besin ile motivasyonu sağlanarak tablanın üzerinde tırmanması sağlanır. Hayvanın tabla üzerinde 5 saniye boyunca düşmeden durabildiği en yüksek açı hayvanın inclined plane açısı (İPA) olarak kabul edilir. Çalışmamızda tüm gruptaki deneklere cerrahi işlem sonrası 1.,10.,20.,30. günlerde Inclined Plane testi uygulandı.

7.2- BASSO, BEATTIE, BRESNAHAN (BBB) SKORLAMASI

Spinal kord yaralanması sonrası gelişen davranışsal sonuçları değerlendirmek için BBB skorlaması 1995'te Basso ve ark. tarafından geliştirilmiştir. BBB skorlaması spinal kord yaralanması sonrası tedavilerde davranışsal sonuçların ölçümünde araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (79).

Bu skala çok merkezli hayvan spinal kord yaralanma çalışmalarında (Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study- MASCIS) ve halen nörotravma literatüründe yaygın olarak kullanılmaktadır (81).

BBB skorlaması ile; arka ayaklarda hiç hareket olmamasından (0 puan) tam vücut stabilitesi ve kuyruğun havada olmasına kadar (21 puan) çok geniş aralıklarda lökomotor hareket değerlendirilir(81). 21 puanlı bu skalada 0 ile 7 puan arası ölçümler müdahale sonrası erken dönemde arka ayakların eklem hareketleri, 8 ile 13 puan arası ara dönemde adım atma ve koordinasyon, 14 ile 21 puan arası geç dönemde parmak temizleme hareketi ve pençe rotasyonu değerlendirilir. BBB skalası, veriler hakkında sürekli değil ara dönemlerde bilgi verir.

Spinal kord yaralanmalarında, ön ve arka ayaklar arasındaki koordinasyonun değerlendirilmesinde BBB testi yetersiz kalıp, lökomotor fonksiyon yanlış olarak daha düşük tahmin edilebilir (82).

I: İyileşmenin erken döneminde (Arka ekstremitte hareketleri)

- 0-Gözlenebilen arka ekstremitte (AE) hareketi yok
- 1-Bir veya iki eklemden hafif hareket (Genelde diz ve/veya kalça)
- 2-Bir eklemden geniş hareket veya bir eklemden geniş hareket + diğer eklemden hafif hareket
- 3-İki eklemden geniş hareket
- 4-Üç eklemden hafif hareket (AE) (Kalça, diz, ayak bileği)
- 5-İki eklemden hafif hareket+üçüncü eklemden geniş hareket
- 6-İki eklemden geniş hareket +üçüncü eklemden hafif hareket
- 7-Üç eklemden geniş hareket (AE)

II: İyileşmenin Orta Döneminde (Adım atma koordinasyonu)

- 8-Ağırlığını taşımadan sürünmek veya pençenin plantar yerleştirilmesi
- 9-Ağırlığını taşıyarak pençenin plantar yerleştirilmesi veya tek bir defa, ara sıra , sık sık , sürekli ağırlığını kaldırarak dorsal adımlama + plantar adımlama yok
- 10-Ara sıra ağırlığını taşıyarak plantar adımlama. Ön ekstremitte (ÖE) arka ekstremitte koordinasyonu yok
- 11-Sık sık, sürekli ağırlığını taşıyarak plantar adımlama ve ÖE, AE koordinasyonu yok
- 12-Sık sık, sürekli ağırlığını taşıyarak plantar adımlama ve ara sıra ÖE, AE koordinasyonu mevcut
- 13-Sürekli ağırlığını kaldırarak plantar adımlama ve sık sık ÖE, AE koordinasyonu

III: İyileşmenin Geç Döneminde (Ayrıntılar, ince hareketler)

- 14-Sürekli ağırlığını taşıyarak adımlama, sürekli ÖE, AE koordinasyonu veya hareket sırasında predominant pençe pozisyonunda yuvarlanma veya sık plantar adımlama, sürekli ÖE, AE koordinasyonu, arasıra dorsal adımlama
- 15-Sürekli ÖE, AE koordinasyonu, parmak temizleme hareketi yok veya ekstremitenin öne ilerletilmesi ile ara sıra parmak temizleme hareketi, ilk dokunuşta predominant pençe hareketi vücuda paralel
- 16-Yürüyüş sırasında sürekli ÖE, AE koordinasyonu, ekstremitenin öne ilerletilmesi ile sık sık parmak temizleme hareketi; ilk dokunuşta predominant pençe hareketi paralel ve kaldırıldığında yuvarlak
- 17-Yürüyüş sırasında sürekli ÖE, AE koordinasyonu, ekstremitenin öne ilerletilmesi ile sık sık parmak temizleme hareketi; ilk dokunuşta ve kaldırıldığında predominant pençe hareketi paralel
- 18-Yürüyüş sırasında sürekli ÖE, AE koordinasyonu ve ekstremitenin öne ilerletilmesi ile sürekli parmak temizleme hareketi, ilk dokunuşta predominant pençe hareketi paralel ve kaldırıldığında yuvarlak
- 19-Yürüyüş ile sürekli koordineli ÖE, AE hareketi, ekstremitenin öne hareketi ile sürekli parmağı temizleme hareketi; ilk dokunuşta ve kaldırıldığında predominant pençe hareketi paralel
- 20-Sürekli koordineli yürüyüş, sürekli parmak temizleme hareketi, ilk dokunuşta ve kaldırıldığında predominant pençe hareketi paralel; fakat gövde instabilitesi var; kuyruk sürekli havada
- 21-Koordineli yürüyüş, sürekli parmak temizleme, predominant pençe pozisyonu paralel, sürekli gövde stabilitesi, kuyruk sürekli havada

Tablo 9 : BBB davranış derecelendirme skalası

8-HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Alınan spinal kord örnekleri, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı'nda görevli, tedavi gruplarını, uygulanan tedavileri ve nörolojik değerlendirme sonuçlarını bilmeyen bir histoloji uzmanı tarafından burada değerlendirilmeye alındı. Çıkarılan spinal kord örnekleri oda ısısında, %10'luk formalin solüsyonu içinde 48 saat tespit edildikten sonra, artan oranda alkol serilerinden geçirildi. Dokular şeffaflandırma amacıyla 3 değişim ksilole tabi tutulduktan sonra parafin içine gömüldü.

Parafin Takibi

- 1- Fiksasyon: 48 saat % 10 formalin
- 2- 24 saat akarsuda yıkama
- 3- % 70 etil alkol 20 dk
- 4- % 80 etil alkol 20 dk
- 5- % 96 etil alkol 20 dk
- 6- Aseton I 20 dk
- 7- Aseton II 20 dk
- 8- Aseton III 20 dk
- 9- Aseton IV 20 dk
- 10- Ksilol I 30 dk
- 11- Ksilol II 30 dk
- 12- 60°C'lik etüvde erimiş parafin I 1 saat
- 13- Parafin II 1 saat
- 14- Parafin içinde bloklama

Etüvden çıkarılan parçalar parafine gömülerek bloklandı. Mikrotom (Leica RM2255) yardımıyla bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak örnekler lizinli lamlara yerleştirildi. Her bloktan seri kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilen&Eozin (H&E), TUNEL boyama ve Kaspaz-3 için immunohistokimya uygulandı.

Hematoksilen-Eozin Boyası

1-Ksilen I	20dk
2-Ksilen II	10dk
3- Ksilen II	10 dk
4- % 96 alkol	1 dk
5-%80 alkol	1 dk
6-%70 alkol	1 dk
7- Distile su	5 dk
8-Hematoksilen	10 dk
9-Akarsu	10 dk
10- Eozin	2 dk
11-%70 alkol	1 dk
12- %80 alkol	1 dk
13-%96 alkol	1 dk
14-Ksilen (3 değişim)	30-60dk
15-Entellan ile kapama	

Histolojik Değerlendirme

Elde edilen preparatlardan ışıık mikroskopik bakı yapıldı. Spinal korddan alınan örneklemelerdeki anormallikler ve zararlanmalar Malinovsky ve ark. (83) tarafından tanımlanan skorlamaya göre belirlendi

0	Anormal hücre yok
1	Hemoraji Glial hücre reaksiyonu Bu değişikliklerin birkaç alanda gözlenmesi
2	Gri cevherde belirgin nekroz, Büyük hemoraji veya yaygın demyelinizasyon, Fibrozis ve inflamatuvar hücrelerin varlığı

Tablo 10:Histolojik skarlama

TUNEL Tekniği ile Boyama

Lezyon bölgesinden alınan kesitler dokudaki apoptotik hücreleri göstermek amacı ile TUNEL tekniği ile boyandı. Bu teknik için ApopTAG Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore) kullanıldı. Kesitler boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 3 değişim ksilen ile deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dokuya zarar vermeden kurulanıp pappen (Invitrogen, Camarillo, CA, 00-8877) ile çevreleri sınırlandı. Kesitler 15 dakika 20 µg/ml proteinase K ile enkübe edildikten sonra, distile su ile 5 dakika yıkandı. Doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ (Merck, Germany) uygulandıktan sonra 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (Phosphate Buffered Saline Solution, DBS, Pleasanton, CA) ile yıkanan kesitler TdT-enzimi 37°C de 1 saat enkübe edildi. Ardından tampon solüsyonu ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkanan kesitler anti-streptavidin-peroksidaz ile 30 dakika enkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler TUNEL reaksiyonunun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidine (DAB) ile boyandı. Distile su ile yıkandıktan sonra Mayers hematoksilin ile zemin boyaması yapılan kesitler %80 ve %96'lik alkollerde dehidratasyon ve 30'ar dk 3 değişim ksilen ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı.

İndirekt İmmünohistokimya Yöntemi

TUNEL tekniği ile belirlenen apopitozun desteklenmesi amacıyla, kesitler 24 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra immunohistokimyasal yöntemle boyandı. Kaspaz-3 immunreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla rat spesifik anti-kaspaz-3 (1:50; Neomarkers, Fremont, CA) antikoru kullanıldı. Lizinli kesitler üç değişim ksilol ile deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Proteinaz K solüsyonu içinde 37°C etüvde 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük Hidrojen peroksit uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler 1 saat oda ısısında bloklama solusyonu (Invitrogen, Histostain- Plus Bulk Kit) ile enkübe edildi ve ardından yıkama yapılmadan anti-kaspaz-3 antikoru ile bir gece +4°C'de enkübe edildi. Ertesi gün

fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor (İnvitrogen- Plus Broad Spectrum) ile 30 dk enkübe edildi. Sekonder antikor enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) (Histostain- Plus Broad Spectrum) ile bağlandıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi 0.02% Diaminobenzidin (DAB) kullanılarak görünür hale getirildi. Zemin boyaması Mayers hematoksilen ile yapıldı. Dereceli alkollerde dehidratasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ksilol ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı.

Apoptotik hücre sayılarının belirlenmesi

İmmunohistokimyasal boyama işlemlerinin tamamlanmasının ardından hazırlanan preparatlar Olympus BX-51 model ışık mikroskobu ve video kameradan (Olympus DP71) oluşan görüntü analiz sistemi (DP Controller Olympus Corp. 3.1.1.267) aracılığıyla bilgisayar ekranında kaydedilerek değerlendirildi.

Medulla spinalise ait kesitlerde apoptoz oranını belirlemek için 40X objektif ile her kesitin gri cevher bölgesinde on farklı alandaki hücreler sayılarak TUNEL-pozitif ve anti-kaspaz-3 pozitif hücre sayıları belirlendi. Apoptotik hücre oranı yüzde cinsinden hesaplandı ve gruplar arasındaki fark analiz edildi.

9- İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Tüm veriler ortalama $\pm$ SH olarak gösterildi. Grupların ortalamaları arasındaki farklar SPSS 15.0 programında One-way ANOVA posthoc Bonferroni testi ve Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi esas alındı.

BULGULAR

Üç grupta 7 denek olmak üzere, sham grupunda 3 denek olmak üzere toplam 24 denek kullanıldı. Çalışmadan 5 denek kendi ayaklarını yemeleri nedeniyle çıkartıldı. Bu denekler yerine yeni deneklerle çalışma alındı. Çalışmaya yeni alınan deneklerin anestezisi (ketamin-ksilazin) değiştirilerek eter anestezisi uygulandı. Çalışmaya yeni katılan deneklerde kendi ayağını yiyen denek olmadı. Bunun dışında çalışmadan çıkarılan denek olmadı.

1- VÜCUT AĞIRLIKLARI

Vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,200$)

Vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,358$)

Vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,565$)

Vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,897$)

Vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,400$)

Vücut ağırlıklarının karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,562$)

Vücut Ağırlıkları	
Grup 1	223,000 $\pm$ 2,645
Grup 2	224,857 $\pm$ 2,645
Grup 3	224,714 $\pm$ 2,690
Grup 4	224,285 $\pm$ 1,799

Tablo 11: Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları (ort $\pm$ SS)

Deneklerin çalışma sırasındaki ağırlık ölçümlerinde %10'dan fazla ağırlık kaybı olmadı. Ağırlık kaybı nedeniyle çalışmadan çıkartılan denek olmadı.

2- İNCLINED PLANE TESTİ SONUÇLARI

Birinci gün Inclined Plane Testi sonuçları

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$).

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,131$).

Onuncu gün Inclined Plane Testi sonuçları

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,015$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,015$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,015$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$)

Inclined Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,042$).

Yirminci gün Incled Plane Testi sonuçları

Incled Plane testi sonuçları arşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Incled Plane testi sonuçları arşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Incled Plane testi sonuçları arşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,015$)

Incled Plane testi sonuçları arşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$)

Incled Plane testi sonuçları arşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,001$)

Incled Plane testi sonuçları arşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$).

Otuzuncu gün Incled Plane Testi sonuçları

Incled Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Incled Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,016$)

Incled Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,017$)

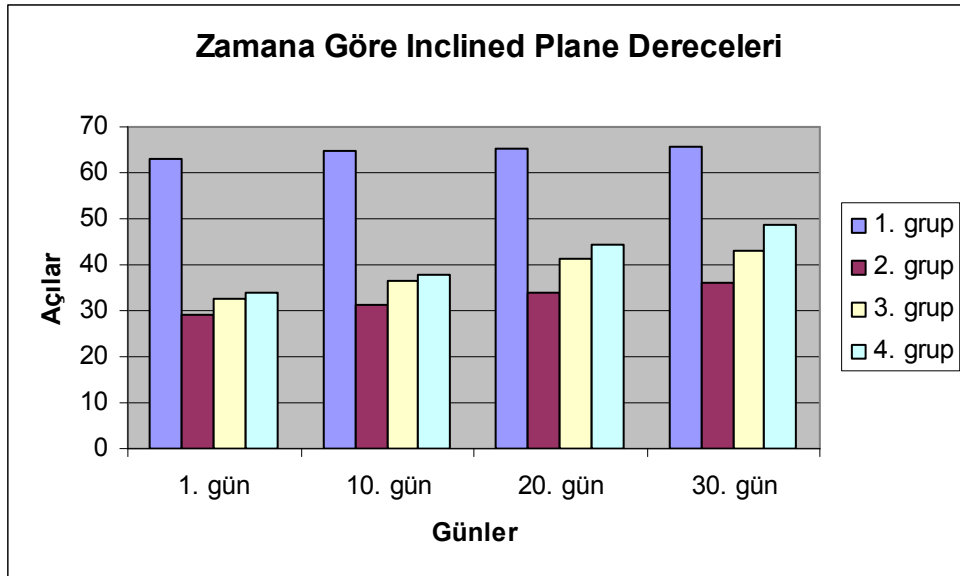
Incled Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,025$)

Incled Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$)

Incled Plane testi sonuçları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,002$).

	1. gün	10.gün	20.gün.	30.gün
1. Grup	63±1,0	64,66667±1,52	65,33333±1,52	65,66667±1,52
2. Grup	29,28571±1,11	31,14286±1,46	33,85714±1,57	36,28571±1,49
3. Grup	32,71429±1,11	36,57143±1,13	41,28571±1,49	42,85714±2,79
4. Grup	33,71429±1,11	38±1,15	44,14286±0,89	48,71429±1,12

Tablo 12: Zamana göre inclined plane dereceleri (ort±SS)



Grafik 1: Grupların inclined plane açısı ortalamaları

3- BBB SKORLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Birinci gün BBB Skorlarının Değerlendirilmesi

BBB skorları sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,012$)

BBB skorları sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,013$).

BBB skorları sonuçları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,007$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,424$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,044$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,335$).

Onuncu gün BBB Skorlarının Değerlendirilmesi

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,014$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,012$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,013$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,065$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,005$)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,053$).

Yirminci gün BBB Skorlarının Değerlendirilmesi

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır (p=0,012)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır (p=0,014)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır (p=0,012)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır (p=0,010)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır (p=0,001)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlıdır (p=0,038).

Otuzuncu gün İncled Plane Testi sonuçları

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır (p=0,013)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır (p=0,014)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır (p=0,017)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır (p=0,002)

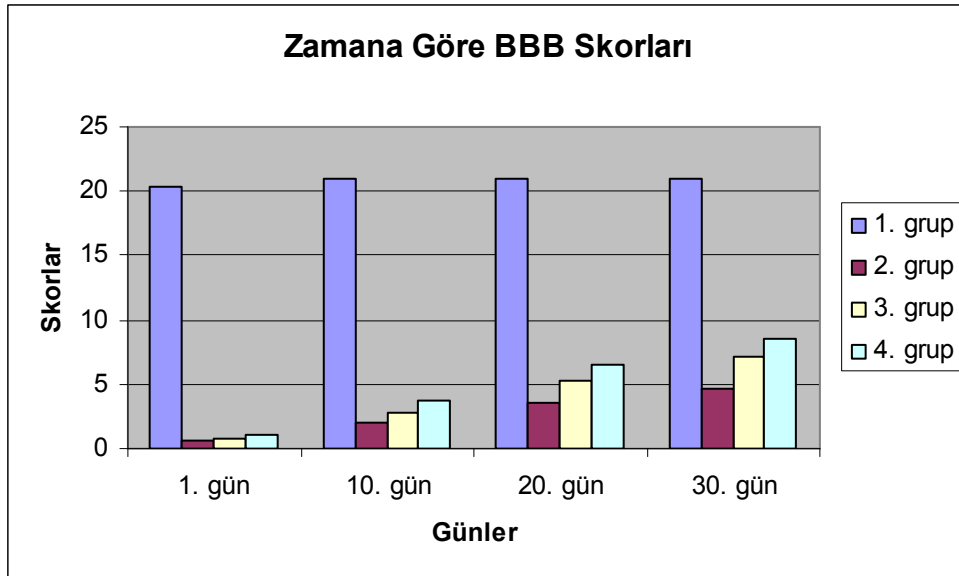
BBB skorları karşılaştırıldığında, grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır (p=0,001)

BBB skorları karşılaştırıldığında, grup3 ile grup4 arasında fark anlamlıdır (p=0,021).

Gruplardaki 1., 10.,20.,30. günlerdeki BBB skorları tablo 13 ve grafik 2’de gösterilmiştir.

	1. gün	10.gün	20.gün.	30.gün
1. Grup	20,333 ± 0,577	21±0	21±0	21±0
2. Grup	0,571± 0,534	2 ± 0,816	3,571± 0,786	4,714 ± 0,755
3.Grup	0,8571±0,690	2,857± 0,690	5,285 ± 1,127	7,142 ± 0,899
4.Grup	1,142± 0,377	3,714 ± 0,755	6,571 ± 0,786	8,571 ± 0,975

Tablo 13: Zamana göre BBB skorları (ort±SS)



Grafik 2: Zamana göre BBB skorları

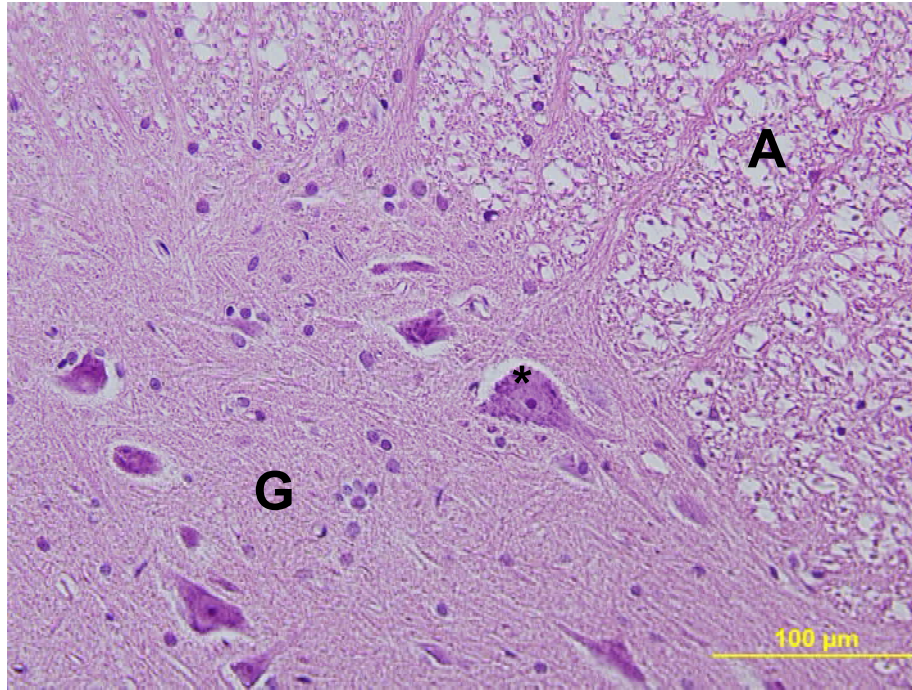
4- HİSTOLOJİK BULGULAR

4.1- Hemaktoksilen&Eosin

Hemaktoksilen&Eosin (H&E) ile hazırlanan preparatlar histolojik olarak değerlendirildiğinde, grup1 normal spinal kord dokusu izlenirken, grup2 gri cevherde belirgin nekroz, hemoraji veya yaygın demyelinizasyon, Fibrozis ve inflamatuvar hücrelerin varlığı yanında dural kalınlaşma dikkati çekti. Gabapentin verilen gruplarda ise bu değişiklikler daha hafif olarak gözlemlendi.

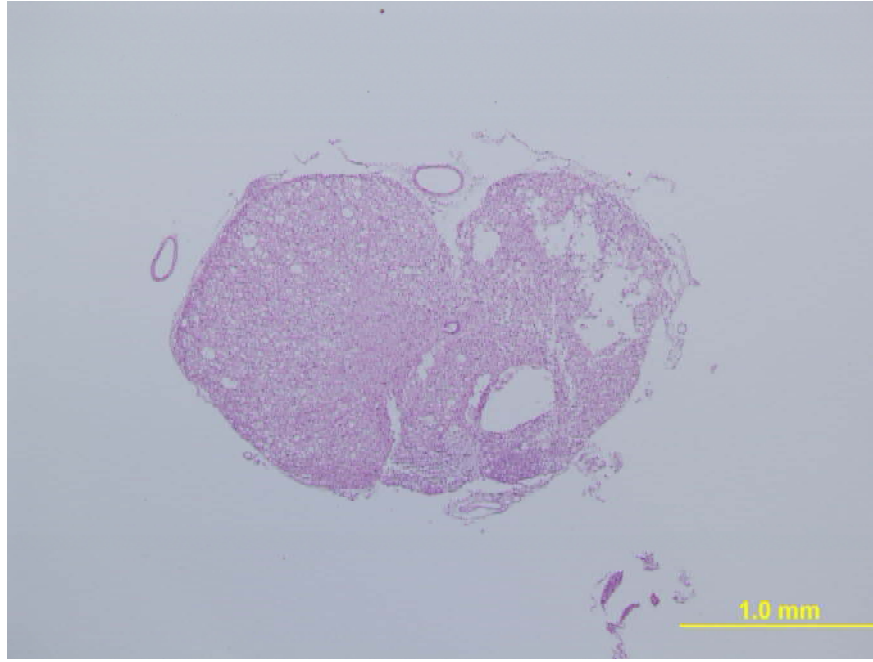


Resim11: Sham grubuna ait spinal kord tranvers kesiti x4 lük büyütme

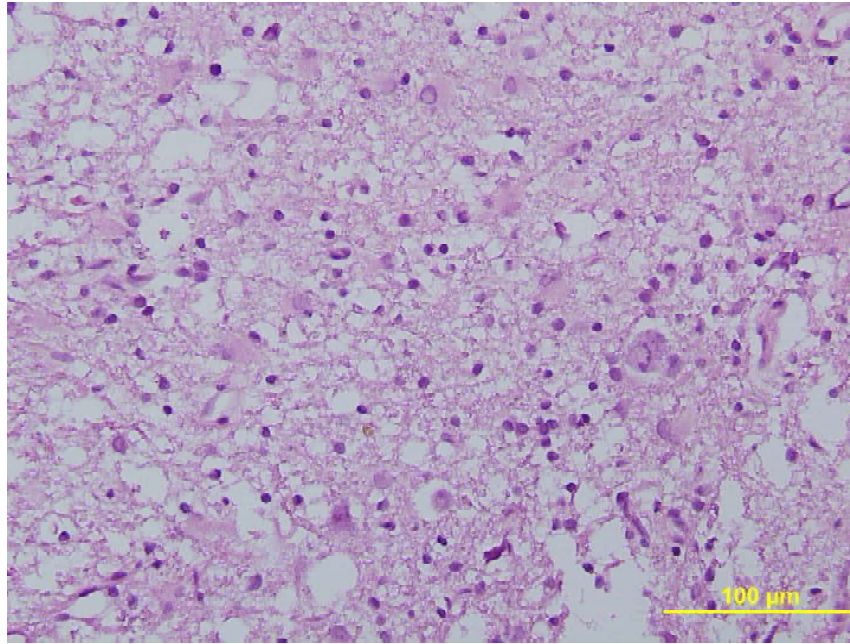


Resim12: Sham grubuna ait spinal kord x40 lük büyütme gri ve ak cevher alanları, * motor nöron

Grup 1 deneklerine ait spinal kord kesitlerinin incelenmesi sonucunda anormal hücre gözlenmemiştir.



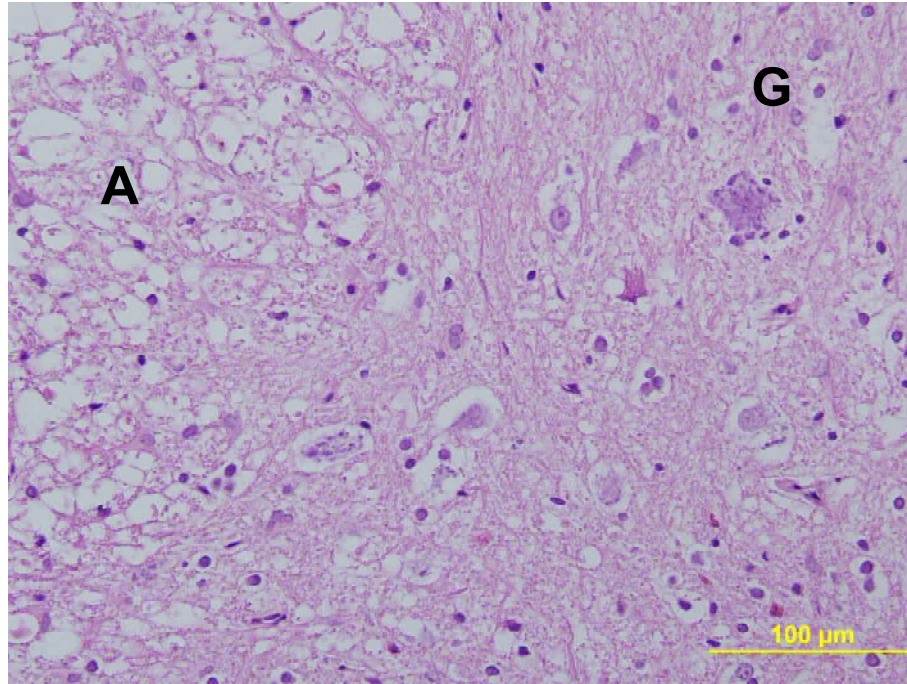
Resim13: Grup2'e ait spinal kord tranvers kesiti x4 lük büyütme (Hemaktoksilen&Eosin)



Resim14: Grup 2'e ait spinal kord x40 lük büyütme: yaygın glial reaksiyon, Grup 2 deneklerine ait spinal kord kesitlerinin incelenmesi sonucunda yaygın hemoraji, belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, glial hücre reaksiyonu ve yaygın demiyelinizasyon bulguları gözlenmiştir.



Resim15: Grup 3'e ait spinal kord tranvers kesiti x4 lük büyütme

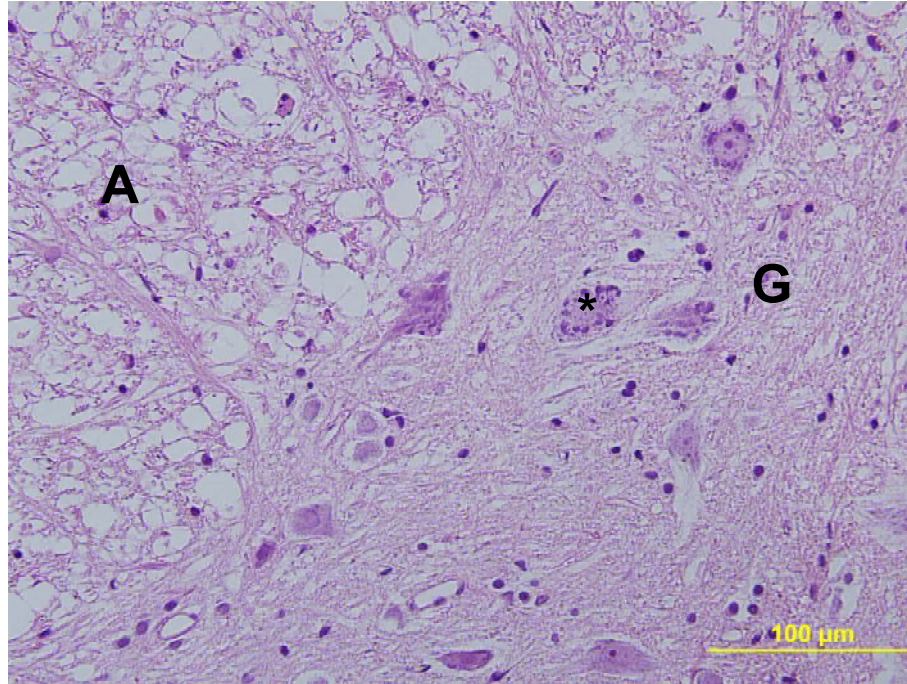


Resim16: Grup 3'e ait spinal kord tranvers kesiti x40 lük büyütme

Grup 3 deneklerine ait spinal kord kesitlerinin incelenmesi sonucunda hemoraji, glial hücre reaksiyonu birkaç alanda gözlenmiştir.



Resim17: Grup 4'e ait spinal kord tranvers kesiti



Resim18: Grup 4'e ait spinal kord tranvers kesiti x40 lük büyütme, *;motor nöron
Grup 4 deneklerine ait spinal kord kesitlerinin incelenmesi sonucunda ise sınırlı alanlarda hemoraji, grup 2'e göre daha az polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve glial hücre reaksiyonu gözlenmiştir.

Deneklerin histolojik skorları

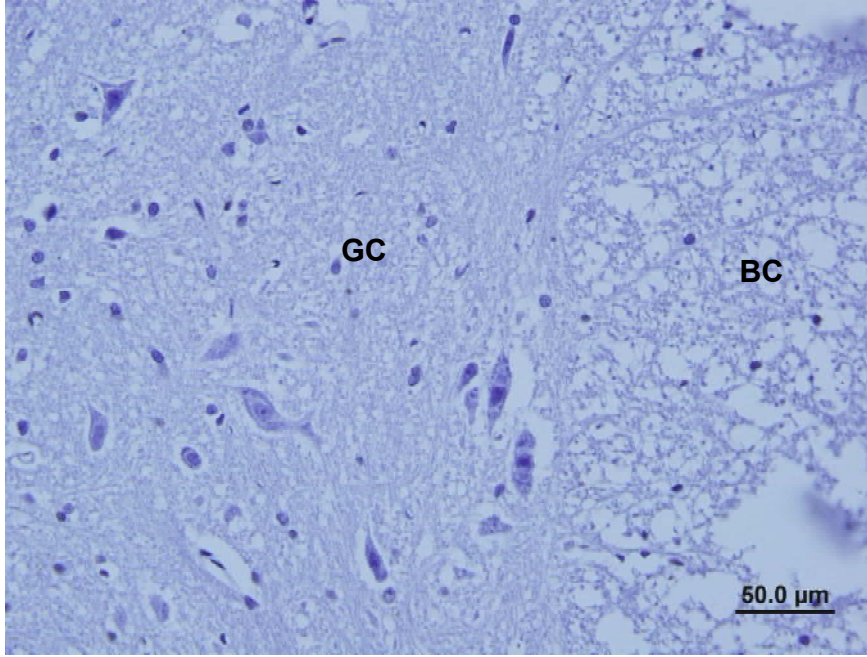
Denek	1	2	3	4	5	6	7
Grup1	0	0	0				
Grup2	2	2	2	2	2	2	2
Grup3	1	2	2	1	1	2	1
Grup4	1	2	1	1	2	1	1

Tablo14: Deneklerin histolojik skorları

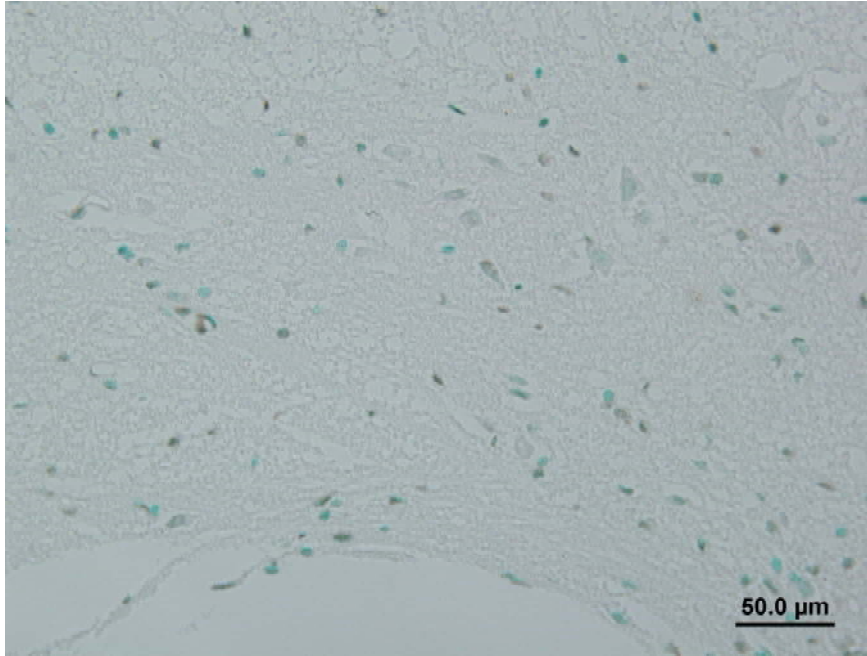
H&E ile histolojik bakı sonuçları karşılaştırıldığında,
grup1 ile grup2 arasında fark anlamlıdır ($p=0,003$)
grup1 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,011$)
grup1 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,017$)
grup2 ile grup3 arasında fark anlamlıdır ($p=0,023$)
grup2 ile grup4 arasında fark anlamlıdır ($p=0,007$)
grup3 ile grup4 arasında fark anlamlı değildir ($p=0,591$).

4.2- Apopitoz Değerlendirilmesi:

4.2.1-Tunel İmünohistokimyasal Boyama



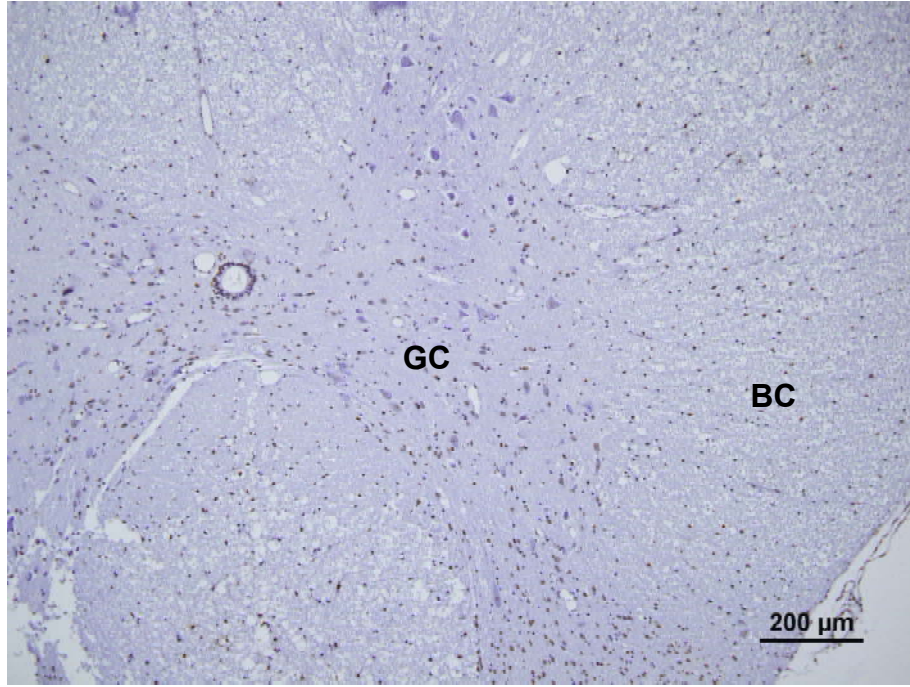
Resim19: Sham grubu X40lık büyütme (Mayer's). GC; gri cevher, BC; beyaz cevher



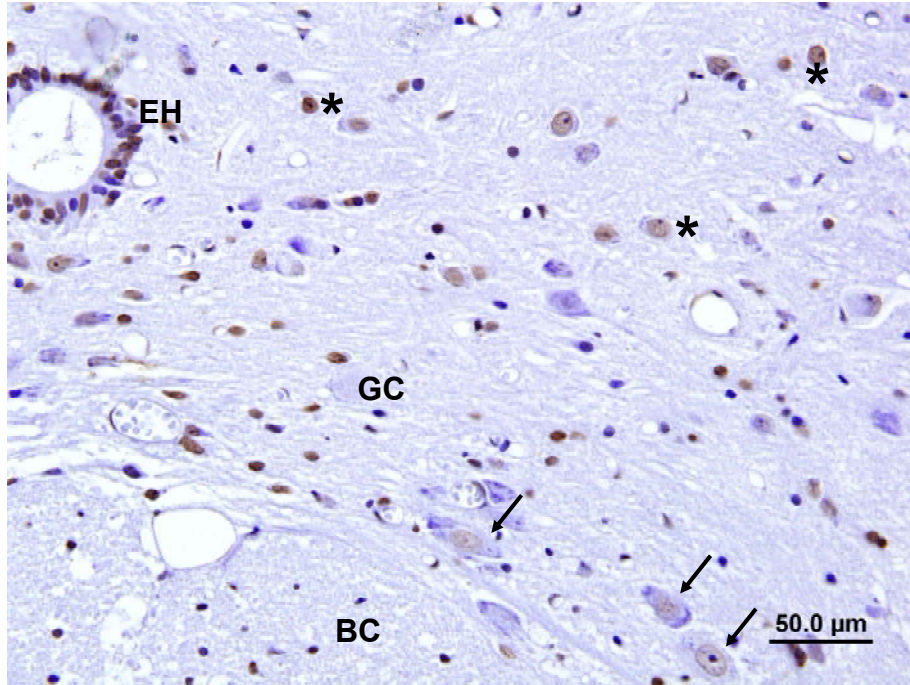
Resim20: Sham grubu X40lık büyütme (Metil green)

Normal spinal kord dokusu

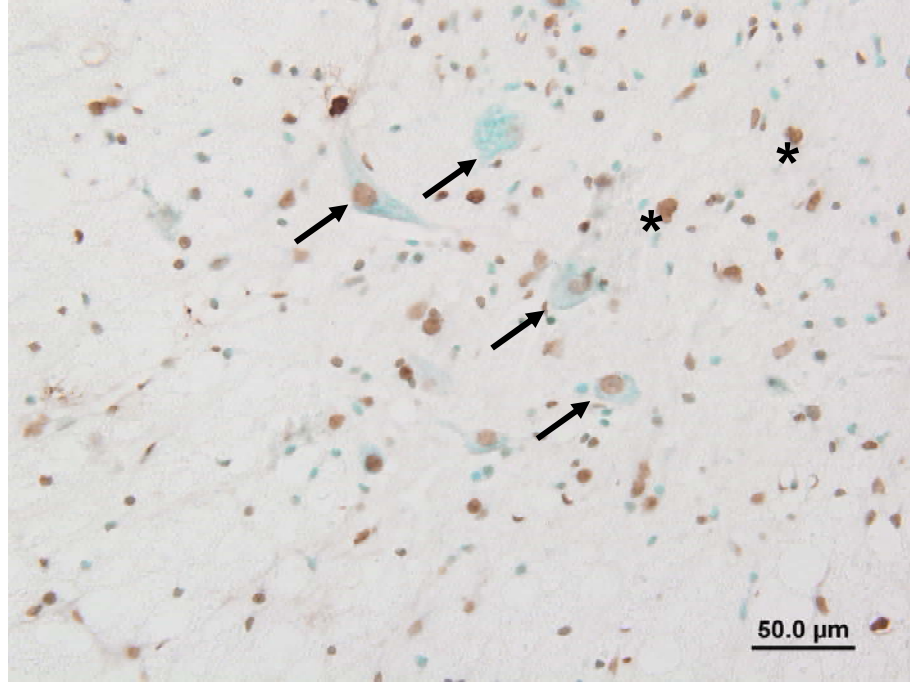
Grup 2



Resim21: Grup2 X10luk büyütme (Mayer's)

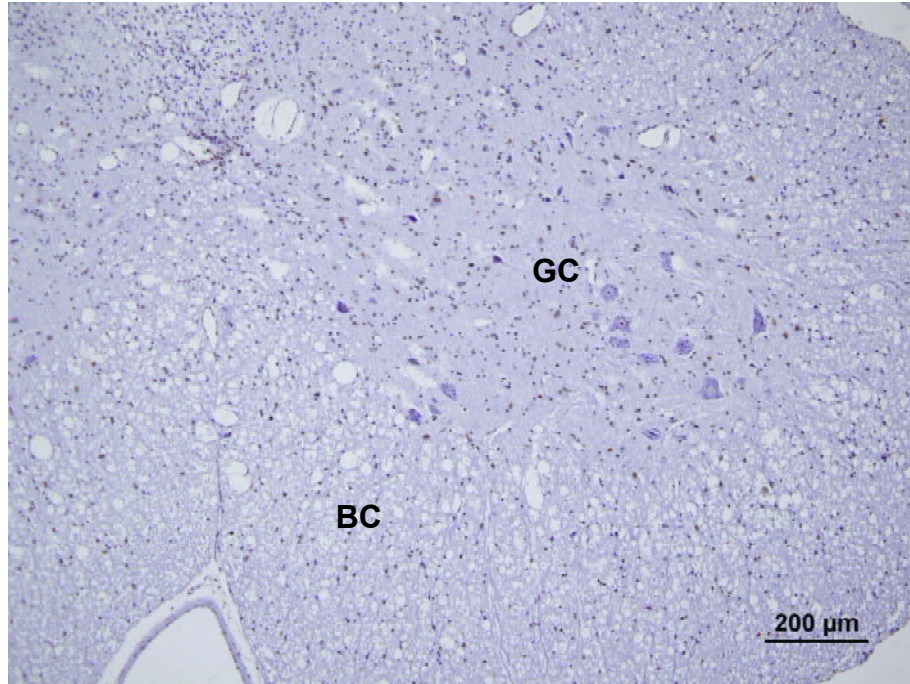


Resim22: Grup2 X40lık büyütme (Mayer's). EH; ependim hücreleri, Oklar; TUNEL-pozitif motor nöronlar, yıldızlar; TUNEL-pozitif glia hücreleri

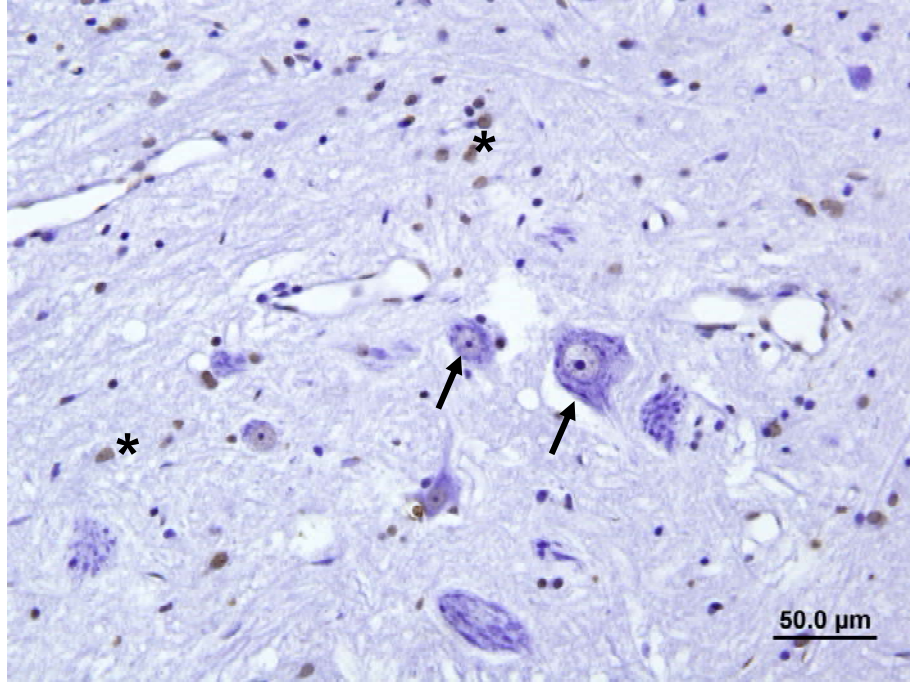


Resim23: Grup2 X40lık büyütme (Metil green) Oklar; TUNEL-pozitif motor nöronlar, yıldızlar; TUNEL-pozitif glia hücreleri

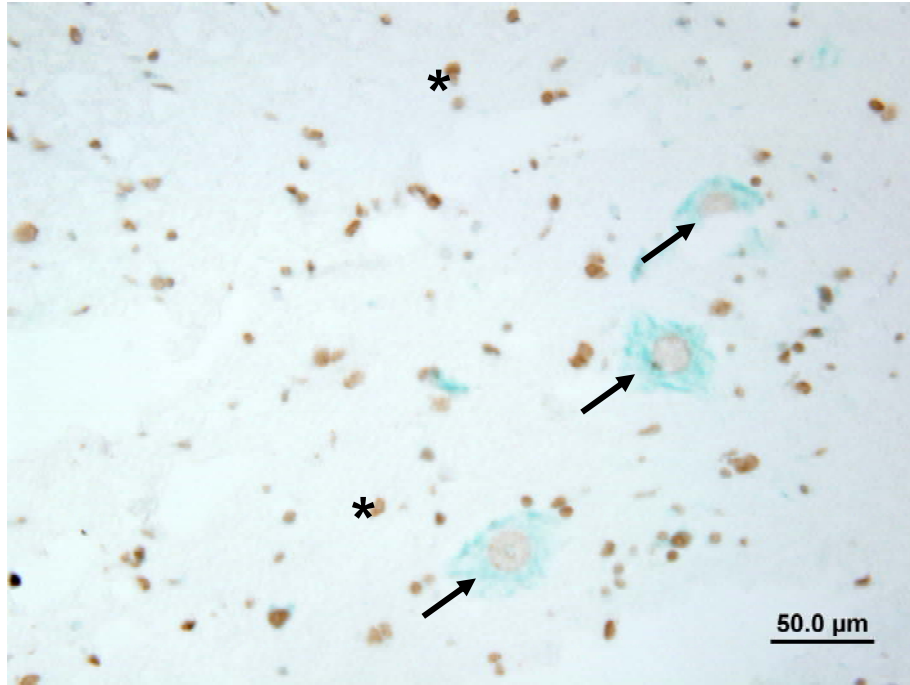
Grup 3



Resim24:Grup3 X10 luk büyütme (Mayer's)

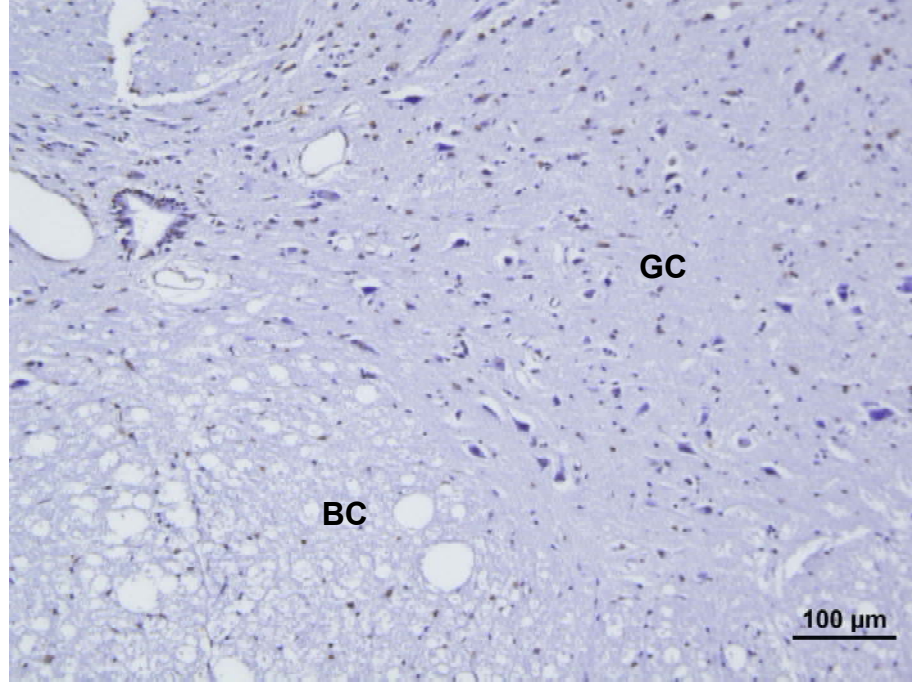


Resim25: Grup3 X40lık büyütme (Mayer's) Oklar; TUNEL-pozitif motor nöronlar, yıldızlar; TUNEL-pozitif glia hücreleri

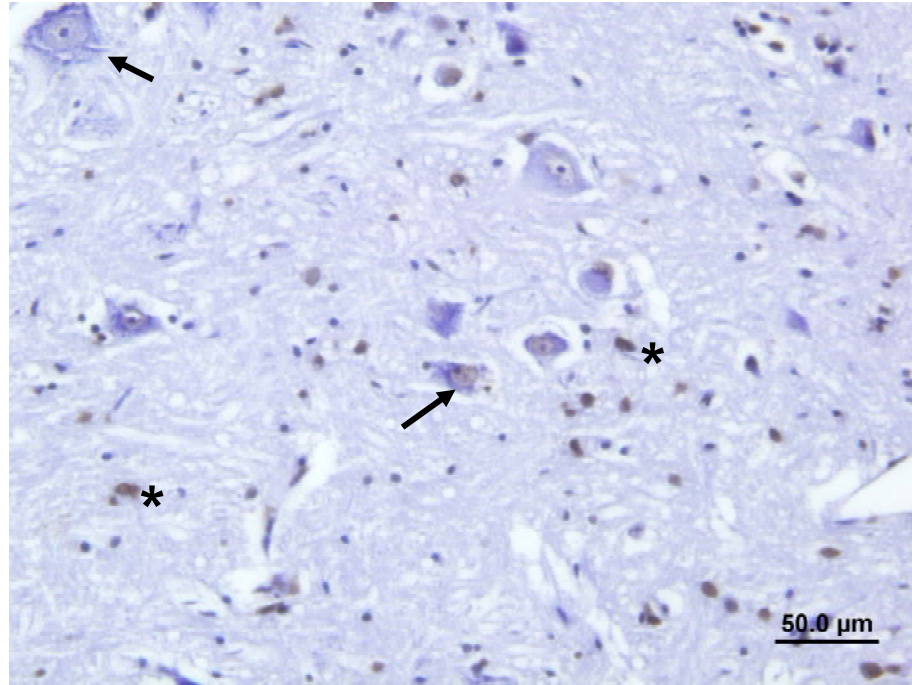


Resim26:Grup3 X40lık büyütme (Metil green) Oklar; TUNEL-pozitif motor nöronlar, yıldızlar; TUNEL-pozitif glia hücreleri

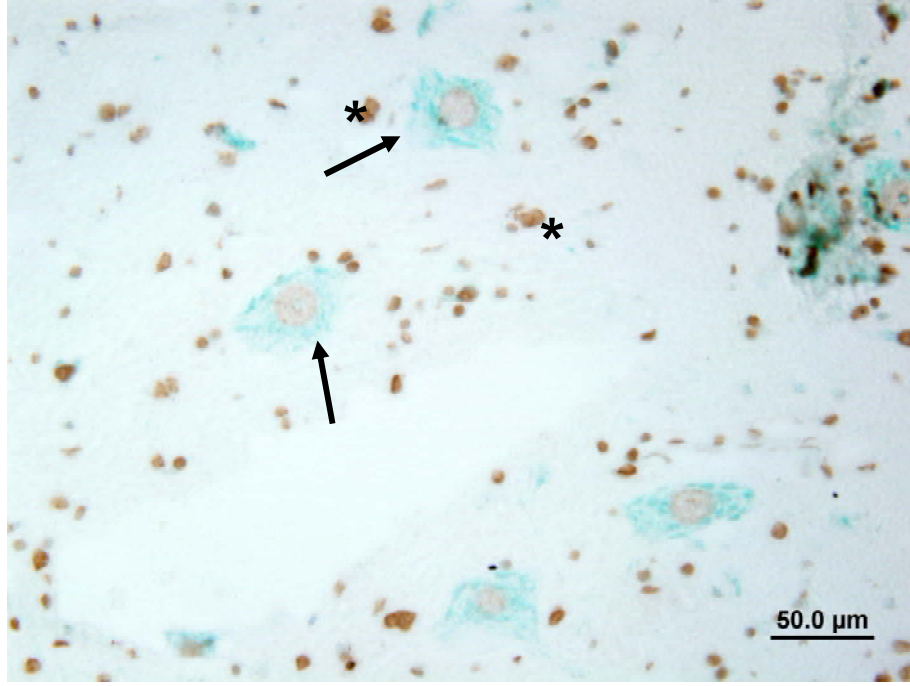
Grup 4



Resim27: Grup4 X20lık büyütme (Mayer's)



Resim28: Grup4 X40lık büyütme (Mayer's) Oklar; TUNEL-pozitif motor nöronlar, yıldızlar; TUNEL-pozitif glia hücreleri

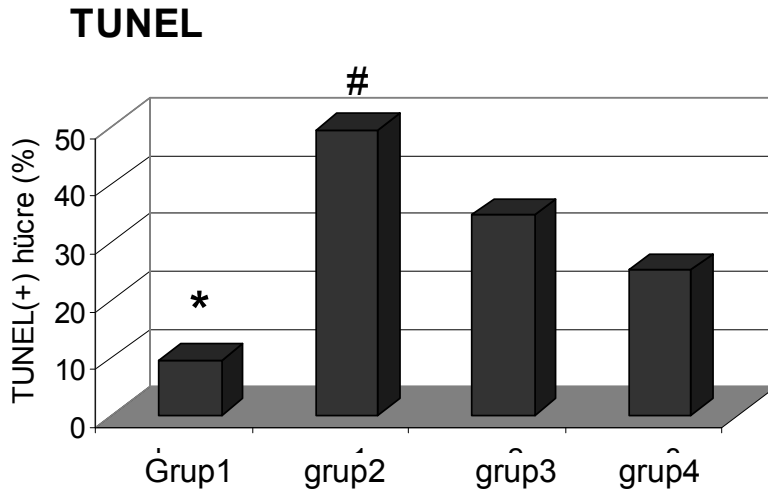


Resim29:Grup3 X40lık büyütme (Metil gren) Oklar; TUNEL-pozitif motor nöronlar, yıldızlar; TUNEL-pozitif glia hücreleri

Dokudaki apoptozun değerlendirilmesi amacıyla TUNEL boyama uygulanan kesitlerde TUNEL-pozitif hücre sayımları yapıldı. Bu amaçla lezyon bölgesinden alınan 5 μm'lik ardışık üç kesitte değerlendirme yapıldı. Her kesitte 20X mikroskopik büyütmede gri cevherde on farklı alanda TUNEL-pozitif hücre sayımları gerçekleştirildi. Sonuçlar yüzde oran cinsinden ifade edildi (Tablo15, Grafik 3). Yapılan istatistik analizde gruplar arasında fark olduğu gözlemlendi. Sham grubunda TUNEL-pozitif hücre sayısı hasar gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.00$). Grup 2'de TUNEL-pozitif hücre sayısı grup 3 ve grup 4'e göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.001$).

Gruplar	TUNEL-pozitif hücre (%)
grup1	9,6 ± 1,63*
grup2	49,4 ± 3,12 [#]
grup3	34,6 ± 1,81
grup4	25,2 ± 1,35

Tablo15: TUNEL-pozitif hücre oranları

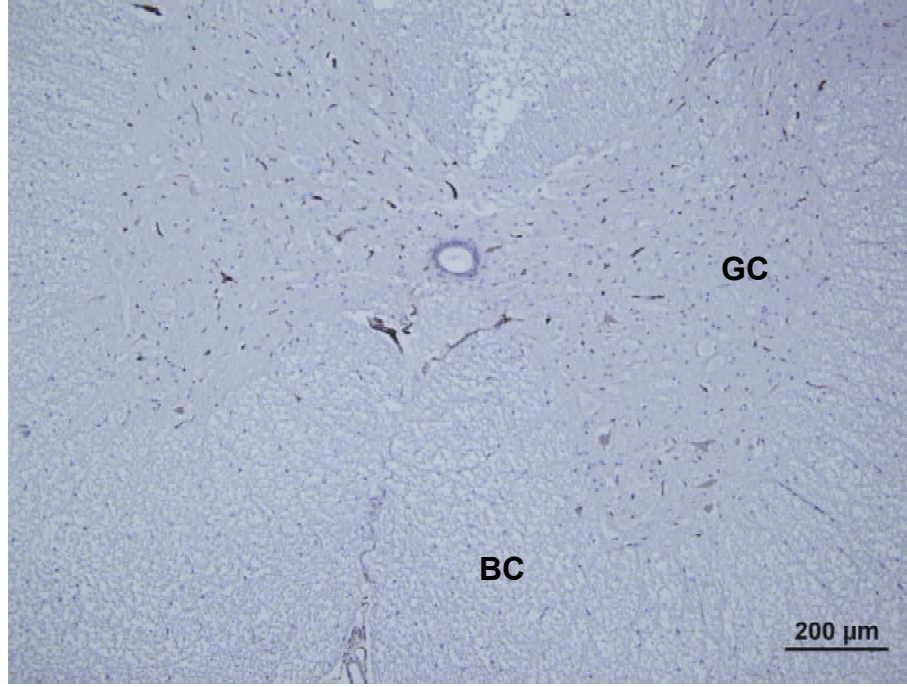


* Grup2, grup 3 ve grup 4'e göre anlamlı olarak farklı (p<0.05)

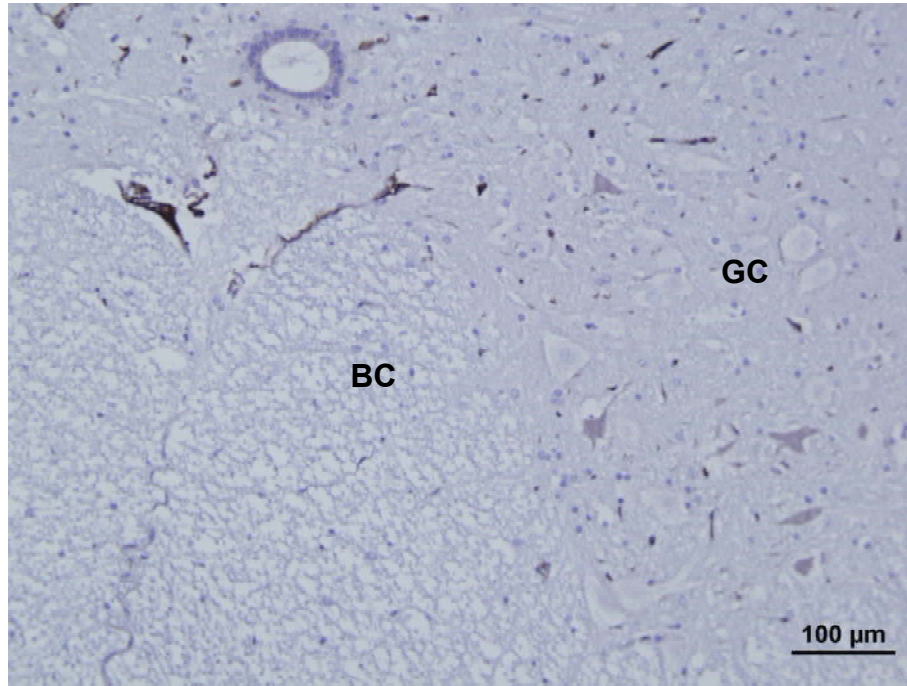
Grup3 ve grup 4'e göre anlamlı olarak farklı (p<0.05)

Grafik 3: Tunel pozitif hücre yüzdesi

4.2.2- Kaspaz 3-İmünohistokimyasal Boyama

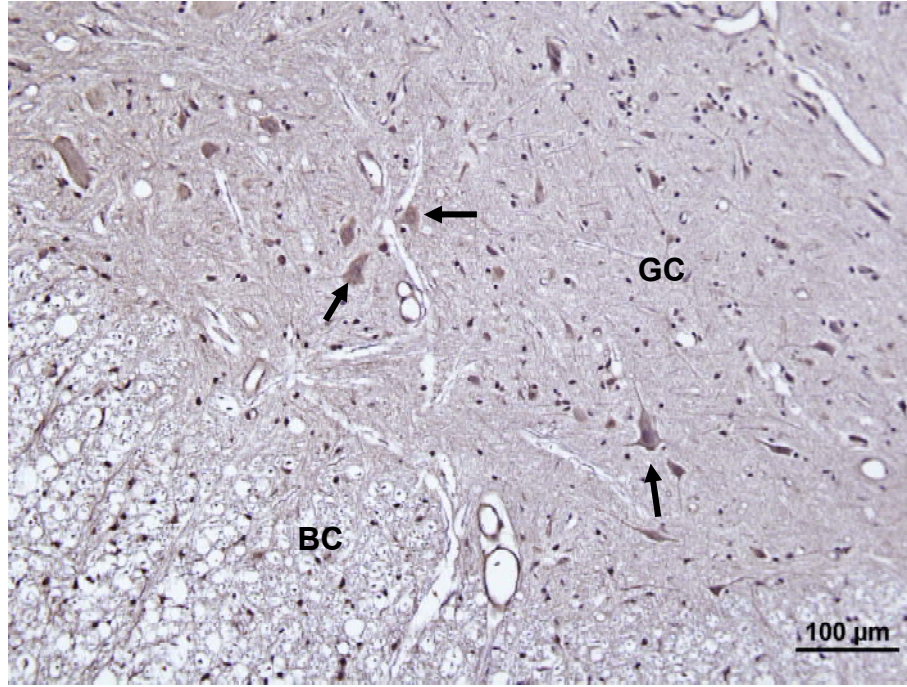


Resim30:Sham X10luk büyütme

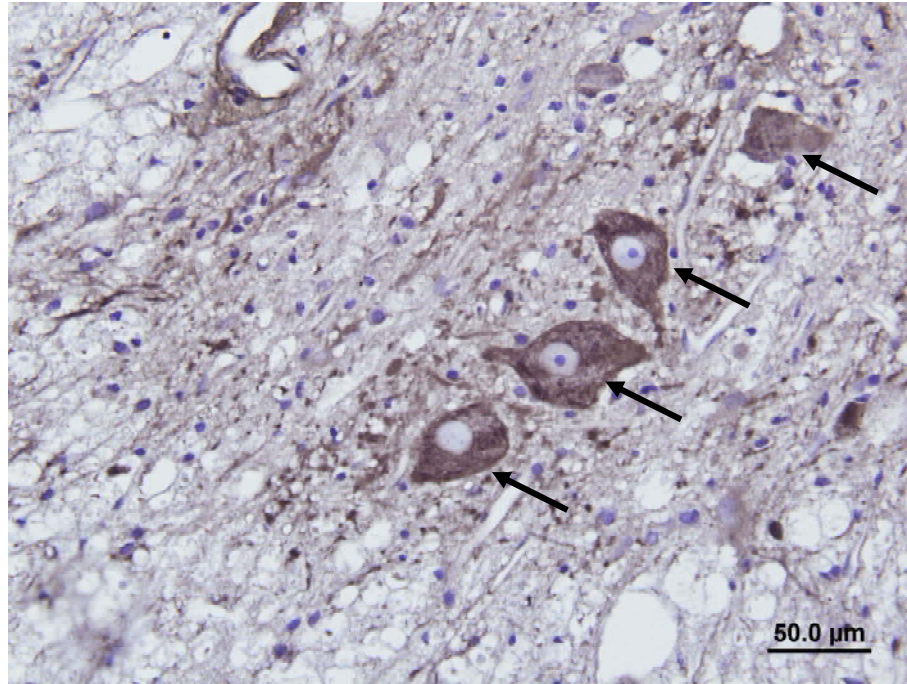


Resim31: Sham X20 lik büyütme

Grup2

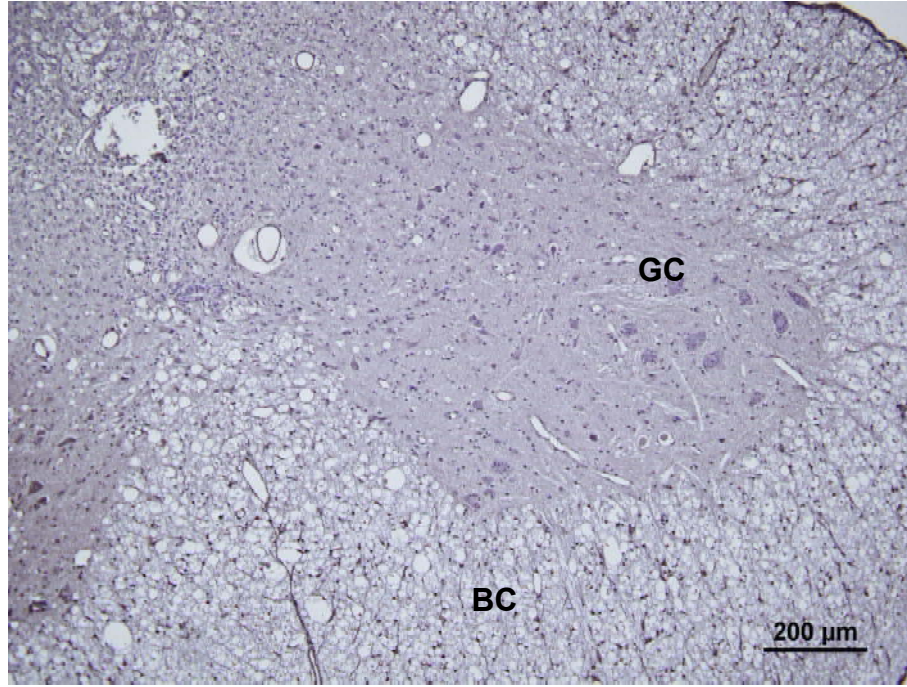


Resim32: Grup2 X20 lik büyütme

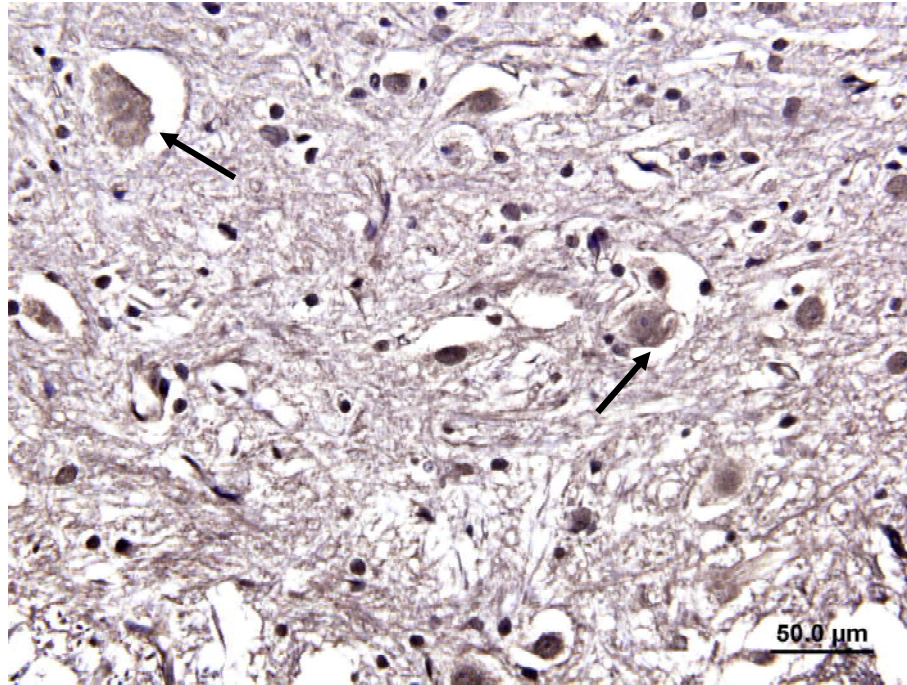


Resim33: Grup2 X40 lik büyütme

Grup 3

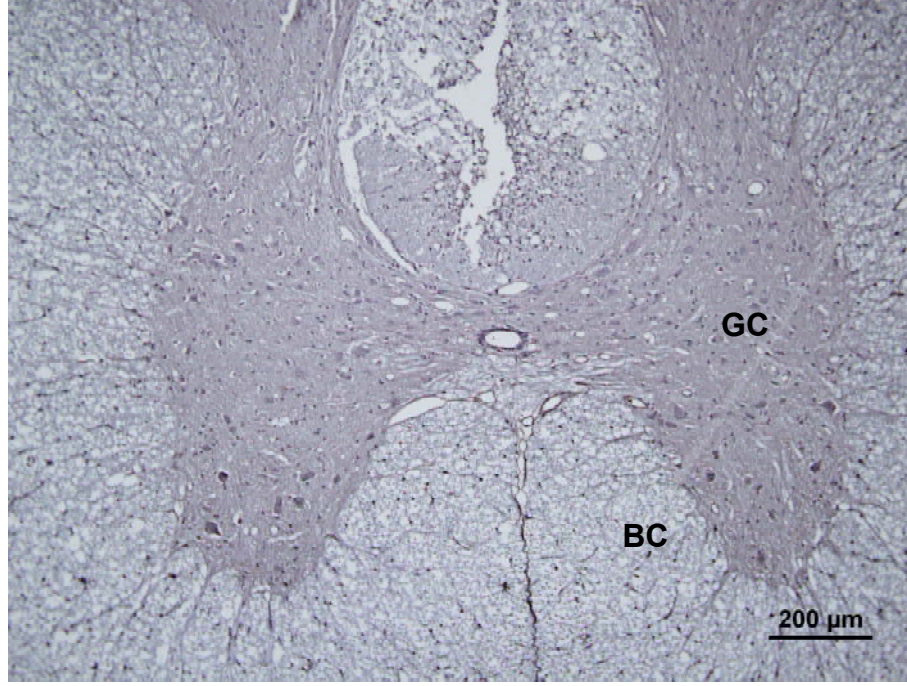


Resim34: Grup3 X10 luk büyütme

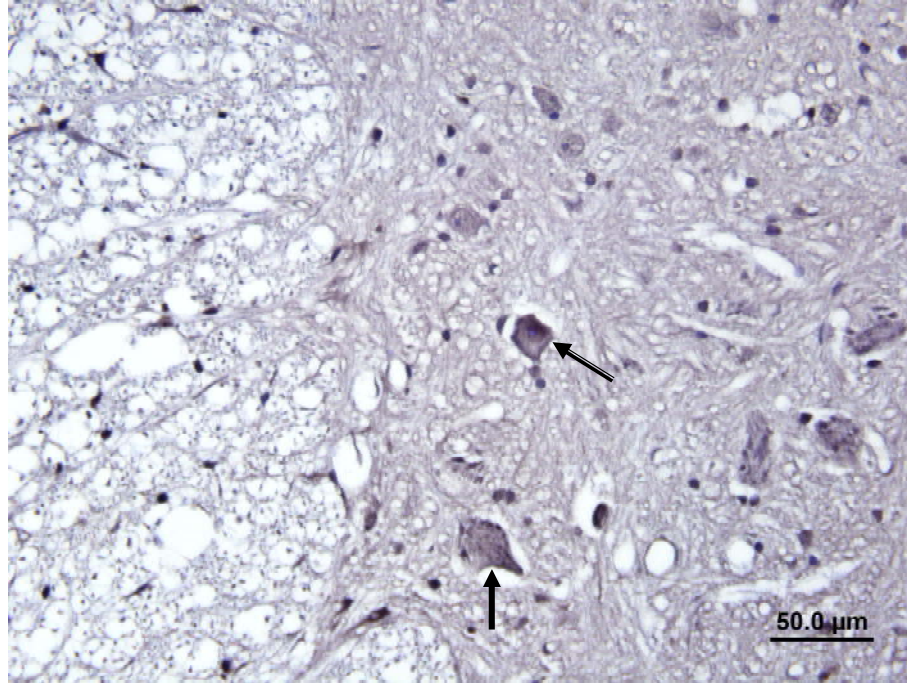


Resim35: Grup3 X40 ık büyütme

Grup4



Resim36: Grup4X10 luk büyütme



Resim37: Grup4 X40 ık büyütme

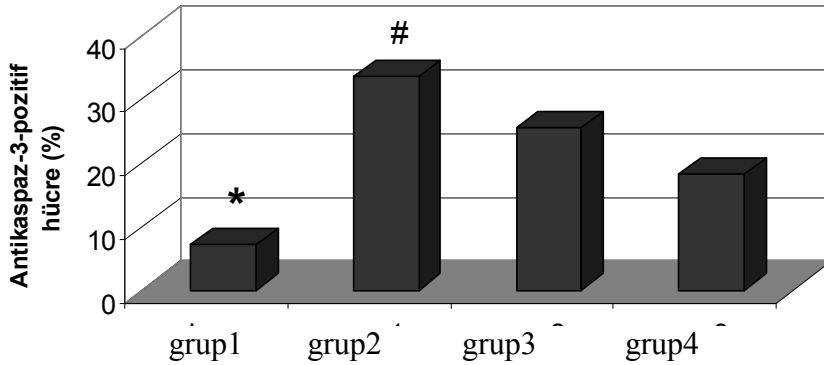
Kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama:

TUNEL boyama ile gösterilen doku apoptozunu desteklemek amacıyla kesitlere anti-kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama uygulandı. Her kesitte 20X mikroskopik büyütmede gri cevherde on farklı alanda anti-kaspaz-3-pozitif hücre sayımları gerçekleştirildi. Sonuçlar yüzde oran cinsinden ifade edildi (Tablo16, Grafik4). Yapılan istatistik analizde gruplar arasında fark olduğu gözlemlendi. Sham grubunda antikaspaz-3-pozitif hücre sayısı hasar gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.00$). Grup 1’de antikaspaz-3-pozitif hücre sayısı grup 2 ve grup 3’e göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.037$).

Gruplar	Antikaspaz-3-pozitif hücre (%)
Grup1	7,2 $\pm$ 1,28
Grup2	33,6 $\pm$ 2,80
Grup3	25,6 $\pm$ 1,43
Grup4	18,2 $\pm$ 1,15

Tablo 16: Antikaspaz-3-pozitif hücre oranları

Antikaspaz-3



* Grup2, grup 3 ve grup 4’e göre anlamlı olarak farklı ($p<0.05$)

Grup3 ve grup 4’e göre anlamlı olarak farklı ($p<0.05$)

Grafik 4: Antikaspaz-3 pozitif hücre oranları

TARTIŞMA

Akut omurilik yaralanması; modern toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen, ciddi ve harap edici bir nörolojik problem olması ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunmaması nedeniyle günümüzün en önemli sağlık sorunlarından(1,2). Olguların yaklaşık yarısı nörolojik açıdan komplet hasara sahiptir. Komplet hasarın % 54'u kuadripleji ve % 46'sı parapleji şeklindedir. Bu olguların hastanede kalış süreleri ve rehabilitasyonları uzun süreli ve tekrarlayıcıdır. Tedavi sonrası hayat kalitesi, sosyal ve ekonomik hayata dönüş ise düşük sınırlardadır (14,15). Bu hastaların yaşam boyu süren tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları ile yaşadıkları sosyal ve psikolojik problemler gözönüne getirildiğinde, hastayı, ailesini ve ülke ekonomisini etkileyen ciddi bir sağlık problemi ile karşılaşırız (16). Bu, olayın toplum üzerindeki yarattığı travmanın büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir

Omurilik yaralanmasının patofizyolojisinde oluşan hasarın primer ve sekonder mekanizmalarla olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bunlar; birincil mekanik hasar ve bunun tarafından tetiklenerek oluşan ve birçok etkenin rol oynadığı sekonder hasarlanmalardır(12). Primer hasarlanmayla mücadelede seçeneklerimiz hala çok sınırlıdır. Bununla birlikte bilinmektedir ki sekonder hasarlanma daha uzun sürmekte, daha önemli yer tutmakta ve morbidite ve mortalitenin düşürülmesinde esas hedef olmaktadır. Omurilik hasarının akut safhasındaki tedavi çalışmalarının büyük çoğunluğu sekonder nörotoksik oluşumları engellemeyi ya da bu sürecin ilerlemesini durdurabilmeyi amaçlar (19,34,35).

Bu safhada özellikle apoptozis mekanizması spinal kordda sekonder hasarlanmanın önemli mekanizmalarından biri olarak görülmektedir(63,64).

Halen akut omurilik yaralanmasının tedavisi üzerine yapılan araştırma çabaları, çağdaş yaklaşıma değerli katkılarda bulunmaktadır, fakat kalıcı ve anlamlı derecede etkili ve aynı zamanda evrensel bir tedavi protokolü geliştirilebilmiş değildir (12,13).

Sekonder hasar sonucu oluşan 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. 3-4 dakikalık iskemiyi 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.

İrreversible 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. Bununla birlikte, intrasellüler Ca^{++} konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikisi de şiddetle nörotoksik olan aspartat ve glutamat gibi eksitator aminoasitlerin miktarının artmasına neden olur (181)

Glutamat beyin metabolizmasında önemli bir yer tutmaktadır. İskemi sonrasında eksitator mediyatörü olan glutamat lokal olarak artınca, hücre zarında NMethyl- 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 (182).

Intrasinaptik 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.(181,182)

Gabapentin, GABA' ya yapısal olarak benzeyen bir lipofilik analogdur. Gabapentinin hücresel mekanizmalardaki farmakolojik rolü net olarak anlaşılabilmiş değilse de bazı hipotezler öne sürülmektedir. Hayvan modellerinde antikonvülzan, antinosiseptif, anksiyolitik ve nöroprotektif etkinliğinde farklı mekanizmalar rapor edilmiştir. Gabapentinin farmakolojik etkilerini açıklamak için hücresel mekanizmalardaki çeşitli hipotezler: Gabapentin, vücuttaki çeşitli membran bariyerlerden, spesifik aminoasit transport sistemini (sistem L) kullanarak ve bazı aminoasitlerle yarışarak geçmektedir (161,165); GABA' nin konsantrasyon ve sentez hızını artırır (171); Beyinde, muhtemelen voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının subuniti ile ilişkili, farklı bir bölgeye yüksek affinite ile bağlanır (172); Çeşitli monoamin nörotransmitterlerin salınımını azaltır (173,174).;Elektrofizyolojik

alışmalar voltaj ile aktive olan Na⁺ kanallarını inhibe ettiğini gösterse de, başka çalışmalar zıt düşmektedir (175,176);Kanda seratonin konsantrasyonunu yükseltmektedir (177); Birçok modelde nöronal hücre ölümünü önlemektedir(166,167).

Sistem L aminoasit transporter özelliğinden dolayı, gabapentin molekülleri membran bariyerleri kolaylıkla geçebilmekte ve sitozolde yüksek konsantasyona ulaşabilmektedir (161,162). Gabapentinin, ekstrasellüler ortama göre on kat fazla bulunması, beyin sitozolünde de transport mekanizmalarının geçerli olduğunu düşündürür (163,164).

Yapılan bir çalışmada, gabapentinin nöroprotektif etkisinde iki hipotez sunulmuştur(168). Beyin dokusunda glutamat sentezi için bir yolak, alfa-ketoglutaratın, branched-chain aminoasitlerden (lösin, isolösin, valin) Branched-Chain aminotransferaz enzimiyle (BCAA-T) transaminasyonudur. Gabapentin BCAA-T'in kompetatif inhibitörüdür. Gabapentin, beyin sitozolünde bulunan BCAA-T' in isoform (nöronal form)' una selektif etkiliyken, mitokondrial BCAA-T' a etkisi minimaldir (169). Gabapentin in vivo olarak BCAA-T' in etkisini önemli oranda inhibe ederek, glutamatın sitozolik konsantrasyonunu düşürmektedir, bu da glutamata bağımlı hücre ölümünü azaltmaktadır. Rat beyninide, NMR spektroskopisi ile, Gabapentin tedavisi ile glutamatın %20 oranında azaldığı gösterilmiştir (170).

In vitro olarak, gabapentin, glutamat dan GABA sentezleyen glutamik asit dekarboksilaz (GAD)enzimi ile L-lösinden glutamat sentezleyen enzimi modüle eder.(169,170)

Gabapentin, bir inhibitör nörotransmitter olan GABA' nın yapısal anoloğu olarak dizayn edilmiş, bununla birlikte, çalışmanın sonuçlarında, Gabapentinin farmakolojik rolünde farklı mekanizmaların da rol oynadığı bildirilmiştir (16).

Kesin etki mekanizması halen bilinmemekle birlikte gabapentin, GABA sinapslarında etki gösteren bazı ilaçlardan farklı etki mekanizmasına sahiptir. Gabapentin, GABA-A ve GABA-B' de veya beyindeki GABA alım taşıyıcılarında etkin değildir. Gabapentinin, beyinde voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının alfa2delta alt üniteleri ile birlikte bulunan bağlanma bölgelerine yüksek afinitesi vardır.

Sonuç olarak, gabapentinin hücresel ve moleküler aktivitesi konusunda çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen halen tam olarak bilgi sahibi değiliz. Gabapentin glutamat, glutamin veya GABA' nın metabolizma veya konsantrasyonu üzerine etki etmektedir. Bazı sonuçlar voltaj bağımlı Ca^{++} kanalları subtipleri ile ilişkisini göstermiştir.

Gabapentin'in IV(intravenöz). farmakokinetiği ratlarda 4-500 mg/kg arasında değişen dozlarda lineerdir. Ortalama yarı ömrü IV enjeksiyondan sonra sonra ratlarda 1.7 saat, köpeklerde 2.9 saat, maymunlarda 3 saattir. Dokulara geniş olarak dağılır. Köpeklerde Gabapentin %34 oranında N-metilGabapentine metabolize olur. Fare, rat ve maymunlarda metabolizması % 5'in altındadır. İdrar yolu ile atılır. Hepatik sitokrom p 450 enzimini indüklemeyiz(151,163).

BAYDAS G.ve ark. yaptıkları çalışmada streptozin ile Diabet oluşturulan ratlar 2 ayrı gruba ayrılmışlar. 1. grup kontrol, ilaç verilmemiş, 2. gruba 50mg/kg Gabapentin verilmiş. 6 hafta sonunda GFAP,S100B, ve NSE immunoblotting yöntemiyle hipocampus, korteks ve serebellumda karşılaştırıldığında tedavi almayan grupta artışı görülmüş. Tedavi almayan grupta lipidperoksidaz ve glutatyon değerlerinin azaldığı görülmüş. Böylece Gabapentin tedavisinin diabetik ratlarda hipokampal ve kortikal nörodejenerasyonu azalttığı görülmüştür(179).

WA Lagrèze ve ark. intraoküller basınç artırarak retinal iskemi yaratılmış ratlarda Gabapentin doz ve verilme zamanı değiştirilerek ganglion hücre tabakasındaki histolojik değişiklikler saptamıştır. Buna göre ilk 4 saat içinde Gabapentin verilmesi nöroprotektifmiş.25-50-75 mg/kg'lık dozlar verildiğinde, 25mg/kg dozun nöroprotektif olmadığı, 50-75 mg/kg'lık dozların nöroprotektif olduğu görülmüştür (36).

Anne M ve ark. 12 günlük sağ karotisi bağlanan Gabapentin verilen farelerde nöbet kontrolü ve hemisferik beyin atrofi karşılaştırılmıştır. 0, 50, 100, 150, 200 mg/kg'lık Gabapentin dozları intraperitoneal olarak uygulanmış. 4 hafta sonra hemisferik beyin atrofileri karşılaştırılmıştır. 200 mg/kg dozun nöbeti azalttığı, 150-200 mg/kg dozun beyin atrofisini azalttığı, daha düşük dozlarda ise nöroprotektif etkisi izlenemediği gözlenmiştir(180).

Farklı çalışmacılar tarafından değişik modellerde gabapentinin nöroprotektif etkisi gösterilmiştir. Bizde spinal kordda klip kompresyon modelinde Gabapentinin

nöroprotektif etkisini değerlendirmek amacıyla bu çalışmayı planladık. Çalışmamızda grup1(sham), grup2(kontrol), grup3(travma sonrası ilaç verilecek), grup4(travma öncesi ilaç verilecek) olarak plandı. Gabapentin dozu, literatürde bulunan çalışmalar göz önünde bulundurularak, 150mg/kg (İV) olarak belirlendi (36,179,180). Glutamat'ın, yaralanmadan sonra 15 dakikada pik değerine ulaşması ve 120 dakika kadar yüksek kalması, travma öncesi Gabapentin uygulanan grubun, eksitotoksik etkiye daha kısa süre ile maruz kaldığını göstermektedir. Gabapentin, ratlarda maksimum etkiye ulaşma süresi göz önüne alınarak, grup3'te travmadan 2 saat sonra ve grup4'de travmadan 5 dakika önce uygulanmıştır

Spinal kord yaralanmasındaki morfolojik değişiklikler insanlarda ve kemiricilerde benzerdir. İnsanlarda inflamatuvar komponent daha az etkilidir. Ratlarda spinal kontüzyonda sitokinlerin hızlı artışı insanlarla benzerdir (124). İnsanlarda ratlara göre astroglial yanıt belirgin şekilde azalmış ve gecikmiş olup ılımlı bir astroglial skar gelişir(125). Spinal kord hasarında Schwann hücre yanıtı insanlarda sık kemiricilerde ise daha az sıklıkta görülür. Ratların kolay temin edilebilmeleri, bakımların daha kolay olmaları, standart travmaya verdikleri fonksiyonel cevapların kolay ve hassas ölçülebilmeleri ve spinal kod yaralanmasında morfolojik değişiklikler insan ve kemiricilerde benzer olduğu için çalışmamızı ratlarla yapmayı planladık.

İnsan omurilik yaralanmasını taklit etmek için birçok deneysel model geliştirilmesine rağmen bu modellerin bazı eksiklikleri vardır. Çeşitli kompresyon veya kontüzyon modellerinin birebir aynı patofizyolojik mekanizmalara sahip olmadığı bilinmelidir. Örneğin, ağırlık düşürme modeli sadece ilk darbenin travmasını taklit eder, devam eden sıkışma kuvvetini ihmal eder. İnsanda oluşan spinal travmalarda, anterior veya anteroposterior omurilik kompresyonu olduğu halde, deneysel hayvan modellerinde çoğunlukla posterior kompresyon yaratılmaktadır. Bu nedenle, bir ilacı denerken tek bir model kullanmanın, klinik etkinliği değerlendirmedeki önemi kısıtlı kalacaktır(26).

Çalışmamızda standart travma sağlayabilmek amacı ile Rivliv ve Tator tarafından tarif edilen klip mpresyon modeli uygulandı. 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. Anevrizma klipi olarak 63 gr basınç uygulayan Aesculap FE 721K kullanıldı. Klipaj süresi 1 dakika olarak belirlendi.

Işık mikroskopikunda Hemotoksilen-Eozin bakı sonucunda, Gabapentin uygulanmayan grup2'de(kontrol); yaygın hemoraji, belirgin polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, glial hücre reaksiyonu ve yaygın demiyelinizasyon izlenirken, Gabapentin uygulanan gruplarda(grup3-4): hemorajinin sınırlı olduğu ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve glial hücre reaksiyonunun daha hafif olduğu görüldü. Histolojik skora sonucunda, Gabapentin uygulanan gruplarda hasarın, kontrol grubuna göre daha hafif olduğu saptanmıştır.

Dokudaki apoptozun değerlendirilmesi amacıyla TUNEL boyama uygulanan kesitlerde TUNEL-pozitif hücre sayımları yapıldı. Sonuçlar yüzde oran cinsinden ifade edildi. Yapılan istatistik analizde gruplar arasında fark olduğu gözlemlendi. Sham grubunda TUNEL-pozitif hücre sayısı hasar gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.00$). Grup 2'de(kontrol) TUNEL-pozitif hücre sayısı grup3(travmadan 2 saat sonra ilaç verilen) ve grup 4'e(travmadan 5 dk önce ilaç verilen) göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.001$). Travma öncesi Gabapentin uygulanan grupta, travma sonrası Gabapentin uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması, Gabapentin'in nöroprotektif etkisini göstermektedir.

Yine TUNEL boyama ile gösterilen doku apoptozunu desteklemek amacıyla kesitlere anti-kaspaz-3 immunohistokimyasal boyamada gri cevherde on farklı alanda anti-kaspaz-3-pozitif hücre sayımları gerçekleştirildi. Yapılan istatistik analizde gruplar arasında fark olduğu gözlemlendi. Sham grubunda antikaspaz-3-pozitif hücre sayısı hasar gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.00$). Grup 2'de antikaspaz-3-pozitif hücre sayısı grup 3(travmadan 2 saat sonra ilaç verilen) ve grup 4'e(travmadan 5 dk önce ilaç verilen) göre anlamlı olarak daha yüksek bulunması ($p=0.037$) Gabapentinin nöroprotektif etkisini göstermektedir.

Histolojik incelemelerimizde Hemotoksilen-Eozin boyamada Gabapentin uygulanmayan grup(grup2) ile uygulanan gruplar arasında (grup3,grup4) arasında hemoraji, glial hücre reaksiyonu ve demiyelinizasyon alanları arasında fark izlendi. Dokudaki apoptozun değerlendirilmesi amacıyla

TUNEL boyama uygulanan kesitlerde TUNEL-pozitif hücre sayımları yapıldı. Yapılan istatistik analizde gruplar arasında fark olduğu gözlemlendi. Sham grubunda TUNEL-pozitif hücre sayısı hasar gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.00$). Grup 2'de TUNEL-pozitif hücre sayısı grup 3 ve grup 4'e göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0.001$). Tunel boyama ile gösterilen doku apoptozunu desteklemek amacıyla kesitlere anti-kaspaz-3 immunohistokimyasal boyamada anti-kaspaz-3-pozitif hücre sayımları gerçekleştirildi. Yapılan istatistik analizde gruplar arasında fark olduğu gözlemlendi. Hemotoksilen-Eozin, Tunel ve anti-kaspaz-3 immunohistokimyasal boyamaların gruplar içinde anlamlı olması ve üç boyama tekniğinde sonuçlarının birbirlerini desteklemeleri, travma öncesi Gabapentin uygulanan grupta, travma sonrası Gabapentin uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması, gabapentinin nöroprotektif etkisini olduğunu histolojik olarak düşündürmektedir.

Spinal yaralanmalarda başarılı bir tedaviden söz edebilmek için morfolojik iyileşmeye klinik düzeltilmesinde eşlik etmesi beklenmektedir. Bu nedenle bütün deneysel araştırmalarda çeşitli nörodavranışsal testlere ihtiyaç vardır. Bizimde tercih ettiğimiz BBB ve inclined plane testi en sık kullanılanlar arasındadır. Çalışmamızda gruplar nörodavranışsal sonuçlar açısından karşılaştırıldığında BBB davranış skoruna göre Sham grubu ile travma uygulanan gruplar arasındaki fark anlamlı olarak bulunmuştur. Birinci gün BBB davranış skoruna göre grup 2 ile grup 3 ve grup 3 ile grup 4 arasındaki fark anlamlı değildir. Grup 2 ile grup 4 arasındaki fark anlamlıdır. Onuncu günden sonra BBB davranış skoruna göre fonksiyonel iyileşme üzerine olumlu etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Glutamat'ın, yaralanmadan sonra 15 dakikada pik değerine ulaşması ve 120 dakika kadar yüksek kalması, travma öncesi Gabapentin uygulanan grubun, eksitotoksik etkiye daha kısa süre ile maruz kaldığını göstermektedir. Literatür ile birlikte değerlendirildiğinde travma öncesi Gabapentin uygulanan grup, darbe sonrası aşırı glutamat artışının neden olduğu eksitotoksik etkiye daha dirençli hale gelmektedir. Bu durum, grup 4'de yer alan deneklerdeki iyileşmenin, grup 3'deki deneklere göre daha iyi olmasını açıklayabilir.

Gruplar Inclined plane testi sonuçlarına göre değerlendirildiğinde de Sham grubu ile travma uygulanan gruplar arasındaki fark anlamlı olarak bulunmuştur. Birinci gün Inclined plane testi davranış skoruna göre grup 2(kontrol) ile

grup3(travmadan 2 saat sonra ilaç verilen) ve grup2 ile grup4(travmadan 5 dk önce ilaç verilen) arasındaki fark anlamlıdır. Grup3 ile grup4 arasındaki fark anlamlı değildir. Onuncu günde Inclined plane testi sonuçları değerlendirildiğinde kontrol grubu ile travma uygulanan gruplar arasındaki fark anlamlı olarak bulunmuştur. Spinal kord hasarlanması öncesi ve sonrası Gabapentin uygulamasının 10.günden sonra fonksiyonel iyileşme üzerine olumlu etkisi olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmamızda uyguladığımız iki farklı nörodavranışsal test tedavi gruplar için benzer sonuçlar vermişlerdir. Özellikle inclined plane testde fonksiyonel düzelmelerin daha önce başladığı ayırt edilebildiği gözlenmiştir..

Literatüre baktığımızda bugüne dek gabapentine en yakın molekül olan pregabalin ile Thrasivoulos G. ve arkın yaptığı çalışma dışında Gabapentin ile spinal kord üzerinde yapılan ancak bir tek tez çalışması bulabildik. Thrasivoulos G. ve ark pregabalinin ratlarda ağırlık düşürme yöntemiyle oluşturulan spinal yaralanmada metilprednizolon ve minoksiline göre nöroprotektif açıdan daha etkili olduğunu göstermişlerdir.. Kale A.ve ark.(183) spinal kord iskemi-perfüzyon modelinde Gabapentin'in etkilerini araştırdıkları çalışmalarında ise 30 mg/kg ile 200mg/kg verilen grupları birbirleri ile karşılaştırmışlardır. Postop 6. 24. ve 48. saatlerde Tarlov davranış testi, postop 48 saat biyokimyasal ve 48 saat sakrifikasyon sonrası histolojik inceleme yapılmış. Çalışmalarında düşük ve yüksek doz gabapentin uygulamasının iskemi-reperfüzyon hasarında spinal kord dokusunda ve plazmada glutatyon düzeyleri ile süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde bir artışa yol açarak antioksidan kapasitenin artışına neden olduğu, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu azaltarak serbest radikal düzeylerini düşürüp organı koruduğunu göstermişlerdir. Spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında, biyokimyasal, histopatolojik ve nörolojik değerlendirmelere dayanarak, gabapentin kullanımı ile hasarın şiddeti azalmakta, fakat yüksek ve düşük doz uygulanması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır.

Omurilik dışındaki diğer nöral dokularda gabapentin'in nöroprotektif etkisinin araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır. Anne M ve ark. 12 günlük sağ karotisi bağlanan Gabapentin verilen farelerde hemisferik beyin atrofisi karşılaştırdığı çalışmada 0, 50, 100 mg/kg'lık Gabapentin dozları etkisizken, 150-200 mg/kg dozun beyin atrofisini azalttığını göstermişlerdir,(180). Yine WA Lagrèze ve ark.

yaptıkları çalışmada intraoküler basınç artırılarak retinal iskemi yaratılmış ratlarda Gabapentin doz ve verilme zamanı değiştirilerek ganglion hücre tabakasındaki histolojik değişiklikler saptamıştır (36). Kale A. ve ark. çalışmalarında doz değişikliğin nöroprotektif olarak fark yaratmadığını göstermişse de Anne M ve WA Largreze'nin çalışmalarında doz değişikliğinin fark yarattığı gözlenmektedir. Gabapentinin spinal travmada nöroprotektif etkisinin araştırıldığı literatürdeki ilk çalışma olan araştırmamızda Gabapentinin dozunu diğer araştırmalarla uyumlu olarak 150 mg/kg olarak seçerken, ilaın verilif yolunu ve spinal travma öncesi ile sonrasındaki verilif zamanlarını farklı seçtik. Bu çalışmanın diğer araştırmalara göre önemi gabapentin intravenöz yolla verilerek kanda etkin düzeye ulaşmasının garantilınmış olmasıdır. Yeni yapılacak çalışmalarda değişik dozlarla ve değişik ilaç verilme zamanları ile gabapentin'in optimum nöroprotektif etkisinin ortaya çıkma koşulları bulunabilecektir.

SONUÇLAR

1- Inclined plane testi sonuçları değerlendirildiğinde, Gabapentin uygulanan grupların motor fonksiyonlarında iyileşme olduğu saptanmıştır. Travma öncesi Gabapentin uygulanan gruptaki iyileşmenin, travma sonrası Gabapentin uygulanan grupla karşılaştırıldığında daha hızlı ortaya çıktığı ve daha iyi olduğu gösterilmiştir.

2- BBB skorları değerlendirildiğinde, Gabapentin uygulanan grupların motor fonksiyonlarında iyileşmenin diğer gruplara göre belirgin olduğu saptanmıştır. Travma öncesi Gabapentin uygulanan gruptaki iyileşmenin, travma sonrası Gabapentin uygulanan grupla karşılaştırıldığında daha hızlı ortaya çıktığı ve daha iyi olduğu saptanmıştır.

3- Çalışmamızda kullanılan her iki nörodavranışsal testin benzer sonuçlar vermesi, kullanılan testlerin ve elde edilen tedavi sonuçlarının güvenilirliği açısından önemlidir. Yapılan değerlendirmelerde BBB skorlaması ve inclined plane testleri Gabapentin uygulamasının iyileşmeye olumlu katkıda bulunduğunu gösterilmiştir.

4- Işık mikroskopik bakı sonucunda, Gabapentin uygulanan gruplardaki hasarın, kontrol gruplarına göre daha hafif olduğu saptanmıştır. Travma öncesi Gabapentin uygulanan gruptaki hasarın travma sonrasına göre istatistiksel olarak fark anlamlı değil olarak bulunmuştur.

5- TUNEL boyama uygulanan kesitlerde TUNEL-pozitif hücre sayımlarımda, Gabapentin uygulanan gruplardaki hasarın, kontrol gruplarına göre daha hafif olduğu saptanmıştır. Travma öncesi Gabapentin uygulanan gruptaki hasarın travma sonrasına göre daha hafif olduğu görülmüştür.

6- Anti-kaspaz-3 immunohistokimyasal boyamada anti-kaspaz-3-pozitif hücre sayımları sonucunda, Gabapentin uygulanan gruplardaki hasarın, kontrol gruplarına göre daha hafif olduğu saptanmıştır. Travma öncesi Gabapentin uygulanan gruptaki hasarın travma sonrasına göre daha hafif olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; akut omurilik yaralanmaları, olumsuz sonuçları ve kısıtlı tedavi seçenekleri nedeniyle ümit kırıcı gözükse de, omurilik yaralanmalarındaki hasar mekanizmalarının anlaşılmasını sağlayacak deneysel modellerin gelişmesi ve hasarın engellenmesi yolunda yeni tedavi çalışmalarının hızlanması ve artması, gelecek günlerin sanıldığı kadar karanlık olmadığına göstergesidir.

Bizim alışmamızda Gabapentin'in, spinal kord travması oluşturulan ratlarda nörodavranışsal ve histolojik olarak iyileşmeyi arttırdığı saptandı. Travma öncesi yapılan Gabapentin'in iyileşme üzerindeki etkisinin, nörodavranışsal olarak daha güçlü olduğu görüldü.

Gabapentin'in hem travma öncesi hem de travma sonrası uygulamalarında etkinliğinin yüksek bulunması, sadece spinal travma geçirmiş olgularda değil, cerrahi olarak spinal travmaya açık, riskli nöroşirürjikal olgularda da, cerrahi travmanın olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla kullanılabileceğini düşündürmüştür. Bu düşüncenin kullanıma geçirilebilmesi için değişik hayvan modellerinde, farklı doz, süre ve uygulama protokolleri ile çalışmanın geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Marion, D.W., Head and spinal cord injury. *Neurol Clin*, 1998. 16(2): p. 485-502.
2. Dumont, A.S., R.J. Dumont, and R.J. Oskouian, Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? *Curr Opin Neurol*, 2002. 15(6): p. 713-20.
3. Sekhon, L.H. and M.G. Fehlings, Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine*, 2001. 26(24 Suppl): p. S2-12.
4. Simpson, R.K., C.Y. Hsu, and M.R. Dimitrijevic, The experimental basis for early pharmacological intervention in spinal cord injury. *Paraplegia*, 1991. 29(6): p. 364-72.
5. Tator CH. Acute spinal cord injury: a review of recent studies of treatment and pathophysiology. *Can Med Assoc J*. 1972 Jul 22;107(2):143
6. Cayli, S.R., et al., Neuroprotective effect of etomidate on functional recovery in experimental spinal cord injury. *Int J Dev Neurosci*, 2006. 24(4): p. 233-9.
7. Joshi, M. and M.G. Fehlings, Development and characterization of a novel, graded model of clip compressive spinal cord injury in the mouse: Part 2. Quantitative neuroanatomical assessment and analysis of the relationships between axonal tracts, residual tissue, and locomotor recovery. *J Neurotrauma*, 2002. 19(2): p. 191-203.
8. Joshi, M. and M.G. Fehlings, Development and characterization of a novel, graded model of clip compressive spinal cord injury in the mouse: Part 1. Clip design, behavioral outcomes, and histopathology. *J Neurotrauma*, 2002. 19(2): p. 175-90.
9. Apuzzo, M., Pharmacological therapy after acute cervical spinal cord injury. *Neurosurgery*, 2002. 50(3 Suppl): p. S63-72.
10. Fehlings, M.G., The Use of Methylprednisolone in Acute Spinal Cord Injury. *Spine*, 2001. 26(24s): p. s55.
11. Hugenholtz, H., et al., High-dose methylprednisolone for acute closed spinal cord injury--only a treatment option. *Can J Neurol Sci*, 2002. 29(3): p. 227-35.

12. Schwab, M.E., Repairing the injured spinal cord. *Science*, 2002. 295(5557): p. 1029-31.
13. Murugaiah, K.D. and H.C. Hemmings, Jr., Effects of intravenous general anesthetics on [3H]GABA release from rat cortical synaptosomes. *Anesthesiology*, 1998. 89(4): p. 919-28.
14. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 76; 2: 319–370, 1996
15. Sonntag VKH: History of degenerative and traumatic disease of the spine. In a history neurosurgery. Greenblatt SH (ed). American association of Neurological Surgeons, Washington, pp 355-371, 2.193, 1997.
16. Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 37: 291–302, 1991.
17. Aguayo AJ: Axonal elongation in peripheral and central nervous system transplants. *Advances in Cellular Neurobiology* 3, New York: Academic Press: 215-234, 1982.
18. Dumont, R.J., et al., Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. *Clin Neuropharmacol*, 2001. 24(5): p. 254-64.
19. Xarchas, K.C. and J. Bourandas, Injuries and diseases of the spine in the ancient times. *Spine*, 2003. 28(13): p. 1481-4.
20. Hughes, J.T., The Edwin Smith Surgical Papyrus: an analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia*, 1988. 26(2): p. 71-82.
21. Sanan, A. and S.S. Rengachary, The history of spinal biomechanics. *Neurosurgery*, 1996. 39(4): p. 657-68; discussion 668-9.
22. Marketos, S.G. and P. Skiadas, Hippocrates. The father of spine surgery. *Spine*, 1999. 24(13): p. 1381-7.
23. Sonntag, V.K., The development of spinal neurosurgery: a historical perspective. *Neurosurgery*, 2007. 60(4): p. 587-8.
24. Naderi, S., N. Andalkar, and E.C. Benzel, History of spine biomechanics: part I--the pre-Greco-Roman, Greco-Roman, and medieval roots of spine biomechanics. *Neurosurgery*, 2007. 60(2): p. 382-90; discussion 390-1.
25. Naderi, S., N. Andalkar, and E.C. Benzel, History of spine biomechanics: part II--from the Renaissance to the 20th century. *Neurosurgery*, 2007. 60(2): p. 392-403; discussion 403-4.

26. Kaptanoğlu, E., Omurilik yaralanmaları sonrası nöral korunma stratejileri, in Omurilik ve omurga cerrahisi, M. Zileli, Editor. 2002. p. 813-832.
27. Zileli, M., Deneysel omurilik yaralanması, in Omurilik ve omurga cerrahisi, M. Zileli, Editor. 2002. p. 951.
28. Amar, A.P. and M.L. Levy, Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*, 1999. 44(5): p. 1027-39; discussion 1027-40.
29. De La Torre JC: Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 6: 315-335, 1981.
30. Demediuk P, Saunders RD, Clendenon NR, Means ED, Anderson DK, Horrocks LA: Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Progg Brain Res* 63: 211-226, 1985.
31. Vehbi Gülmen, M.Z., Omurilik yaralanmalarında farmakolojik tedavi, in Omurilik ve omurga cerrahisi, M. Zileli, Editor. 2002. p. 833.
32. Tator, C.H., Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol*, 1995. 5(4): p. 407-13.
33. Hall, E.D., Pathophysiology of spinal cord injury. Current and future therapies. *Minerva Anestesiol*, 1989. 55(3): p. 63-6.
34. Fiford R.F., Bilston L.E A Vertebral Dislocation Model of Spinal Cord Injury in Rats *Journal of Neurotrauma*. April 2004, 21(4): 451-458
35. Ohnishi ST, Barr JK, Katagi C, Katsuoka M. Protection of rat spinal cord against contusion injury by new prostaglandin derivatives. *Arzneimittelforschung*. 1989 Feb;39(2):236–239.
36. WA Lagrèze, R Müller-Velten, TJ Feuerstein; The neuroprotective properties of gabapentin-lactam, *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 15 December 2001 - Volume 26 - Issue 24S - pp S87-S98
37. Nemecek, S., Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Adv Neurol*, 1978. 20: p. 395-405.
38. Fujimoto, T., et al., Potent protective effects of melatonin on experimental spinal cord injury. *Spine*, 2000. 25(7): p. 769-75.
39. Gok, B., et al., Effect of immunomodulation with human interferon-beta on early functional recovery from experimental spinal cord injury. *Spine*, 2007. 32(8): p. 873-80.

40. Kaptanoğlu, E., Attar A., Omurilik yaralanmasında rejenerasyon çalışmaları ve kok hücre uygulamaları, Turk norosirurji bulteni sayı 9 syf:43-53. ekim 2005
41. Wallace, M.C., C.H. Tator, and P. Frazee, Relationship between posttraumatic ischemia and hemorrhage in the injured rat spinal cord as shown by colloidal carbon angiography. Neurosurgery, 1986. 18(4): p. 433-9.
42. Choi, D.W., Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. Trends Neurosci, 1988. 11(10): p. 465-9.
43. Faden, A.I. and R.P. Simon, A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. Ann Neurol, 1988. 23(6): p. 623-6.
44. Giulian, D. and C. Robertson, Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. Ann Neurol, 1990. 27(1): p. 33-42.
45. Meldrum, B., Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters. Clin Sci (Lond), 1985. 68(2): p. 113-22.
46. Faden, A.I., et al., N-methyl-D-aspartate antagonist MK801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: behavioral, anatomic, and neurochemical studies. J Neurotrauma, 1988. 5(1): p. 33-45.
47. Wilkins Rh. Neurosurgical Classic. XVIII. J Neurosurg. 1964 Apr;21:315–347.
48. Dumont, R.J., et al., Acute spinal cord injury, part II: contemporary pharmacotherapy. Clin Neuropharmacol, 2001. 24(5): p. 265-79.
49. Kehrer, J.P., Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol, 1993. 23(1): p. 21-48.
50. Barut, S., et al., Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. Neurosurg Rev, 1993. 16(1): p. 53-9.
51. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J, 1984. 219(1): p. 1-14.
52. Cheeseman, K.H. and T.F. Slater, An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull, 1993. 49(3): p. 481-93.
53. Sakamoto, A., et al., Relationship between free radical production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. Brain Res, 1991. 554(1-2): p. 186-92.
54. İplikçioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. M.Zileli, Fahir Özer, 1. Baskı, İzmir, Saray Medikal Yayıncılık, s: 459–465, 1997.

55. Freeman, B.A. and J.D. Crapo, Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 1982. 47(5): p. 412-26.
56. Heffner, J.E. and J.E. Repine, Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Am Rev Respir Dis*, 1989. 140(2): p. 531-54.
57. Lifshutz J, Colohan A. A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury. *Neurosurg Focus*. 2004 Jan 15;16(1):E5.
58. Kerr, J.F., A.H. Wyllie, and A.R. Currie, Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972. 26(4): p. 239-57.
59. Wyllie, A.H., The genetic regulation of apoptosis. *Curr Opin Genet Dev*, 1995. 5(1): p. 97-104.
60. Chan, S.L. and M.P. Mattson, Caspase and calpain substrates: roles in synaptic plasticity and cell death. *J Neurosci Res*, 1999. 58(1): p. 167-90.
61. Yakovlev, A.G. and A.I. Faden, Caspase-dependent apoptotic pathways in CNS injury. *Mol Neurobiol*, 2001. 24(1-3): p. 131-44.
62. Li, 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(2): p. 333-42.
63. Lou, J., et al., Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord*, 1998. 36(10): p. 683-90.
64. Lu, J., K.W. Ashwell, and P. Waite, Advances in secondary spinal cord injury: role of apoptosis. *Spine*, 2000. 25(14): p. 1859-66.
65. Güzel, A., Tatlı, M., Ökten, Aİ, Çaylı, S, Omurilik Yaralanmasının Patoloji Ve Fiziopatolojisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2006. 28(2): p. 73-78.
66. Ma W, Barker JL, GABA, GAD, and GABA(A) receptor alpha4, beta1, and gamma1 subunits are expressed in the late embryonic and early postnatal neocortical germinal matrix and coincide with gliogenesis. *Microscopy Research and Technique* 1998 Mar 1;40(5):398-407
67. Naderi S, Ture U, Pait TG: History of the spinal cord localization. *Neurosurg Focus*. 2004,Jan,15; 16(1): E15,
68. Dohrmann GJ: Experimental spinal cord trauma. *Arc Neurol*, 27: 468– 473, 1972

69. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. JNeurosurg 35:700-708,1971
70. Brian K, Wolfram T., Jonathan N., Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury The Spine Journal 2004;4; 4 p. 451-464
71. Tatlı, M., Guzel,A , Ökten,A , Çaylı,S, Omurilik Yaralanmalarının Medikal Tedavisi. Cumhuriyet üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2005. 27(4): p. 165 – 172.
72. Kee-Yong Ha, Young-Hoon Kim, Kee-Won Rhyu , Pregabalin as a neuroprotector after spinal cord injury in rats, European Spine Journal, 2008, June, Number 6 , Volume 17,p 783-887
73. Genovese, T.; Esposito, E.; Mazzon, E.; Effect of Cyclopentanone Prostaglandin 15-Deoxy-[Delta]12,14Pgj2 on Early Functional Recovery From Experimental Spinal Cord Injury, Shock: August 2008 - Volume 30 - Issue 2 - pp 142-15
74. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. Spine. 2002 Jul 15;27(14):1504–1510.75.
76. Gülmen V, Zileli M. Deneysel omurilik yaralanması. Omurilik ve omurga cerrahisi 2nd ed. 2002; 951-956.
77. Young WSecondary injury mechanisms in acute spinal cord injury, Ann. Emerg Med. 1993;11:13-22
78. Anderson DK, Hall ED. Pathophysiology of spinal cord trauma, Ann. Emerg. Med 1989;22:987-992
79. Lapchak PA, Araujo DM, Song D. et al. Neuroprotection by the selective cyclooxygenase- 2inhibitör SC -236 results in improvements in behavioral deficits induced by reversible spinal cord ischemia, Stroke 2001;32:1220-1225.
80. Anderson DK, Hall ED. Pathophysiology of spinal cord trauma. Ann Emerg Med -1993;22:987-92
81. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR: Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. Spine J 4(4): 451–464, Jul-Aug 2004.
82. Taoka Y, Okajima K: Spinal cord injury in the rat. Prog Neurobiol 56(3): 341–58,1998
83. Kakulas BA: The applied neuropathology of human spinal cord injury. Spinal Cord 37(2): 79–88, 1999.

84. Vitellaro-Zuccarello L, Mazzetti S, Madaschi L, Bosisio P, Gorio A, De Biasi S: Erythropoietin-mediated preservation of the white matter in rat spinal cord injury. *Neuroscience* 9; 144(3):865–77, Feb 2007
85. Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi. *Temel Nöroşirurji (Türk Nöroşirurji Derneği Yayınları)* Sayfa 1144-1153. 2005
86. Tator CH: Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*, 75: 15-26, 1991..
87. Eaton MJ: Cell and molecular approaches to the attenuation of pain after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma*, 23:549-559, 2006.
88. Dixon, C.E., et al., Acute etomidate treatment reduces cognitive deficits and histopathology in rats with traumatic brain injury. *Crit Care Med*, 2003. 31(8): p. 2222-7.
89. Naderi S, Zileli M, Özer A.F: Omurga Cerrahisinin Tarihçesi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer A.F, 2.baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir, 2002, s: 1- 13.
90. Taylor, C.P., Vartanian, M.G., Andruszkiewiewicz, R., Silverman, R.B., 3-alkyl GABA and 3-alkylglutamic acid analogues: two new classes of anticonvulsant agents. *Epilepsy Res.* 11, 103–110, 1992.
91. Petroff, O.A., Rothman, D.L., Behar, K.L., Lamoureux, D., Mattson, R.H., The effect of gabapentin on brain gamma-aminobutyric acid in patients with epilepsy. *Ann Neurol.* 39, 95–99, 1996
92. Szerb, J.C., Effect of nipecotic acid, a g-aminobutyric acid transport inhibitor, on the turnover and release of g-aminobutyric acid in rat cortical slices. *JNeurochem* 850–858, 1982.
93. Pin, J.P., Bockaert, J., Two distinct mechanisms, differentially affected by excitatory amino acids, trigger GABA release from fetal mouse striatal neurons in primary culture. *J Neurosci.* 9, 648–656, 1989.
94. Pointillart V, Petitjean ME, Wiart L, et al: Pharmacological therapy of spinal cord injury during the acute phase. *Spinal cord*, 38: 7-16, 2000.
95. Raineteau O, Schwab ME: Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nature Rev. Neuroscience*, 2: 263-273, 2001

96. Anderson DK, Means ED, Waters TR, et al: Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. J Neurosurg, 56:106-113, 1982.
97. Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. Klinik Gelişim 1995; 8:3906-11.
98. Seven A, Candan G. Radikal ve lipid peroksid düzeyini arttıran etkenler. Biyokimya Dergisi 1995; 4:43-56.
99. Kılınç A, Kılınç K: Nitrik oksit. Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Ankara: Palme, 2003.
100. Hall ED, Yonkers PA, Andrus PK. Biochemistry and pharmacology of lipid antioxidant in acute brain and spinal cord injury. J Neuro Trauma 1992; 9 :165.
101. Demopoulos H, Flamm E, Pietronigro D. The Free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. Acta Physiol Scand 1980; 492:91.
102. Uzan M. Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji, In Hancı M; Medulla spinalis yaralanmaları 2000; 152-161.
103. Kontos HA, Wei EP, Poulshock JT, Dietrich WD, Magiera CJ, Ellis EF. Cerebral arteriolar damage arachidonic acid and prostoglandin G2. Science 1989;209:1245-5
104. Liu X Z, Xu X M, Hu R, Du C, Zhang S X, McDonald J W. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. The Journal of Neuro Science Vol. 17, NO.14 PP. 5395-5406. 1997
105. Zheng L, He M, Long M, Blomgran R. Pathogen induced apoptotic neutrophils Express heat shock proteins and elicit activation of human macrophages. The Journal of Immunology: 173, 6319-6326. 2004
106. Springer JE, Azbill RD, Mnapp PE. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. Nature Med 1999;5:943-946.
107. Emery E, Aldana P, Bunge MB. Apoptosis after human spinal cord injury. J Neurosurgery 1999;89:911-920.
108. Dybdahl B, Wahpa A, Lien E. Inflammatory response after open heart surgery. Circulation. 105:685. 2002
109. Fleming J.C, Norenberg M D, Ramsay D A, The cellular inflammatory response in human spinal cord s after injury. Oxford Journals Medicine Brain Volume 129, no.12, pages 3249-3269. 2006

110. Olivera N., Guo-Ying Xu, David M. IL-1 Receptor Antagonist Prevents Apoptosis and Caspase-3 Activation after Spinal Cord Injury, *Journal of Neurotrauma*. September 2001, 18(9): 947-956.
111. Zhang Z, Krebs CJ, Guth L: Experimental analysis of progressive necrosis after spinal cord trauma in the rat: Etiological role of the inflammatory response. *Experimental Neurology*, 143: 141-152, 1997
112. Klusman İ, Schwab ME: Effects of pro-inflammatory cytokines in experimental spinal cord injury. *Brain Research*, 762: 173-184, 1997.
113. Bethea JR, Dietrich WD, Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury. *Current opinion in neurology*, 15:355-360, 2002
114. Genovese T, Mazzon E, Mariotto S, et al: Modulation of nitric oxide homeostasis in a mouse model of spinal cord injury. *J. Neurosurg: Spine*, 4:145-153, 2006
115. Ellison D: *Neuropathology. A reference text of CNS pathology*. Mosby International Ltd. Grafos SA. Barcelona, 1998, Spain, pp: 1121-1123.
116. Hwan AH, Yeop BY, Gwang L, et al: Molecular insights of the injured lesions of rat spinal cords: Inflammation, apoptosis and cell survival. *BBRC*, 384: 560-570, 2006
117. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG: Pathological Findings in Acute Experimental Spinal Cord Trauma. *J Neurosurg*, 35: 700-708, 1971.
118. Zhang Z, Guth L: Experimental spinal cord injury: Wallerian degeneration in the dorsal column is followed by revascularization, glial proliferation, and nerve regeneration. *Experimental Neurology*, 147: 159-171, 1997
119. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC: The Micro Vasculature in Transitory Traumatic Paraplegia. An Electron Microscopic Study in Monkey. *J Neurosurg*, 35: 263-271, 1971.
120. Benzel E.C, Ferrara L, Omurga ve omurilik yaralanmasının biyomekaniği spinal stabilite.Omurilik ve Omurga cerrahisi (Zileli M. ve Özer A.F ; Editörler), sayfa 797-811. 2002
121. Emr M A, Howley S P. Hudgins L A, Varmus H. Spinal cord injury :Emerging concept. *National institute of neurological disorders and stroke*. August05. 2005
122. Mautes AEM, Weinzierl M.R, Donovan F, Noble L.J. Vascular events after spinal cord injury : contribution to secondary pathogenesis. *Physical Therapy* Vol.80, No.7, pages 673-687. July 2000

123. Rhoney DH, Luer MS, Hughes M. New pharmacological approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 1996; 16:382-392.
124. Yang L, Blumbergs PC, Jones NR. Early expression and cellular localization of proinflammatory cytokines interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in human traumatic spinal cord injury. *Spine* 2004; 29: 966–971.
125. Buss A, Brook G.A, Kakulas B, et al. Gradual loss of myelin and formation of an astrocytic scar during Wallerian degeneration in the human spinal cord. *Brain* 2004; 127: 34–44
126. Hagg T, Oudega M. Degenerative and spontaneous regenerative processes after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2006;23:264-80.
127. Myung Ha Yoon, Jeong Il Choi, Hemodynamic Effects of Gabapentin in Rats, *The Korean Academy of Medical Sciences*, 2003; 18: 478-82
128. Ducker TB, Zeidman SM: Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* 1994; 19:2281-2287
129. Tuma RF;Vasthare US, Arforks KE, Young WF. Hypertonic saline administration attenuates spinal cord injury. *J Trauma* 1997; 42:54-60.
130. Bracken MB, Holford TR. Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurgery* 1993;79:500-507
131. Bracken MB, Shepard M, Holford TR. Methylprednisolone or tirilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurgery* 1998;89:699-706.
132. Hurlbert RJ. Methylpredisalone for acute spinal cord injury: an inappropriate standard of care. *J Neurosurgery* 2000;93(suppl): 175-179.
133. Nesathurai S. Steroids and spinal cord injury : revisiting the NASCIS 2 and NASCIS 3 trials. *J Trauma* 1998;45: 1088-1093.
134. Imanaka T, Hukuda S, Maeda T. The role of GM-1 ganglioside in the injured spinal cord of rats. *J Neurotrauma* 1996; 13:163-170.
135. Geisler F, Coleman, W, Grieco G; The Role of GM-1 Ganglioside in Acute Spinal Cord Injury: Results of the Sygen(R) Multicenter Trial 15 December 2001 - Volume 26 - 24S - pp S87-S98 .

136. Hall ED. effects of the 21-aminosteroid U-74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 1988; 6:176-179.
137. Sorrenti V, Di Giacomo C, Renis M, Russo A. Lipid peroxidation and survival in rats following cerebral post-ischaemic reperfusion: effect of drugs with different molecular mechanisms. *Drugs Exp Clin Res.* 1994;20(5):185-9.
138. Agrawal SK, Fehlings MG: Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: Role of Na, Na-K ATPase, the Na-H exchanger and the Na-Ca exchanger. *J.Neuroscience*, 16 (2): 545-552, 1996.
139. Hu WH, Qiang WA, Li F, et al: Constitutive and Inducible Nitric Oxide Synthases after Dynorphin-Induced Spinal Cord Injury. *J Chem Neuroanat*, 17: 183-197, 2000.
140. Weir B. Calcium antagonists, cerebral ischemia and vasospasm. *Can J Neu.* 1984; 11:239-246.
141. Rosenberg LJ, Teng YD, Wrathall JR: Effects of the sodium channel blocker tetrodotoxin on acute white matter pathology after experimental contusive spinal cord injury. *The Journal of Neuroscience*, 19(14): 6122-6133, 1999.
142. Teng YD, Wrathall JR: Local blockade of sodium channels by tetrodotoxin ameliorates tissue loss and long term functional deficits resulting from experimental spinal cord injury. *The journal of neuroscience*, 17 (11): 4359-4366, 1997.
143. Shwartz G, Fehlings MG. Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with Riluzole. *J Neurosurg* 2001;94: 245-56.
144. Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Solaroğlu İ, et al: Magnesium sulfate treatment in spinal cord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurg. Rev*, 26: 283-287, 2003.
145. Suzer T, Coskun E, Islekel H. Neuroprotective effects of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999; 37:480-484.
146. Tator CH: Strategies for recovery and regeneration after brain and spinal cord injury. *Injury Prevention* 8: 33-36, 2002
147. Luo J, Robinson JP, Shi R: The increase of reactive oxygene species and their inhibition in an isolated guinea pig spinal cord compression model. *Spinal cord*, 40: 656- 665, 2002.

148. Hall ED, Braugler JM. Role of lipid peroxidation in posttraumatic spinal cord degeneration. *CNS Trauma* 1987; 3:281-293.
149. Malmberg AB, Yaksh TL. Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal antiinflammatory agents on the formalin test in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 263:136–46
150. Katzung BG. *Basis and clinical pharmacology*. Stamford: Appleton-Lange 1998; 304-317.
151. Radulovic L, Türck D, Hodenberg A; Disposition of gabapentin (neurontin) in mice, rats, dogs, and monkeys ;*Drug Metabolism and Disposition*; April 1995 vol. 23 no. 4 p441-448
152. Barami K, Diaz F: Cellular transplantation and spinal cord injury. *Neurosurgery*, 47:691-700, 2000.
153. Rosenfeld JV, Gillett GR: Ethics, stem cells and spinal cord repair. *MJA*, 180: 637-639, 2004.
154. Xu RX, Nakamura T, Nagao S, et al: Spesific inhibition of apoptosis after coldinduced brain injury by moderate postinjury hypothermia. *Neurosurg*, 43: 107-115, 1998.
155. Tüzgen S, Kaynar MY, Güner A, et al: The effect of epidural cooling on lipid peroxidation after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord*, 36: 654-657, 1998.
156. Ikeda O, Murakami M, İno H, et al: Acute up-regulation of brain–derived neurotrophic factor expression resulting from experimentally induced injury in the rat spinal cord. *Acta Neuropathol*, 102: 239-245, 2001.
157. Kindwall E.P.: *Wound Healing*. In: *Hyperbaric Medicine Practice*. Köndwall E.P. (Ed) Best Publishing Company, Arizona, 172–206, 1995.
158. Arnold PM, Citrom BA, Ameenuddin S. Caspase-3 inhibition is neuroprotective after spinal cord injury *J Neurochem* 2000; 74:811-829.
159. Yılmaz,İ:Nöroprotektif tedavide yeni bir ilaçhedefi:İkinci jenerasyon tetrasiklinler Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak.Dergisi 2007:14(1)/47-52
160. Luo J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal cord*, 36: 683-690, 1998.
161. Stewart, B.H., Kugler, A.R., Thompson, P.R., Bockbrader, H.N., A saturable transport mechanism in the intestinal absorption of gabapentin is the

- underlying cause of the lack of proportionality between increasing dose and drug levels in plasma. *Pharmaceut Res.* 10, 276–281, 1993
162. Su, T., Lunney, E., Campbell, G., Oxender, D.L., Transport of gabapentin, a gaminoacid drug, by system L a-amino acid transporters: a comparative study in astrocytes, synaptosomes and CHO cells. *J Neurochem.* 64, 2125–2131, 1995
 163. Vollmer, K.O., vonHodenberg, A., Koelle, E.U., Pharmacokinetics and metabolism of gabapentin in rat, dog and man. *Arzneim Forsch Drug Res.* 36, 830– 839, 1986.
 164. Welty, D.F., Schielke, G.P., Vartanian, M.G., Taylor, C.P., Gabapentin anticonvulsant action in rats: disequilibrium with peak drug concentration in plasma and brain microdialysate. *Epilepsy Res.* 16, 175–181, 1993.
 165. Satzinger, G., Antiepileptics from g-aminobutyric acid. *Drug Res.* 44, 261–266, 1994.
 166. Gurney, M.E., Pu, H., Chiu, A.Y., Dal Canto, M.C., Polchow, C.Y., Alexander, D.D., Caliendo, J., Hentati, A., Kwon, Y.W., Deng, H.-X., Chen, W., Zhai, P., Sufit, R.L., Siddique, T., Motor neuron degeneration in mice expressing a human Cu, Zn superoxide dismutase mutation. *Science.* 264, 1772–1775, 1994.
 167. Gurney, M.E., Cutting, F.B., Zhai, P., Doble, A., Taylor, C.P., Andrus, P.K., Hall, E.D., Benefit of vitamin E, riluzole and gabapentin in a transgenic model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 39, 147–157, 1996.
 168. Welty, D.F., Schielke, G.P., Rothstein, J.D., Potential treatment of amyotrophic lateral sclerosis by the anticonvulsant gabapentin: A hypothesis. *Ann Pharmacother.* 29, 1164–1167, 1995.
 169. Hutson, S.M., Drown, P., I'lyosova, D., Reinhart, G.D., Role of gabapentin and branched chain aminotransferase isoenzymes in astrocyte neurotransmitter metabolism. *J Neurochem.* 66, S76, 1995.
 170. Petroff, O.A., Manor, D., Behar, K.L., Gabapentin decreases cortical glutamate rapidly in a rat model. *Epilepsy Res.* (submitted) 1997.
 171. Lö schner, W., Honack, D., Taylor, C.P., Gabapentin increases aminooxyacetic acid-induced GABA accumulation in several regions of rat brain. *Neurosci Lett.* 128, 150–154, 1991.

172. Gee, N.S., Brown, J.P., Dissanayake, V.U.K., Offord, J., Thurlow, R., Woodruff, G.N., The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the $\alpha_2\delta$ subunit of a calcium channel. *J Biol Chem.* 271, 5768–5776, 1996.
173. Reimann, W., Inhibition by GABA, baclofen and gabapentin of dopamine release from rabbit caudate nucleus: are there common or different sites of action? *Eur J Pharmacol.* 94, 341–344, 1983.
174. Dooley, D.J., Suman-Chauhan, N., Madden, Z., Inhibition of K^+ -evoked [3H]noradrenaline release from rat neocortical slices by the anticonvulsant gabapentin [abstract]. *Soc Neurosci. Abstr.* 22, 1992, 1996.
175. Taylor, C.P., The anticonvulsant lamotrigine blocks sodium currents from cloned α -subunits of rat brain Na channels in a voltage-dependent manner but gabapentin does not. *Soc Neurosci. Abstr.* 23, 1631, 1993.
176. Wamill, A.W., McLean, M.J., Limitation by gabapentin of high frequency action potential firing by mouse central neurons in cell culture. *Epilepsy Res.* 17, 1– 11, 1994
177. Rao, M.L., Clarenbach, P., Vahlensieck, M., Kraetzschar, S., Gabapentin augments whole blood serotonin in healthy young men. *J Neural Transm.* 73, 129– 134, 1988
178. Jen-Kun Cheng; Lih-Chu Chiou; Mechanisms of the Antinociceptive Action of Gabapentin. *Journal of Pharmacological Sciences.* 100, 471 – 486 (2006)
179. Baydas,G; Sonkaya E; Tuzcu,M:Novel role for gabapentin in neuroprotection of central nervous system in streptozotocine-induced diabetic rats. *Acta Pharmacologica Sinica* 2005 Apr; 26 (4): 417–422
180. Anne M. Comi; MD, Beatrix S; Traa, Justin D; Mulholland, BS; Shilpa D. Kadam. PhD;Michael V. Johnston, MD: Gabapentin Neuroprotection and Seizure Suppression in Immature Mouse Brain Ischemia. *Pediatric Research.* 2008 July; 64(1): 81–85
181. Krause G.S, White B.C, Aust S.D, et al: Brain cell death following ischemia nd reperfusion: a proposed biochemical sequence. *Critical Care Med.* 1988 16:714-26,.
182. Choi D: Antagonizing excitotoxicity: a therapeutic strategy for stroke? *Mt Sinai J Med.* 1998,65:133-138
183. Kale A. Deneyisel spinal kord iskemi-reperfüzyon yaralanmasında Gabapentinin etkileri Uzmanlık tezi 2009 p.99-109