

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

DENEYSEL SPİNAL KORD İSKEMİ-REPERFÜZYON
YARALANMASINDA VİGABATRİNİN
ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Emre DURDAĞ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Necdet ÇEVİKER

ANKARA
MART 2011

ÖZET

Giriş: Spinal kord iskemi-reperfüzyon yaralanması önemli ve katastrofik komplikasyonlara yol açabilen bir durumdur. Halen yoğun bir şekilde araştırılmasına karşın, spinal kordu korumaya yönelik bazı önlemler alınabilse de, geçerliliği kanıtlanmış, klinik uygulamaya geçebilecek alternatif ilaçlar bulunamamıştır. Bu çalışmamızda epilepsi tedavisinde kullanılan vigabatrin'in spinal iskemi reperfüzyon modelindeki nöroprotektif etkinliğini araştırmak istedik.

Materyal / Metod:Kontrol grubu, iskemi-reperfüzyon grubu, düşük doz ve yüksek doz tedavi grupları olacak şekilde 24 Yeni Zellanda tavşanı 4 gruba bölündü. Kontrol grubuna sadece abdominal cerrahi yapılırken diğer gruplara tavşan aortik kros-klempleme metodu ile 30 dk spinal iskemi uygulandı. 48 saat boyunca günde 1 kez düşük doz grubuna 50mg/kg, yüksek doz grubuna 150 mg/kg intraperitoneal vigabatrin uygulandı. 48 saat boyunca nörolojik muayeneleri takip edildi ve takip süresi sonunda deneklerden kan örneği alındı ve lumbosakral spinal kordları eksize edilip sakrifiye edildiler. Deneklerin kan ve spinal kord örneklerinden glutatyon (GSH), malonildialdehit (MDA), ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), süperoksit dismutaz (SOD),nitrik oksit (NO), bakıldı ve bu değerler spinal kordun histolojik incelemesi ve nörolojik skorlar ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Elde edilen değerler, düşük doz vigabatrinin iskemi reperfüzyon hasarında nöronal koruma yönünden etkili olduğu, yüksek doz vigabatrinin ise benzer etkileri olmasına karşın bunun her enzim değeri için anlamlı olmadığı ve nöronlar üzerinde toksik sayılabilecek etkilerinin olabileceğini göstermiştir.

Tartışma: Spinal iskemi reperfüzyon modelinde kullandığımız vigabatrin'in antiepileptik etkinliği dışında nöroprotektif etkilerinin de olabileceğini ortaya koyduk. Ancak bu ilacın klinik kullanıma geçebilmesi için şüphesiz ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

Background and Purpose: Spinal cord ischemia is a serious and catastrophic clinicopathological condition. Despite the studies that have been made over the last 20 years, alternative and efficient treatment options are still unclear. In this study we aimed to examine the neuroprotective effects of vigabatrine on spinal ischemia-reperfusion model.

Methods: 24 New Zealand rabbits are divided into 4 groups as control, ischemia reperfusion, low dose vigabatrine and high dose vigabatrine. Although the control group experienced with only abdominal surgery, we perform abdominal aortic cross-clamp model of spinal ischemia to the other groups. 30 minutes later we remove the clips and give 50 mg/kg vigabatrine to the low dose group, 150 mg/kg vigabatrine to the high dose group intraperitoneally. Neurologic examination was done for 48 hr., and rabbits were sacrificed at the end of 48th hr. after tissue and blood sample had obtained. Biochemical examination of malondialdehyde (MDA), advanced oxidation protein products (AOPP), nitric oxide (NO), glutathione (GSH), and super oxide dismutase (SOD) levels in plasma and tissue sample, and histopathological examination of spinal cord were evaluated and compared between the groups after statistical results had been obtained.

Results: Statistical analysis revealed that low dose of vigabatrine has significant effects of neuroprotection on the spinal ischemia. Although high dose of vigabatrin has similar effects, it is not statistically significant for all the parameters of the biochemical analysis. Additionally histopathological examination showed some toxic effects of the high dose vigabatrine.

Conclusion: In addition to antiepileptic effects, neuroprotective effects of vigabatrine is revealed. For clinical use, further studies are needed.

Teşekkür

Uzmanlık eğitimimin bitmesine sınırlı zaman kaldığı şu günlerde bir kuru teşekkür ederek beni yetiştiren insanlara; onlardan aldığım bilgi ve deneyimlerin ve onlardan öğrendiğim sanatın karşılığını ödeyemem, bunu biliyorum. Ancak, bu görevin vefa borcum olduğuna inanıyorum.

Yetişmemde emeği geçen; tez hocam, kurucu hocalarımızdan, Prof. Dr. Necdet Çeviker'e, anabilim başkanımız Prof. Dr. Şükrü Aykol'a, kurucu hocalarımızdan Prof. Dr. M. Kemali Baykaner'e, Prof. Dr. Aydın Paşaoğlu'na, ve Prof. Dr. Fikret Doğulu'ya teşekkürü borç bilirim.

Dostça yaklaşımlar ile bana ağabeylik yapan, bana mesleğin inceliklerini detayı ile anlatan, çalışmaktan keyif aldığım Doç Dr. Memduh Kaymaz'a, Doç Dr. Gökhan Kurt'a, Yrd. Doç Dr. Hakan Emmez'e, tez çalışmamda en az benim kadar yorulan Uzm Dr. Zuhale Yıldırım'a ve Uzm Dr. Neşe Lortlar'a emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

Yıllarca beraber çalıştığım başta eş kıdemlim Dr. Mehmet Töngel olmak üzere tüm asistan doktor, hemşire ve personel arkadaşlarıma oluşturduğumuz aile ortamı için teşekkür ederim.

Bana göre; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'na girişim, tıpta uzmanlık sınavı öncesinde, fakültem Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinde çalışan, o dönem başasistan olan, Uzm. Dr. Gökmen Kahiloğulları'nın yine o dönem başasistan olan Yrd. Doç. Dr. Hakan Emmez'i araması ve beni yanına göndermesi ile oldu. Ve aynı gün o dönem orta kıdem asistanı olan, her zor günümde bana yardımdan kaçınmayan bana gerçek bir dost olan abim Uzm. Dr. Alp Özgün Börcek ile tanıştım. Bu günün hayatımın önemli günlerinden biri olduğuna inandığım için, yukarıda adı geçen ağabeylerime ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Zorlu uzmanlık eğitiminde bana yardımlarını esirgemeyen başta annem Serpil Durdağ ve fedakar eşim Gülşen Doğan Durdağ olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

Canım oğlum Ali Ege, senin o kızgın bakışların olmasaydı bu tez bitemeyecekti, iyi ki varsın.

Dr Emre Durdağ

İÇİNDEKİLER

ÖZET...2

ABSTRACT...3

TEŞEKKÜR...4

İÇİNDEKİLER...5

TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ...8

RESİM VE GRAFİKLER DİZİNİ...9

KISALTMALAR...11

GİRİŞ ve AMAÇ...13

GENEL BİLGİLER...16

I. 1. 1. OMURİLİK ANATOMİSİ...16

I. 1. 2. OMURİLİĞİN KAN DOLAŞIMI...20

I. 1. 3. OMURİLİK YARALANMASI VE FİZYOPATOLOJİSİ... 24

I. 2. 1. İSKEMİ ve REPERFÜZYON...30

A) İskemi...30

a) Reversibl iskemik hasarlanma...34

b) İrrevesibl iskemik hasarlanma...35

B)İyon Dengesinin Bozulması...36

C) Reperfüzyon...39

D) İskemide sonuç...43

I. 3. 1. AORTİK KROS-KLEMPLEMENİN ETKİLERİ...	44
I. 3. 2. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİ VE TEDAVİSİ...	46
I. 4. VİGABATRİN...	49
GEREÇLER VE YÖNTEM...	60
II. 1. DENEY GRUBU...	60
II. 2. ANESTEZİ VE MONİTORİZASYON...	61
II. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ...	61
II. 4. CERRAHİ TEKNİK...	61
II. 5. FİZYOLOJİK PARAMETRELER...	63
II. 7. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME...	65
II. 8. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME...	67
III. 1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR...	76
III. 2. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI...	89
III.2.1. SPİNAL KORD DOKUSUNDA GSH DÜZEYLERİ...	89
III. 2. 2. SPİNAL KORD DOKUSUNDA MDA DÜZEYLERİ...	90
III. 2. 3. SPİNAL KORD DOKUSUNDA AOPP DÜZEYLERİ...	92
III. 2. 4. SPİNAL KORD DOKUSUNDA SOD DÜZEYLERİ...	93
III. 2. 5. SPİNAL KORD DOKUSUNDA NO DÜZEYLERİ...	95
III. 2. 6. PLAZMA GSH DÜZEYLERİ...	96
III. 2. 7. PLAZMA MDA DÜZEYLERİ...	98
III. 2. 8. PLAZMA AOPP DÜZEYLERİ...	99

III. 2. 9. PLAZMA SOD DÜZEYLERİ...	101
III. 2. 10. PLAZMA NO DÜZEYLERİ...	102
III.3. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME (TARLOV SKALASI)...	104
TARTIŞMA ve SONUÇ...	105
KAYNAKLAR...	116

TABLO VE ŞEKİLLER

Tablo 1: Omurilik yaralanmasında ikincil hasar mekanizmaları.....	28
Tablo 2: VGB'in yan etki profili ve sıklığı.....	54
Tablo 3: Kontrol grubunun histopatolojik değerlendirilmesi.....	77
Tablo 4: İ/R grubunun histopatolojik değerlendirilmesi.....	78
Tablo 5: dT grubunun histopatolojik değerlendirilmesi.....	78
Tablo 6: yT grubunun histopatolojik değerlendirilmesi.....	79
Tablo 7: Gruplar arası p değerleri.....	80
Tablo 8: GSH doku analizleri.....	89
Tablo 9: MDA doku analizleri.....	91
Tablo 10: AOPP doku analizleri.....	92
Tablo 11: SOD doku analizleri.....	94
Tablo 12: NO doku analizleri.....	95
Tablo 13: GSH plazma analizleri.....	97
Tablo 14: MDA plazma analizleri.....	98
Tablo 15: AOPP plazma analizleri.....	100
Tablo 16: SOD plazma analizleri.....	101
Tablo 17: NO plazma analizleri.....	103
Tablo 18: 6,24,48. saatlerde Tarlov skalalarına göre denek sayılarının gruplara göre dağılımı.....	104
Şekil 1: Akut spinal kord yaralanması mekanizması.....	29
Şekil 2: Glutamat ve GABA metabolizmaları.....	33
Şekil 3: Glutamat üzerinden iskemik nöronal hasarın mekanizması.....	34
Şekil 4: Post iskemik nöronal hücre dışı iyon potansiyel eğrileri.....	35
Şekil 5: İ/R hasarı oluşma mekanizmaları.....	42
Şekil 6: İ/R hasarında araşidonik asit metabolitlerinin rolü.....	42
Şekil 7: İnfantil spazmda VGB'in etki mekanizması.....	48

RESİM VE GRAFİKLER

Resim 1: Torakal vertebranın önemli yapıları.....	16
Resim 2: Spinal kordun sagittal kesiti.....	17
Resim 3: Spinal kordun ve duyuşal ganglionun aksiyel kesiti.....	18
Resim 4: Dentat ligaman ve spinal kökler	20
Resim 5: Spinal kord ve meninkslerin yapısı.....	20
Resim 6: Spinal korda travmatik hemorajik nekroz.....	27
Resim 7: Spinal kord servikal segmentte ön kolonda travmatik hemoraji.....	27
Resim 8: Tavşan orta hat laparotomi.....	62
Resim 9: Aorta klipaj.....	63
Resim 10:Lumbosakral spinal kordu çıkarılması.....	65
Resim 11: Kontrol grubuna ait medulla spinalis . Normal yapıda gri cevher (GC), beyaz cevher (BC), santral kanal (SK) ve nöron gövdeleri izleniyor. (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).....	81
Resim 12: Kontrol grubuna ait medulla spinalis gri cevher (GC) ve beyaz cevheri (BC) izleniyor. Nöron gövdeleri(↑), nöroglial hücreler (*), aksonlar (A), normal yapıda dikkati çekiyor (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).....	82
Resim 13: Post iskemik gruba ait medulla spinalis izleniyor. Multipolar özelliğini ve Nissl cisimciklerini yitirmiş, eozinofilik nöronlar (↑), artmış nöroglial hücreleri (*), beyaz cevherde genişlemiş ve şişmiş aksonal yapılar (BC) dikkati çekiyor (Bar: 100 µm, Hematoksilen-Eozin).....	83
Resim 14: Post iskemik gruba ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Aksonlarda vakuolizasyon (↑) ve ödem(*) izleniyor (Bar: 100 µm, Hematoksilen-Eozin).....	84
Resim 15: Post iskemi ve 50 mg/kg vigabatrin uygulanan gruba ait medulla spinalis'in gri cevher (GC), beyaz cevher (BC), santral kanal (SK) ve pia mater (↑) normal yapıda izleniyor (Bar: µm, Hematoksilen-Eozin).....	85

Resim 16: Post iskemi ve 50 mg/kg vigabatrin uygulanan gruba ait medulla spinalis beyaz (BC) ve gri cevheri (GC) izleniyor. Normal yapıda nöronlar (N), aksonlar (↑) ve nörogliya dokusu (*) izleniyor (Bar: 50 µm, Hematoksilen-Eozin).....	86
Resim 17: Post iskemi ve 150 mg/kg vigabatrin uygulanan gruba ait medulla spinalis izleniyor. Normal yapıda nöronlar, ve nörogliya hücreleri (*) izleniyor (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).....	87
Resim 18: Post iskemi ve 150 mg/kg vigabatrin uygulanan gruba ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Aksonlarda yoğun vakuolizasyon ve ödem (↑) izleniyor (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).....	88
Resim 19: Glutamatın NMDA ve AMPA reseptörleri üzerinden etkisi.....	107
Grafik 1: Gruplar arası doku GSH değerleri.....	90
Grafik 2: Gruplar arası doku MDA değerleri.....	91
Grafik 3: Gruplar arası doku AOPP değerleri.....	93
Grafik 4: Gruplar arası doku SOD değerleri.....	94
Grafik 5: Gruplar arası doku NO değerleri.....	96
Grafik 6: Gruplar arası plazma GSH değerleri.....	97
Grafik 7: Gruplar arası plazma MDA değerleri.....	99
Grafik 8: Gruplar arası plazma AOPP değerleri.....	100
Grafik 9: Gruplar arası plazma SOD değerleri.....	102
Grafik 10: Gruplar arası plazma NO değerleri.....	103
Grafik 11: Ortalama Tarlov skoru değerlerinin gruplara göre dağılımı.....	104

KISALTMALAR

» AOPP	İleri düzey oksidasyon protein ürünleri
» ATP	Adenozin trifosfat
» AMPA	Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid
» A-M	Astrosit-mikroglia
» BCAA-T	Branched-chain aminotransferaz
» BSA	Sığır serum albumini
» Ca ⁺⁺	Kalsiyum
» dT	Düşük doz tedavi
» EEG	Elektroansefalogram
» ER	Endoplazmik retikulum
» GABA	Gamma Aminobütirik Asit
» GABA-T	GABA transaminaz
» GAD	Glutamik asit dekarboksilaz
» GSH	Glutasyon
» H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
» H ⁺	Hidrojen
» İ/R	İskemi-reperfüzyon
» K ⁺	Potasyum
» KA	Kainik Asit
» MDA	Malondialdehit
» Na ⁺	Sodyum

» NMDA	N-Methyl-D-Aspartate
» NO	Nitrik oksit
» NOS	Nitrik oksit sentaz
» O ₂ ⁻	Süperoksid anyonu
» OH ⁻	Serbest hidroksil radikali
» PAF	Platelet aktive eden faktör
» PBS	Fosfat tampon solüsyonu
» PSS	Periferik Sinir Sistemi
» SEP	Somatosensoriel uyarılmış potansiyeller
» SOD	Süperoksid dizmutaz
» SOR	Serbest oksijen radikalleri
» SSS	Santral Sinir Sistemi
» TBA	Tiobarbitrük asit
» TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif madde
» TCA.	Trikloraasetik asit
» Tx A2.	Tromboksan A2
» VGB	Vigabatrin
» yT	Yüksek doz tedavi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Spinal kord, merkezi sinir sisteminin serebrum ve serebellumla birlikte diğer önemli bileşeni olup kraniyal merkezlerle periferik sinirleri, organları birbirine bağlayan önemli yolları barındıran bir köprü gibi konumlanmıştır. Evrimin ilerleyen basamaklarında omurilik organizma tarafından kemik bir yapı içerisinde korumaya alınmıştır. Buna rağmen değişen dünya şartlarında, daha sık karşılaşılan travmalar ve eş zamanlı gelişen cerrahi tekniklerle birlikte daha komplike olgulara müdahale edilebilmesi nedeniyle spinal kord yaralanma riski hızla artmaktadır.

Spinal kord yaralanması, kordun fonksiyonlarında (motor, duyu, otonomik ve refleks) yitime sebebiyet veren, fiziksel, psikolojik, sosyal ve ekonomik boyutları olan bir klinikopatolojik durumdur. Amerika Birleşik Devletlerinde spinal kord travma insidansı yılda 40/1000000' dir ve her yıl 10 000 yeni olgu gözlenmektedir. Spinal kord yaralanması sonrası hayatta kalanların %50'sinden fazlası normal yaşantısına geri dönememektedir. Son yıllarda her konuda olduğu gibi, posttravmatik rehabilitasyondaki gelişmeler neticesinde hastaların yaşam süresi uzayabilmekle beraber pek çok komplikasyonla karşılaşmamız kaçınılmaz hale gelmiştir. Omurilik yaralanmalarının etiyolojisinde, neredeyse yarısının sebebinin motorlu taşıt kazaları olduğunu görmekteyiz. Bunu, ev ve iş kazaları,

spor kazaları, ateşli silah ve kesici alet yaralanmaları ve diğer sebepler takip etmektedir.

Olguların yaklaşık %60' ında servikal spinal kord yaralanmakta, bunların %5–10' u kuadriplejik olmaktadır. Omurga dinamiğinde kısmen rijid torasik bölge ile hareketli lomber bölge arasında bir geçiş bölgesi olan torakolomber bileşke (T9-12) en sık ikinci sıklıkla gözlenen travma bölgesidir.

Bugün için spinal kord travması sonrası, kabul edilmiş etkin ve geçerli bir tedavi yöntemi yoktur, çünkü post-travmatik patofizyolojik bulgular henüz tam olarak açıklanamamıştır. Akut omurilik yaralanmasında en yararlı klinik sınıflandırma, patolojik, elektrofizyolojik veya görüntüleme yöntemlerinden çok, klinik değerlendirmeye fonksiyonel nörolojik hasarın belirlenmesi üzerine kurulan sınıflandırmadır.

Akut spinal kord yaralanmasına bağlı oluşan hasarın meydana gelmesinde iki mekanizma olduğu ileri sürülmektedir. Bunlar birincisi **primer mekanik hasarlanma** ikincisi ise bunun tarafından tetiklenen bir veya birçok etkenin rol oynayabileceği **sekonder hasarlanma** olarak bildirilmektedir [1,2]. Nöronal yaralanmada deneysel ve klinik araştırmaların büyük kısmı sekonder yaralanmayı önlemek ya da azaltmaya yöneliktir [3]. Bu amaçla özellikle son 30 yılda pek çok ilaç hayvan çalışmalarında denenmiş ve bir kısmı etkin bulunmuştur. Bu ilaçların bazıları klinik çalışmalarda denenmiş ancak insanda etkinliği ispatlanamamıştır. Kortikostereoidlerden metil prednizolon klinik pratikte yaygın olarak kullanılmakla birlikte son yıllarda etkinliği ciddi tartışmaları da beraberinde getirmiştir. Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler:

serbest radikal üretimi, glutamaterjik, kolinerjik ve katekolinerjik nörotransmisyon sistemleri, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, lipid peroksidasyonu, nörotrofik faktörler, inflamasyon süreci, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmaları ile ilgilidir. Etkin nöroprotektif tedavinin bulunması için omurilik yaralanmasının patofizyolojisi daha iyi anlaşılmalıdır.

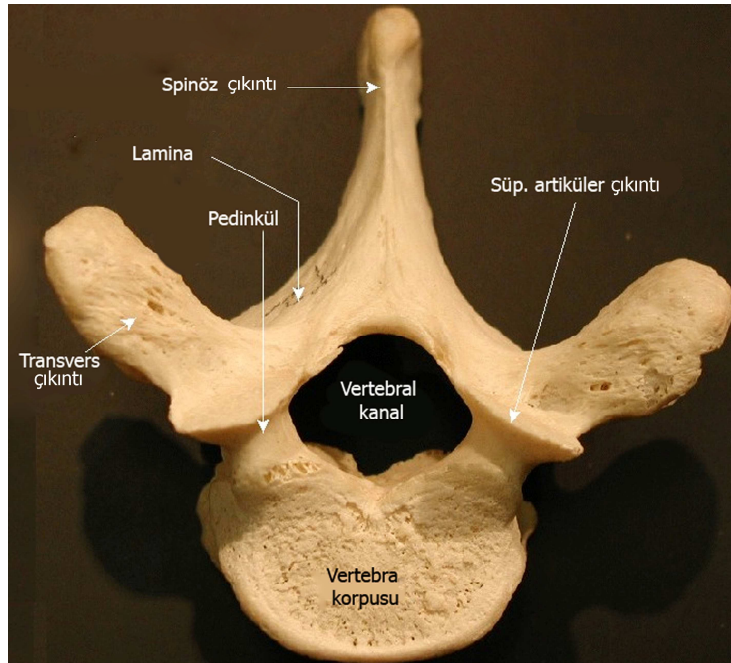
İskemi, kardiyovasküler problemlere, cerrahi girişimlere ya da travmaya bağlı meydana gelebilir ve ilgili alanda doku hasarına yol açan bir olaydır. Sinir dokusunun iskemiye dayanma süresi, anaerobik oksidasyonun yetersizliğinden dolayı bedenin diğer dokularına göre daha azdır. Reperfüzyon ise biyokimyasal mekanizmaların aracılık ettiği sekonder hasara neden olan bir olaydır. Spinal kord ve aort cerrahisi sonrasında hasara engel olmak için iskemi süresi mümkün olduğu kadar kısa tutulmalı, hızla kan akımı tekrar sağlanmalı ve reperfüzyonun yol açacağı istenmeyen reaksiyonlara engel olunmaya çalışılmalıdır.

Vigabatrin (VGB), epilepsi hastalarında kullanılan bir ajandır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, VGB'in farklı özellikleri ve etki mekanizmaları vurgulanmaktadır. Bunlardan birisi de nöroprotektif etkisidir. Daha önce pek çok çalışma da VGB'in nöral iskemiye olan nöroprotektif etkileri araştırılmış ve çeşitli sonuçlar elde edilmişti. Literatürdeki bilgiler sentez edildiğinde serbest GABA miktarını arttıran bu ajanın diğer benzer etki ile nöroproteksiyon sağlayan diğer ajanlarda olduğu gibi sinir dokusundaki hasarı azaltmada etkili olabileceğini düşündük ve bu çalışmayı yaptık. Sonuçlar biyokimyasal, histopatolojik ve nörolojik olarak değerlendirilip karşılaştırıldı.

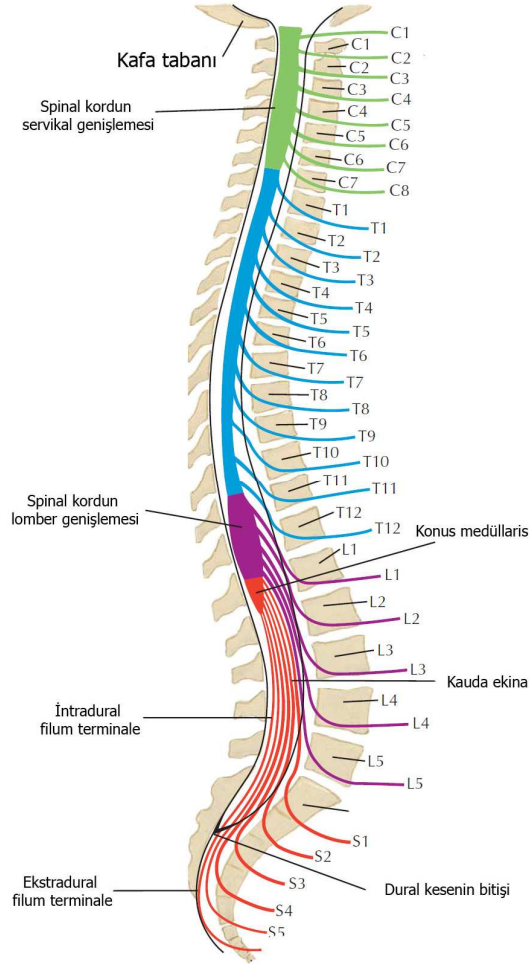
GENEL BİLGİLER

I. 1. 1. OMURİLİK ANATOMİSİ

Erişkinde yaklaşık 72–75 cm. uzunluğa sahip olan vertebral kolon 33 vertebradan oluşur. Ortasında oluşturduğu spinal kanal ile medulla spinalise, çıkan sinirlere, bunların besleyen damarlar ve saran meninkslere bir koruyucu kafes gibi fonksiyon gördüğü gibi vücudun dik pozisyonda durabilmesini sağlar. Her bir vertebra önde yoğun bir kemik yapıya sahip olan gövde (korpus) ve arkada kemik ve eklemlerden oluşan bir kemerden (arkus) oluşmuştur (Resim 1). Vertebral kolon ve spinal kordun gelişim hızları farklı olduğundan, spinal kord segmenti, vertebral kolon segmentine karşılık gelmez (Resim 2).



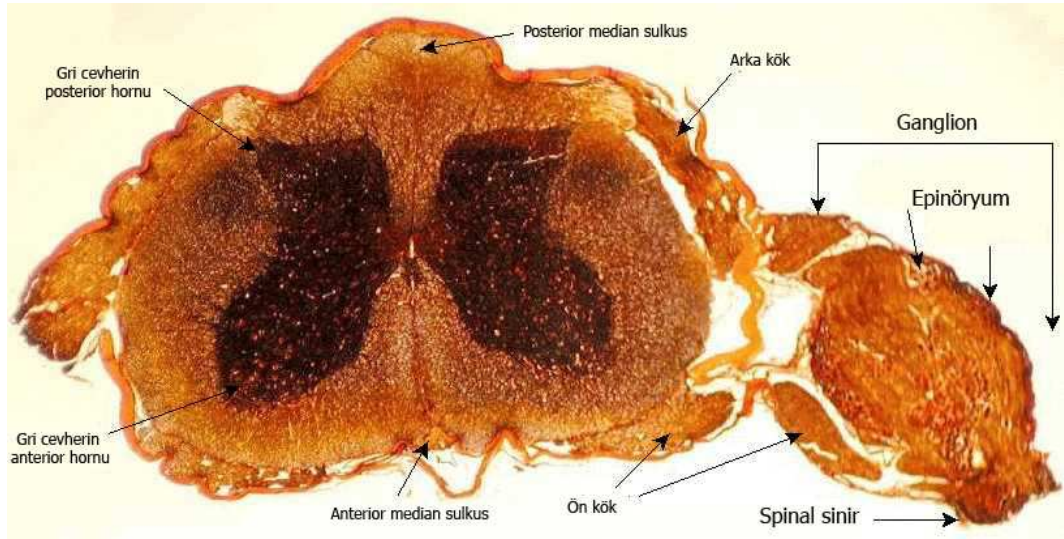
Resim 1: Torakal vertebra'nın önemli yapıları



Resim 2: Spinal kordun sagittal kesiti

Erişkin bir insanda omurilik, C1' in (atlas) üst sınırından başlayıp genellikle L1-2 intervertebral disk seviyesinde sonlanır. Spinal kord dura denilen kollajen içerikli bir zarla kaplı olup bu S2 seviyesinde sonlanır ve koksigeal ligamanı oluşturur.

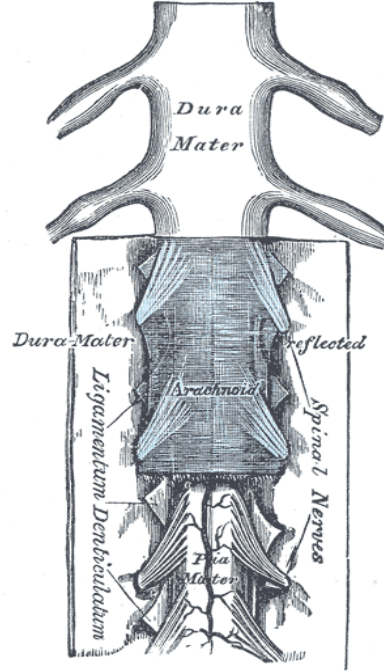
Spinal kord 8'i servikal, 12'si torasik, 5'i lumbal, 5'i sakral ve birkaç koksigeal segment olmak üzere toplam 32–33 segmentten oluşur. Her dorsal spinal sinir kökü üzerinde oval bir genişleme olan spinal (duysal) ganglion bulunur. Gri cevher spinal nöronları içerir ve santral kanalı çevreler. Çevrede yer alan beyaz cevher ise miyelinli ve miyelinsiz lifler aracılığı ile aşağı ve yukarı merkezlerin ilişkisini sağlayan hücre aksonlarıdır (Resim 3).



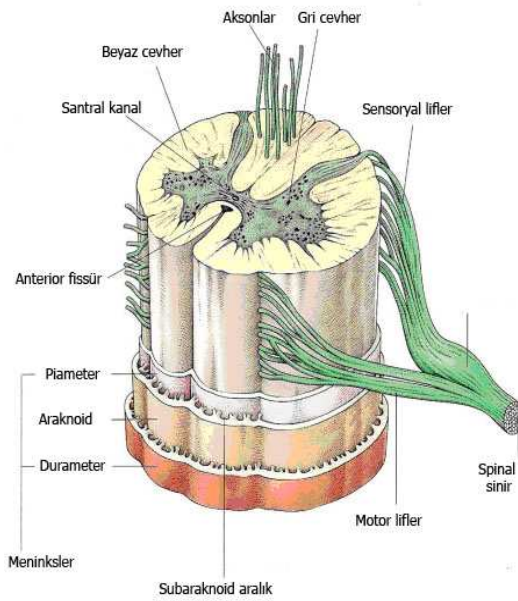
Resim 3: Spinal kord ve duyusal ganglionun aksiyel kesiti

Ön ve arka kökler arasında foramen magnumdan L1 seviyesine kadar boylu boyunca uzanarak spinal kordu duraya bağlayan pial katlantılara, falsiform (dentat ligaman) ligaman denilir ve bu ligaman yapısı kordun yaylanma mekanizmasında etkindir (Resim 4). Omurilik bir dış lif katmanı olan beyaz cevher ile sarılmış olan gri cevherden yapılmıştır. Gri cevher spinal nöronların hücre gövdeleri ve dendritleri ile bunlardan çıkan veya bunların üzerinde sonlanan aksonlar ve akson sonlanmalarından kuruludur (Resim 5).

Beyaz cevher, boylamasına giden aksonal lif traktlarının aksonlarından kurulmuştur. Merkezi sinir sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi medulla spinalisin beyaz cevheri, sinir lifleri, nöroglia ve kan damarlarından oluşmuştur. Gri ve beyaz cevher sınırları farklı omurilik seviyelerine göre değişebilmektedir. Beyaz cevher servikal bölgede görece kalın olup aşağı indikçe ayrılan sinir kökleri nedeniyle, kütlesi giderek azalır. Gri cevher ise servikal ve lomber genişlemelerde en fazla gelişmiş olup buralar ekstremitelerin motor ve duysal işlevlerine katılan nöronlardan yapılmıştır Bu genişlemelere; intumescentia servikalis ve intumescentia lumbosakralis adı verilir (Resim 2).



Resim 4: Dentat ligaman, spinal kökler izlenmekte



Resim 5: Spinal kord ve meninkslerin yapısı

I. 1. 2. OMURİLİĞİN KAN DOLAŞIMI

Spinal kord kan akımı, kaynakları ve dağılımı açısından karmaşık bir özellik gösterir. Abdominal ve aortik cerrahi ve/ veya enstrümantasyon, direkt travma, bireysel anatomik değişiklikler, anestezi ajan ve teknikler spinal kord kan akımı otoregülasyonu etkileyebilir.

Omuriliğin arterleri: Omurilik, segmental spinal arterlerin medüller dallarından kan alan üç longitudinal yerleşimli damar sistemi yoluyla beslenmektedir [4]. Vertebral arter, servikal spinal kordun esas besleyicisi olup, sıklıkla subklavian arterden köken alır. Üst 6 servikal vertebranın transvers foramenleri içerisinde seyir gösterip, atlanto-oksipital membranı delip geçerek foramen magnumdan posterior fossa'ya girdiğinde, anterior ve posterior spinal, meningeal ve medüller dalları verir. Daha sonra her iki vertebral arter birleşerek baziler arteri oluşturur. Otoregülasyon ve kimyasal regülasyon yönünden spinal kord kan akımının düzenlenmesi serebral kan akımına benzerlik gösterir. Spinal kordun perfüzyon basıncı otoregülasyon sınırının altında tutulursa iskemi gelişir. Spinal kord ve vertebral kolon boyunca uzanan bir anterior ve iki posterolateral arterler vertebral foramenlerden sinir kökleri ile birlikte spinal korda ulaşan segmental arterlerden dallar alırlar. Anterior spinal arter (ASA) spinal korda segmental düzeyde bir kan akımı sağlar. Anterior spinal artere sol vertebral arterden, tiroservikal trunkustan, interkostal arterlerden ve sakral arterden segmental kan akımı sağlanır [5,6].

Anterior spinal arter, her iki vertebral arterden çıkan birer yan dalın birleşmesiyle oluşur ve orta hat boyunca (anterior median sulkusta) tüm omurilik boyunca seyreder. İntrinsik kan dolaşımının en önemli elemanıdır, perforan santral dallar aracılığı ile spinal kordun ön üçte ikisine dağılır. Anterior ve lateral kolonun tamamı ile gri kolonun ön kısmını besler. Torakolomber bölgede **Adamkiewicz** arteri ile anastomoz yapar.

Posterior spinal arterler, iki adet olup vertebral arter veya posterior serebellar arterlerden köken alırlar. Medulla oblongatadan başlayarak kaudale doğru omuriliğin tüm uzunluğu boyunca posterolateral yüzde seyreder. Radiküler arterlerin posterior dalları ile anastomoz yaparlar ve omuriliğin posterior 1/3'ünün kanlanmasını üstlenirler [7].

Radiküler arterler, ekstrinsik dolaşımın komponentidir, her vertebral segment hizasında komşu arterlerden doğarlar. Esas olarak sinir kökünün beslenmesi ile ilişkilidir. Daha kalın arterlerden bazıları duramatere erişir, ince meningeal dallar verir, sonra spinal arterleri oluşturmak üzere yukarı ve aşağı uzanan dallara ayrılır. Hem sinir kökü hem de omuriliğin daha çok anteriorunu besleyen kalın radiküler arterlere radikülomedüller arterler adı verilir [7, 8]. Yaklaşık 6–8 adet görülen radikülomedüller arterler en sık C3, C6, C8, T4, T5 radikülomedüller arterleri ve Adamkiewicz arteridir [5,7]. Adamkiewicz arteri torakolomber segmenti besleyen arter en gelişmiş radikülomedüller arter olup arteria radikularis magna olarak da isimlendirilir. Genellikle bir interkostal arterden köken alır, bazen de direkt olarak aortadan çıkar. Vakaların büyük kısmında bir tanedir ve sol taraftan köken alır. Yapılan bir çalışmada,

Adamkiewicz arterinin %91 vakada T8-L1 seviyesi arasından çıktığı, % 70'den fazla vakada sol tarafta bulunduğu, %26 vakada iki adet olduğu, %10 vakada bilateral olarak izlendiği gösterilmiştir [9]. Wadouh ve ark.'ları, bu arterin lomber spinal kord perfüzyonundaki önemini, ligatüre edildiği deneklerin %70'inde parapleji geliştiğini göstererek vurgulamışlardır [10]. Dolayısıyla bu arterin çıktığı düzeyin bilinmesi büyük önem taşımaktadır.

Spinal kordun posterior kısmını ise 10–23 arasında radiküler dal beslemektedir [5,7].

İntrinsik ve ekstrinsik dolaşıma ek olarak, spinal kord kan akımına katkıda bulunan kollateral damarlar da mevcuttur. Kostoservikal trunkus, oksipital, derin ve çıkan servikal arterler, interkostal ve lomber arterler, internal mammarian arter, hipogastrik arter, orta sakral arterler, iliolumber arterlerin kollateral dolaşıma önemli katkıları mevcuttur [11]. Servikal ve üst torasik spinal kord segmentleri zengin kollateral ağ ile beslenirler. Anterior spinal arter, üst torasik segmentte iyi gelişmiş olarak seyrederken, orta torasik segmentte inceler. Ayrıca torakolumber segmentte spinal kord kan dolaşımına katkıda bulunan sadece bir radikükomedüller arter mevcuttur. ***Bundan ötürü, alt torasik ve lomber segmentler, aortik kros klempleme esnasında iskemik hasara maruz kalması en muhtemel ve iskemiye en duyarlı bölgedir.***

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

vene açılır. Yukarıda foramen magnum aracılığı ile medulla oblongatayı ve serebellumun alt yüzünü boşaltan venlerle bağlantı halindedir. Sinir kökleri ve radiküler arterlere eşlik eden ön ve arka radiküler venler intervertebral venleri yapmak üzere ön ve arka iç vertebral pleksuslardan gelen dallarla birleşir [7]. Venler omurilikte arterlere eşlik eder ve arter dallarıyla aynı ismi alır. Longitudinal venler üst uçta internal juguler ven ve vertebral ven yoluyla vena kava superiora dökülür. Her segmentten çıkan intervertebral venler hem internal vertebral venöz pleksüs hem de foramenden kanal dışına çıkarak sakral, lumbal, interkostal ve servikal venlere ve bu yolla inferior vena kavaya dökülür.

I. 1. 3. OMURİLİK YARALANMASI VE FİZYOPATOLOJİSİ

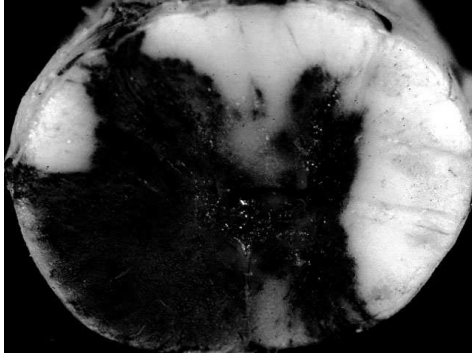
Özellikle rejenerasyonu konusunda pek çok klinik çalışma yapılsa da omurilik yaralanmalarında nöroproteksiyon ve yaralanmış omuriliğin rejenerasyonu insanda henüz tam manasıyla başırlamamıştır. İlk hasar, travma ya da iskemiden dakikalar içinde oluşan ve günler ya da haftalar boyunca devam eden moleküler ve hücresele değışimler kaskadını tetikler. Bunu takip eden ikincil hasar kaskadının durdurulması için nöroproteksiyon çalışmaları halen yapılmaktadır. Hasarlı nöronların yaşamlarına devam etmeleri, hasarlı dekonnekte aksonların uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ise rejenerasyon sürecindeki esas basamaklardır. Omurilik yaralanmasından sonra nöronal dejenerasyon ve nöronların yaşamlarını sürdürme mekanizmalarını anlamak amacı ile pek çok çalışma yapılmıştır. Düşük evrim basamağındaki

omurgalılarda nöronlarının inen aksonlarının kesilmesi, aksonların lezyon sahasını geçerek büyümesi ve uzak hedeflere doğru uzaması ile sonuçlanır. Rejenere olan bu aksonlar, lezyondan daha aşağıdaki spinal hedefler ile sinaptik bağlantılar yaparlar ve fonksiyonlar aşamalı olarak düzelir. Kuşlar ve memelileri de içeren immatür yüksek omurgalılarda, omurilik yaralanmasından sonra aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme olabilirken, matür memelilerde rejenerasyon ve fonksiyonel olarak iyileşme genellikle çok sınırlıdır. Otopsi çalışmaları, omurilik yaralanmalarında klinik olarak tam yaralanma olsa da, omuriliğin anatomik olarak sağlam kaldığını göstermiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalar, spinal korddaki aksonların %12'si kadar az bir oranının korunmasının bile nörolojik iyileşmeyi destekleyeceğini göstermektedir. Böylece, hasarlı bölgeyi geçebilen fonksiyonel akson oranını arttırabilecek ya da bu aksonlardan gelen zayıf uyarılara alt motor nöronların yanıtını arttıracak her türlü müdahale, nörolojik iyileşmede etki gösterebilir.

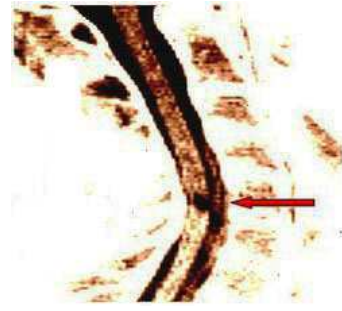
Spinal kord hasarı 1911'de Allen'nin ilk tanımlamasından bu yana primer ve sekonder hasarlanma olarak iki başlık altında değerlendirilir [12]. Travma anında, travma sahasındaki dokuların kompresyon, distraksiyon, laserasyon gibi mekanizmalarla nekroz ve fonksiyon kaybıyla sonuçlanan fiziksel hasarlanmalar primer hasar, bundan sonraki saatler ve günler ve hatta haftalar içinde gelişen bir takım patofizyolojik, hemodinamik ve biyokimyasal mekanizmalarla devam eden, artan doku kaybı dönemi de sekonder hasar olarak isimlendirilir [13,14]. Yapılan çalışmalarda, travmanın tipinden ve spinal kordun primer hasarından çok sekonder doku hasarlanmasının daha gürültülü seyrettiği bildirilmiştir (Tablo 1).

Primer hasarlanmayı o an önleyebilecek fazla bir şey olmamasına rağmen sekonder hasarlanma evresinde nöronal proteksiyonu arttıracak tedavi sistemleri söz konusu olabilir. Bu nedenle özellikle son 3 dekada yapılan deneysel çalışmalarda bu sekonder yaralanmayı önleyebilecek medikal tedaviler üzerinde durulmaya başlanmıştır [14–15]. Hasarlanma mekanizmalarına daha ayrıntılı bakacak olursak; primer hasarlanma akut faza da karşılık gelecek şekilde primer olarak mekanik travmaya fizyolojik ve hücrel cevabı içeren faz olup; çarpma, kompresyon, distraksiyon, laserasyon gibi mekanizmalar sonucu kordda oluşan direkt hasarlanmadır. Travma bölgesinde, 15 dakika içinde ince kapiller damarların ve ince duvarlı venlerin yırtılmasıyla ekstrasellüler ve periaksonal boşluklarda progressif peteşiler meydana gelir. Hemorajik sahanın büyüklüğü zorlanmanın etkisiyle orantılıdır ve belirgin olarak da gri cevher ile posterior kolonların ön yüzeylerinin sınırında yaklaşık 2–4 saat içinde görülür. Primer hasarlanmayı takiben sekonder hasarlanma mekanizmaları hemen devreye girerler. Hemorajik nekrozun gelişimi ve yayılımına interstisyel ödem de eşlik etmektedir. Bu ilk doku yanıtı olarak ödem non-proteinöz bir ödem olmakla birlikte zaman içinde kan-kord bariyerinin hasarlanması ve elektrolit denge bozuklukları sayesinde protein ekstrasvazyonuyla birlikte vazojenik ödem görülür. Ciddi kapalı spinal travma varlığında ödem ve hemorajik nekroz 4 saat içinde belirgin yayılım gösterir (Resim 6,7) ve bu tablo 18 saate kadar uzar [14]. Omurilik yaralanması sonrasında, omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur (Şekil 1). Ducker, bu patolojik değişikliklerin

zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiğini göstermiştir [16]. Nemecek bu ciddi nekrozla seyreden süreci “otodestrksiyon” olarak tanımlamıştır [17].



Resim 6: Spinal korda travmatik hemorajik nekroz



Resim 7: Spinal kord servikal segmentte n kolonda travmatik hemoraji

Tablo 1: Omurilik yaralanmasının patofizyolojisindeki ikincil hasar mekanizmaları [18].

Sekonder yaralanma mekanizmaları

Sistemik etkiler (Nörojenik şok)

Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi
Kalp basıncı kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon
Periferik dirençte azalma
Kalp debisinde azalma

Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasar

Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma
Hemoraji: özellikle gri cevherde
Mikrodolaşımda kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm

Biyokimyasal değişiklikler

Serbest radikal üretimi
Lipid peroksidasyon
Eksitotoksiste: glutamat
Nörotransmitter birikimi
Endojen opioidler
Katekolaminler: noradrenalin, dopamin
Araşidonik asit salınımı
Eikozanoid üretimi
Prostaglandinler
Sitokinler

Elektrolit kaymaları

İntraselüler kalsiyumda artış
Ekstraselüler potasyumda artış
Sodyum geçirgenliğinin yükselmesi

Enflamatuar cevap

Serbest radikal üretimi
Akson yıkımı
Myelin artıklarının uzaklaştırılması
Sitokinlerin salınımı
Glial hücre aktivasyonu
Oligodentrositlerde sitotoksik etkiler
Wallerian dejenerasyon

Ödem

Apopitozis

Enerji metabolizmasında kayıp

Azalmış ATP üretimi

I. 2. 1. İSKEMİ ve REPERFÜZYON

A) İskemi

İskemi, kan akımı yetersizliği nedeniyle dokuların ihtiyacı olan oksijen ve metabolik substratların karşılanamadığı patolojik bir olaydır. Nöral doku çeşitli nedenlerden dolayı iskemiye çok duyarlıdır. Oksijen depo edemediği için, oksijen desteği kritik değerlerin altına düştüğü zaman nöral doku canlılığını sürdüremeyecektir. Hasarın şiddeti, hipoksinin süresi ve derinliğine bağlıdır.

Medulla spinalisin metabolik ihtiyaçları ve bunun için gerekli olan kan akımı arasında hassas bir denge vardır. Bazal şartlarda spinal kordun total kan akımı yaklaşık 30–35 ml./100 gr. doku/dk.'dır [18]. Enerji üretimi için gerekli olan oksijen ve diğer substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otoregülasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Spinal kord kan akımı, 50–135 mmHg. ortalama sistemik arter kan basıncında, bu intrensek kontrol mekanizmalarıyla güvenli bir şekilde sürdürülmektedir [20,21].

Uzamış iskemi, hücrede metabolik ve yapısal değişikliklere neden olur. İskemi nedeniyle hücresel oksidatif fosforilizasyon azalır. Hücre membranındaki adenosin trifosfat (ATP) bağımlı iyon pompasının fonksiyonunun bozulması sonucu hücre içine kalsiyum (Ca^{++}), sodyum (Na^{+}) ve su girişi artar. İskemi sırasında adenin nukleotid katabolizması sonucu hipoksantin hücre içinde birikir. Bu arada, endotelde, lökosit adhezyon molekülleri, sitokinler gibi bazı proinflamatuvar ürünlerin ve endotelin, tromboksan A2 (Tx A2) gibi bazı biyoaktif

ajanların yapımı artarken, yapısal nitrikoksit sentaz, trombomodulin gibi diğer bazı koruyucu ürünlerin ve biyoaktif ajanların (prostosiklin, nitrik oksit (NO) yapımı baskılanır. Böylece iskemi, daha sonraki reperfüzyon döneminde doku zedelenebilirliğini arttıran proinflamatuvar dönemi başlatır.

İskemik dokuların reperfüzyonu ile iskeminin şiddetine ve süresine bağlı olarak, hücrelerin bir kısmı nekroz veya apoptozis ile ölmeye devam eder. Etkilenen dokularda nötrofil infiltrasyonu gözlenir. Parenkimal hücreler, endotel hücreleri ve lökositlerce serbest oksijen radikalleri (SOR)' nin yapımı artar. Bu arada hasarlı mitokondrilerde oksijen yetersizliği veya alternatif yollardan oksijenin indirgenmesi ile de SOR oluşabilir. Hücrel antioksidan savunma sistemlerinin de iskemi nedeniyle etkinliği zayıflar.

Sonuç olarak, iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisi tam olarak açığa kavuşmamış, birbiriyle ilişkileri karmaşık, bir seri hücrel ve humoral olaylar dizisidir.

Hipoksi durumunda, hücre canlılığının devamı için gerekli olan enerji ATP, glikojen depolarından glikoliz yoluyla yani anaerobik olarak üretilmeye başlar. Bu esnada, aerobik glikoliz neredeyse ileri düzeyde yavaşlamakta ve ATP' nin sadece %7'si bu yolla üretilebilmektedir [22]. Normal vücut ısısında, 3–4 dakikalık iskemiye takiben ATP depoları tamamen boşalır, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon durur. ATP düzeyi düştüğünde intraselüler iyonik homeostazis için gerekli olan ve ATP' ye bağımlı membran iyon pompaları çalışamaz [23]. İrreversibl sellüler hasar sürecinin başlamasında Ca^{++} iyon dengesinin bozulması en kritik noktadır. İskemi esnasında, intraselüler Ca^{++} hızla

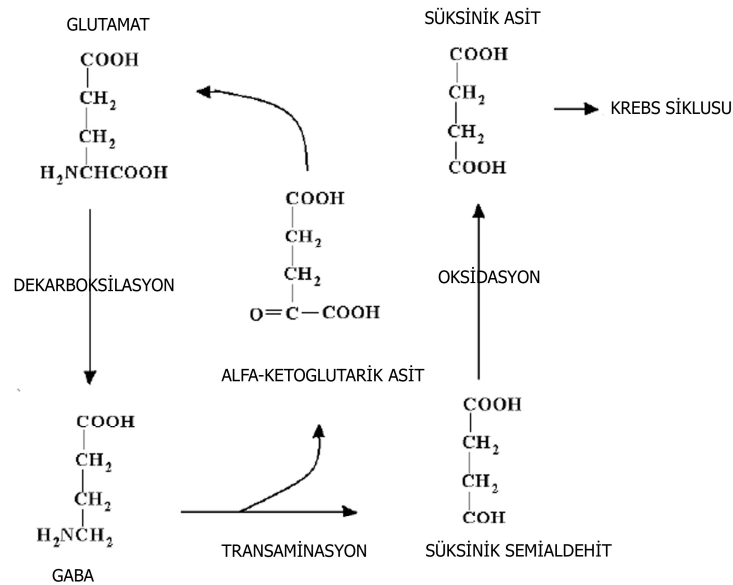
çoğalmakta, Ca^{++} seviyesindeki bu artış sitoplazmik proteazlar ve nükleazların salınımını aktive etmektedir. Bunlar yapısal proteinlerin ve DNA' nın hasar görmesinden sorumlu olan enzimlerdir. Ca^{++} un aktive ettiği fosfolipazlar, membran lipidlerini, araşidonik asit ve diğer çeşitli vazoaktif metabolitlere dönüştürecektir. Endotelyal ksantin dehidrogenaz, ksantin oksidaza dönüşür ve bu da reperfüzyon esnasında serbest radikal üretiminde rol alan önemli bir ajandır. Bununla birlikte, intrasellüler Ca^{++} konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikisi de şiddetle nörotoksik olan **aspartat ve glutamat** gibi eksitatör aminoasitlerin miktarının artmasına neden olur [23].

Glutamat beyin metabolizmasında önemli bir yer tutmaktadır. İskemi sonrasında temel eksitatuvar mediyatörü olan glutamat lokal olarak artınca, hücre zarında N-Metil-D-Aspartat (NMDA) ve amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propiyonik asit (AMPA) reseptörlerini etkileyip, bir dizi reaksiyon sonrası hücre içi yıkım 14 enzimlerinin etkileşmesine yol açar [24]. Glutamat metabolizması sırasında oluşan ara ve son ürünler, değişik aşamalarda sitrik asit döngüsüne katılmaktadırlar.

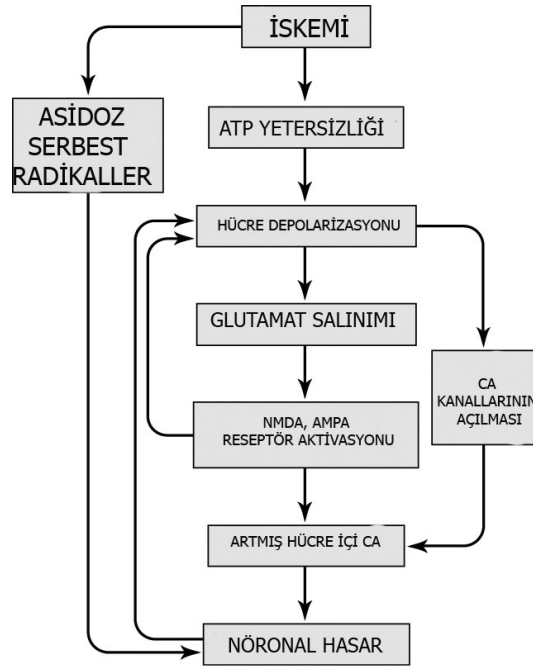
Glutamatın dekarboksilasyonu sonucu oluşan, diğer dokularda çok düşük miktarlarda bulunan gamma aminobütirik asit (GABA), beyin ve omurilikte yüksek konsantrasyondadır. GABA ile alfa-ketoglutaratın transaminasyon tepkimesi sonucu süksinat semialdehit ve glutamat elde edilmekte, daha sonra süksinat semialdehitin oksitlenmesiyle oluşan süksinat da sitrik asit döngüsüne katılmaktadır. Alfaketoglutaratın %20–30 kadarı GABA şantı olarak bilinen bu yolda kullanılmaktadır (Şekil 2). Plazmadan alınan etanolamin beyinde

fosfatidiletanolamine çevrilmekte ve daha sonra fosfatidiletanolaminin metillenmesiyle fosfatidilkolin oluşmaktadır. Beyinde üre sentezi yapılamamaktadır. Çünkü üre döngüsünde görevli enzim olan karbamoil fosfat sentetaz I enzimi beyinde bulunmamaktadır. Amino asitlerin deaminasyonu sonucu oluşan amonyak (NH_3), glutamattan glutamin oluşturarak beyini terkeder. Beyinde küçük miktarda glutamin birikintisi vardır.

İntrasinaptik glutamat birikimi postsinaptik nöron düzeyinde iyon hareketlerinde bir dengesizlik oluşturur. Böylece, Na^+ kanallarının aktivasyonu yoğun bir su ve Na^+ akışı sağlayarak intrasellüler bir ödeme yol açarken, aşırı Ca^{++} yüklü lipid ve proteinlerde degradasyon reaksiyonlarının aktive ederek sonuçta nöronal nekroz oluşturabilir (Şekil 3).



Şekil 2: Glutamat ve GABA metabolizmaları



Şekil 3: Glutamat üzerinden iskemik nöronal hasarın mekanizması

a) Reversibl iskemik hasarlanma

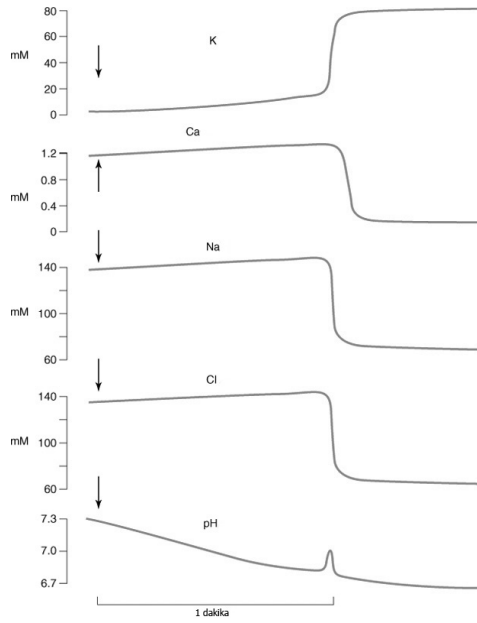
İskemiyle birlikte hızla gelişen hipoksiye bağlı olarak hücrenin aerobik solunumu (mitokondrial oksidatif fosforilasyon) yapılamaz ve hücrenin enerji kaynağı olan ATP' nin düzeyi azalır ve hücrede ATP' ye bağımlı birçok fonksiyonda aksama ve bunlarla paralel çeşitli yapısal bozukluklar meydana gelir:

- Na^+ - K^+ -ATPase pompasının yavaşlamasına bağlı olarak intrasellüler ortamda Na^+ ve Ca^{++} birikirken K^+ hücre dışına çıkar, neticede hücre ve endoplazmik retikulum (ER) su alarak şişer (Şekil 4). Hücrede anaerobik solunum olan glikoliz devreye girer ve neticede pH düşer; bu durumun uzaması nükleustaki kromatinde kümeleşmeye,

lizozomların salınmasına ve bununla ilişkili olarak membran hasarına neden olur.

- ER’ deki ribozomlar ayrılır ve protein sentezi azalır.

Yukarıda belirtilen biyokimyasal ve patolojik bozukluklar, kan akımı tekrar sağlanırsa geriye dönebilir; eğer iskemi devam ederse ATP’ deki tükenme şiddetlenir ve morfolojik hasar irrevesibl sınıra doğru ilerler.



Şekil 4: Hücre dışı iyon potansiyel eğrileri; iskeminin 1. dakikası sonrasında hücre dışı iyon konsantrasyonundaki ve pH'daki belirgin değişiklik görülüyor.

b) İrrevesibl iskemik hasarlanma

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

- 1) ATP'nin azalması sitoplazma membranının yapısına giren fosfolipid kaybına neden olur; bu,

fosfolipid biyosentezinin azalmasına ve ATP tükenmesi sonucu yükselen intrasellüler Ca^{++} un fosfolipaz aktive edip fosfolipid yıkılımını arttırmasına bağlıdır,

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

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

B) İyon Dengesinin Bozulması

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

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

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

*** İyon Kanalları (İyonoforlar) : Reseptör protein yapısında kanallardır [25,26].

Hücrenin enerji ihtiyacı temin edildiği sürece aktif ve pasif transport sistemleri uyum içinde çalışarak iyon dengesini sağlamaktadır. İyon dengesi, hücre içi metabolizma ve sinyal iletimi gibi temel fonksiyonlar ile elektrofizyolojik anlamda sinir hücresinde uyarı iletim fonksiyonu için gerekli olan membran potansiyelinin oluşturulmasında birinci derecede önem taşımaktadır. Sağlıklı polarize bir sinir hücresinde, sözü edilen aktif ve pasif transport sistemleri ile sağlanan ve iyonların membranın iki yüzünde eşit olmayan dağılımı ile oluşturulan 60 mV'luk bir membran potansiyeli bulunmaktadır. Sinirsel uyarı iletimi membranın ardışık olarak depolarizasyonu repolarizasyonu ile gerçekleşmektedir. Sinir hücresinin bu elektriksel aktivitesi de elektroansefalogram (EEG) dalgaları ve somatosensoriel uyarılmış potansiyeller (SEP) ile gösterilmektedir [26,27].

KALSİYUM

Santral sinir sisteminde hasarlanmayı takiben nöronal dejenerasyonun patogeneğinde Ca^{++} a karşı oluşan membran geçirgenliğindeki değişiklikler önemli yer tutar. Örneğin, beyaz cevher yaralanmasında hipoksi çalışmaları, nöronal kültürlerde glutamat sitotoksitesi çalışmaları, spinal kord travması sonrası aksonlarda Ca^{++} akümüasyonu ultrastrüktürel çalışmaları, optik sinir ve spinal kordda aksonal ve glial Ca^{++} seviye değişikliklerini görüntüleme çalışmaları ve posttravmatik spinal kord kan akımı çalışmaları nöronal yaralanmanın Ca^{++} hipotezini kuvvetle desteklemektedir [28]. Voltaj bağımlı Ca^{++}

kanalları, uyarılabilir hücrelerde Ca^{++} girişı için önemli bir yolak oluştururlar. Voltaj bağımlılığı kinetik ve farmakolojik duyarlılık gibi birtakım özelliklerle karakterize heterojen bir aile oluştururlar. Ca^{++} kanallarının fonksiyonel değişikliği esas olarak alfa-1 subunitindeki farklılıklardan kaynaklanır. Günümüzde alfa-1 subunitinin 6 majör subtipi tanımlanmıştır. Fizyolojik özelliklerinin temelinde ve farmakolojik profillerine göre bu kanallar düşük voltaj aktivasyonlu ya da T tip kanallar ve birkaç yüksek voltaj aktivasyonlu kanal olarak (L, N, P, Q ve R tipleri şeklinde) sınıflandırılabilirler. Beyaz cevher hasarında Ca^{++} a bağlı mekanizma henüz çok açıklığa kavuşmamıştır. Hipoksi, iskemi ya da travmatik yaralanmaya maruz kalan nöronlarda iyonotropik glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonundan Ca^{++} aşırı yüklenmesi bildirilmiştir. AMPA ve Kainik Asit (KA) reseptörleri hızlı eksitator sinaptik uyarımda rol oynarlar. Glial dokuda AMPA/KA reseptörlerinin aktivasyonu santral sinir sistemi beyaz cevherinde eksitotoksik yaralanma ile ilişkilendirilmiştir. Bu AMPA/KA reseptörleri Ca^{++} akışını yönlendirirler. İntraselüler Ca^{++} artışı proteazların, endonükleazların indüklenmesiyle apoptoz, nekroz, mitokondrial hasar ve asidoza öncülük eder ve artmış serbest radikal üretimi, aksonal yaralanma ile sonuçlanır. Periaksonal gliada voltaj bağımlı Ca^{++} kanalları boyunca Ca^{++} akışı posttravmatik aksonal iletim azalmasını hızlandırır. Oligodendrositlerde Ca^{++} kanallarının yoğun aktivasyonu, bu hücreleri destrukte eder, böylece myelin hasarı oluşur. Bu kanalların blokajı oligodendrosit ve myelinlerini koruyabilir. Böylece travmatik yaralanmayı takiben aksonal iletim korunması artar [28].

Normal şartlar altında Ca^{++} , hücre içinde kalmodilin ve kalsibindin gibi proteinlere bağlanarak tamponlanır. Ancak hidrojen (H^+) iyonu da aynı proteinlerle tamponlanmaktadır. Bu nedenle asidoz durumunda bağlayıcı proteinlerin daha büyük bir bölümü H^+ iyonunu tamponlayacaktır. Bu durum hücre içi serbest Ca^{++} konsantrasyonunu daha da arttıracaktır. [29,30].

SODYUM

Sodyuma bağlı hücre yaralanmasının potansiyel mekanizmaları,

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

Travmatik aksonal yaralanma, voltaj bağımlı kanallar yolu ile Na^+ girişi sonrası sodyumda bir yükselme ile ilişkilidir ve membran bağımlı Na/K ATP az disfonksiyonu ile sodyum çıkışı azalır. Na artışı Na^+/H^+ değişimi yoluyla intraselüler asidoza neden olur. Na^+/H^+ değişimi intraselüler pH' ın regülasyonunda önemli rol oynamaktadır [31].

C) Reperfüzyon

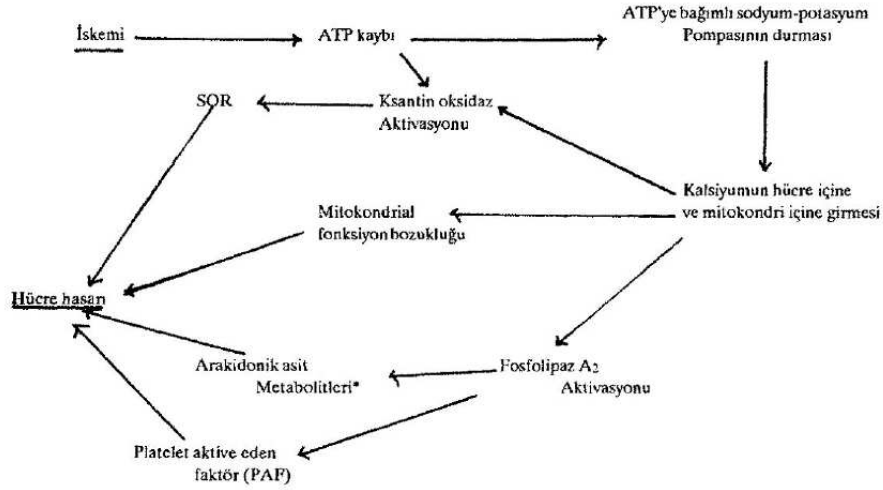
Dokulara perfüzyonunu sağlayan vasküler yapıların, bir trombüs, bir rüptür veya mekanik etkenle tıkanması sonucu dokunun beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. Doku kanlanması, ilaçlarla, mekanik basıların kaldırılması veya vasküler onarım ile yeniden sağlanıp sellüler homeostazisin yeniden restorasyonu ise reperfüzyondur [22]. Çok da masum olmayan bu durum

sırasında ortaya çıkan bazı toksik moleküller doku hasarlanmasına yol açmaktadırlar. Son yıllarda iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarında SOR' nin rolü ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, intestinal sistem ve diğer dokular üzerinde SOR' nin etkileri hakkında geniş bilgiler elde edilmesine rağmen spinal kord üzerine olan etkileri halen araştırılmaktadır.

Örneğin bazen hastanın operasyondan sonra nörolojik fonksiyonları normal iken, ilerleyen günlerde nörolojik defisit ortaya çıkabilir [32]. Bu fenomen spinal kord hasarlanmasının reperfüzyon fazında da devam ettiğini düşündürmektedir. Reperfüzyon hasarı, moleküler oksijenin toksik metabolitleri ile oluşmaktadır. Normalde oksijen, karbondioksit ve suya metabolize olur. Hipoksi sonucu, elektron transport sisteminde bozulmaya bağlı olarak reperfüzyon döneminde ani olarak artan oksijen, su ve karbondioksit yerine sitotoksik SOR' ye dönüşmeye başlar [33]. Aerobik hücrelerde oluşan en önemli sitotoksik oksijen metabolitleri, süperoksid anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve serbest hidroksil radikalidir ($OH^\cdot$); süperoksid dizmutaz (SOD), O_2^- anyonun H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Katalaz ise yine toksik bir metabolit olan H_2O_2 ' nin moleküler oksijen ve suya dönüşümünü sağlar [34]. SOR' nin, membran lipidlerinin peroksidasyonuna neden olarak membranın morfolojisini ve fonksiyonunu bozduğu düşünülmektedir [35,36]. Ayrıca glutamat toksisitesinde de serbest radikallerin ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin zararlı etkileri, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu sürecinin başlatılması, kollagen ve hiyalüronik asit gibi yapısal elementlerin parçalanması şeklindedir. Lipit peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulması, bazı kritik membran bağımlı enzim

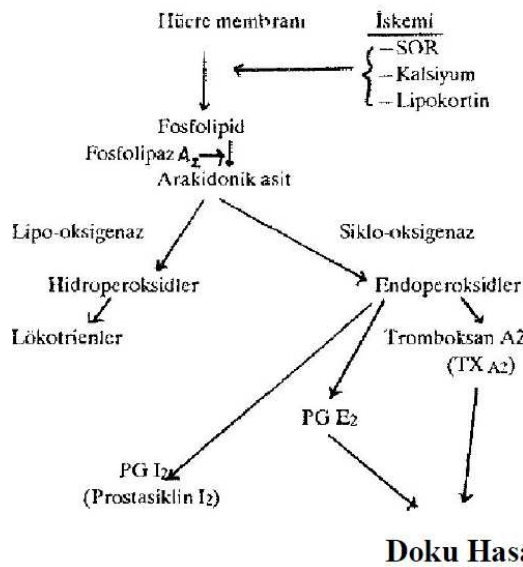
sistemlerinin inaktivasyonu ve tromboksan A2 gibi vazokonstrüktif prostaglandinlerin artmasından sorumludur [23]. Prostaglandin üretimindeki bu olağandışılık, nihayet inflamatuvar hücrelerde ve platelet agregasyonunda artışa neden olacak, ardından mikrovasküler vazospazm ve trombozisle sonuçlanacaktır. Bu olay “no-reflow fenomeni” olarak ta anılır [37]. Reperfüzyon sırasında oluşan hiperemi, permeabilite artışı ve kompartman sendromunun da, spinal kord hasarından sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir [22].

İ/R hasarının tek sorumlusu SOR değildir. Şekil 5’ te görüldüğü gibi iskemi ile birlikte Ca^{++} iyonu direkt ve indirekt olarak mekanizmaları uyararak zararlı olmaktadır [38,39]. Araşınodik asit metabolitlerinin İ/R hasarında önemli rolleri vardır. Şekil 6’ te araşidonik asit şelalesi basitleştirilerek gösterilmiştir [40]. Görüldüğü gibi tüm metabolitler zararlı etki göstermemektedir. Hatta prostasiklin I_2 ve benzerleri İ/R hasarı profilaksisinde kullanılmaktadır [38,41,42]. Prostaglandin E2 hakkındaki düşünceler çelişkilidir [39,43]. Tx A2 ise şiddetli hücre hasarı yapmaktadır. Hücre membranında mevcut bulunan fosfolipidler aktive edildiğinde başlayan kimyasal zincir tüm metabolitleri ortaya çıkarırsa da Tx A2 etkisi ağır basar. Dolayısıyla araşidonik asit şelalesinin net sonucu ne yazık ki doku hasarı yönündedir [38].



Şekil 5: İ/R hasarının oluşma mekanizmaları.

Özellikle lökosit ve trombositler bu olaylar zincirinde, kısır döngünün meydana gelmesinde önemli rol oynarlar. Araşidonik asit metabolitlerinin bir kısmı hücre hasarına sebep olurken bir kısmı sitoprotektif rol oynar. Ancak net etki hücre hasarı yönündedir.



Şekil 6: İ/R hasarında araşidonik asit metabolitlerinin rolü.

Platelet aktive eden faktör (PAF) de bağımsız bir mekanizma ile hücre hasarına sebep olur. PAF, Tx A2 gibi trombosit agregasyonu, nötrofil aktivasyonu, SOR salınımı, vasküler endotel hasarlanma ve sonucunda vazospasm yapar [44]. Sayılan bütün mekanizmalar birbirini bir kısır döngü oluşturacak şekilde uyaran mekanizmalardır. Bu mekanizmaların merkezinde lökositler, trombositler, makrofajlar bulunmaktadır [39]. Bu hücreler, ya sayılan mediyatörlerin etkisi ile aktifleşmekte ve inflamatuvar cevap ile birlikte doku hasarına sebep olmakta veya bizzat başka mediyatörler salgılayarak doku hasarını ağırlaştırmaktadırlar [43].

D) İskemide sonuç

Spinal kordaki iskemi sırasında hücre düzeyindeki enerji eksikliği, asidoza, fosfolipid, polisakkarid, protein, nükleik asit gibi makromoleküllerin sentezinin durmasına, hücre membranındaki iyon pompalarının çalışmaması sonucu hücre içi ile dışı arasındaki iyon dengesinin bozulmasına ve hipoksantin, ksantin gibi ATP yıkım ürünlerinin birikmesine neden olmaktadır. İntrasellüler kalsiyum konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikisi de şiddetle nörotoksik olan aspartat ve glutamat gibi eksitatör aminoasitlerin miktarının artmasına neden olur. Tüm bu olaylar resirkülasyon sırasında oksijen ve kan ürünlerinin yeniden gelmesiyle oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu için iskemik dokuda uygun bir ortam hazırlamaktadır. Fizyolojik koşullarda organizmadaki oksidan-antioksidan denge sınırları içinde serbest radikal üreten kaynaklar reperfüzyonda ani ve yüksek konsantrasyonda, moleküler oksijenin ortama gelmesi ile aşırı miktarda oksijen kaynaklı serbest radikal meydana

getirmektedir. Sonuç olarak, spinal kord vasküler ve parankim dokusu, iskemi ve reperfüzyonda gelişen olayların ilerleyici etkileri ile ortaya çıkan İ/R hasarına uğramaktadır.

I. 3. 1. AORTİK KROS-KLEMPLEMENİN ETKİLERİ

Tahmin edilebileceği gibi, klemp distalindeki organlarda iskemi gelişmektedir. En fazla da klempin yerine göre, karaciğer, böbrekler, barsaklar ve spinal kord etkilenmektedir. İçlerindeki iskemiye en hassas organ spinal kord olup, iskemisi ciddi sonuçlar doğurmaktadır [45,46]. Aortu klemplemeyi gerektiren aort cerrahisinde spinal kord disfonksiyonunu önleyen tam etkili ve güvenli bir koruma yönteminin varlığından söz edilemez. Bu hasarı önlemeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır ve halen yapılmaktadır. İnen aortanın klemplenmesiyle birlikte, distalde akım kesintiye uğrarken, proksimalde, venöz sisteme dahi yansıyan ani bir basınç yüksekliği gözlenir (vasküler dirençteki ani artış). Bazal şartlarda, enerji üretimi için gerekli olan oksijen ve diğer substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otheregölasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Klempleme sonrası kan akımı yetersizliğine bağılı olarak oldukça duyarlı olan nöral doku oksijen depolayamayıp rejenere olamayacağından, bir dizi reaksiyon sonrasında yaşamını yitirir. Normal ısı derecesinde, 3-4 dakikalık iskemiye takiben ATP depoları tamamen boşalır, ve yukarıda da detaylı değinildiğı üzere intrasellüler kalsiyum konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikisi de şiddetle nörotoksik eksitatör aminoasitler olan aspartat ve glutamat miktarının artmasına neden olur [23].

Spinal kan akımı, distale doğru inildikçe azalmaktadır, dolayısıyla distal lomber bölge en fazla etkilenecek alandır. Spinal kordaki iskemiye en duyarlı hücreler ise ön boynuz hücreleri olup, hasarlanmaları durumunda motor kayıp ortaya çıkar. Yapılan bir çalışmada, tavşanlarda, iki dakikalık aortik oklüzyonla tüm deneklerde paralizi geliştiğini, 16 dakika içinde kan akımı yeniden sağlandığında motor fonksiyonlardaki geriye döndüğünü, 27 dakikalık oklüzyon sonrasında ise paralizinin kalıcı olduğunu gösterilmiştir [47]. Reperfüzyonda, iskemik dokunun yeniden kanlanması ile oksijen ve enerjiye yeniden kavuşan hücrelerde iskemik hasarın azalacağı beklenir; ancak belli durumlarda bu mümkün olmaz ve aksine hasarın arttığı tespit edilir. İskemi sırasında bazı hücrelerin hasara karşı duyarlı hale gelebileceği ve reperfüzyon sırasında ortaya çıkan bazı zararlı etkenler karşısında bütünlüklerini kaybedebilecekleri ve duyarlı hale gelmiş bu hücreleri öldürebilen en olası zararlı etkenin serbest oksijen radikalleri olduğu düşünülmüştür. Bunlar endotel ve parenkimal hücrelerinden ve inflamasyon nedeniyle dokuya nüfuz etmiş nötrofillerden kaynaklanabilir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu ile membranlara zarar verebildikleri gibi, protein, DNA ve mitokondrilere de zarar verebilirler. Bunun dışında reperfüzyon içinde kalsiyumun da önemli rol oynadığı pek çok mekanizma ile hasar çok daha büyük boyutlara ulaşabilmektedir.

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

I. 3. 2. İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARININ ÖNLENMESİ VE TEDAVİSİ

Her ne kadar kardiyovasküler cerrahide teknik olarak belirgin gelişmeler görülse de özellikle torakoabdominal aort cerrahisi sonrası spinal kord iskemisine bağlı ortaya çıkan nörolojik defisitler, halen büyük bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu amaçla pek çok koruyucu strateji geliştirilmiştir, genel olarak bu stratejileri üç ana başlıkta toplamak mümkündür:

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

İskemik komplikasyonların önlenmesinde ilk adım kros-klemp zamanının kısa tutulmasıdır. Bununla birlikte cerrahi sırasında oluşabilecek olumsuz durumlar karşısında klemp zamanı uzayabilmekte, bunu da önceden kestirmek her zaman mümkün olmamaktadır. Çalışmaların çoğunda süre ile iskekiye arasında kuvvetli ilişki mevcutken [48,49,50], bazı çalışmalar krosklemp zamanı ile kord iskemisi arasında mutlak ilişki kurulamayacağını, kısa klemp süresinde bile uzun iskekiye periyodundan daha ciddi defisitler görülebileceğini belirtmişlerdir [51]. Cerrahi sırasında spinal kordun arteriyel beslenmesini idame ettirebilmek için distal aortik perfüzyon, vazodilatör ajanların intratekal kullanımı, interkostal ve lomber arterlerin klemp öncesi reimplantasyonu ve BOS basıncının azaltılması için lomber drenaj ile BOS boşaltılması gibi yöntemler rutin kullanım alanı bulmalarına rağmen, bu yöntemlerin hiçbirisi spinal kord üzerinde istenen koruyuculuğu sağlayamamaktadırlar [48,52–67].

Tek başına yukarıdaki yöntemler kullanıldığında, iskemi süresinin kısa tutulması halen en önemli teknik olmaktadır. Zorunlu olarak iskemi süresinin uzadığı, özellikle de kritik olan 30 dakikayı aştığı durumlarda farklı stratejilerin kullanılması gerekmektedir.

İkinci olarak, spinal kordu iskemiye karşı daha toleranslı kılacak yöntemler üzerinde de durulması gerekmektedir. Bu amaçla, hipotermi, anestezi ajanları, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokörleri, eksitatuar aminoasit antagonistleri ve preconditioning (iskemi öncesi spinal kordun iskemiye hazırlanması) gündeme gelmiştir [69–75]. Süre kadar önemli faktörlerden biri de iskemi sırasında metabolizma hızının düşürülmesidir. Ancak soğukta bile metabolizma tamamen durmadığı için iskemik hasar zamanla paralel olarak gelişebilmektedir. Spinal kordun iskemiye karşı toleransını artırmak için hipotermi'nin nöroprotektif etkisi geniş bir çalışma alanı yarattı. Hipotermi'nin nöroprotektif etkisinin dokunun metabolizmasını düşürüp oksijen ihtiyacını azaltmasına sekonder olduğu bilinmesine rağmen, hipotermi'nin membran stabilizasyonu ve eksitator aminoasit salınımını azaltıcı etkileri olduğu da gösterildi [69,70]. Son yıllarda çalışmalar, inferior vena kavadan retrograd yolla hipotermik solüsyon verilmesi üzerine yoğunlaşmaktadır [69,76,77]. Nörolojik defisit gelişimi açısından daha önceki çalışmalara göre daha iyi sonuçlar vermekle birlikte, diğer çalışmalarda ortaya çıkan sistemik komplikasyonların görülmemesi de bu yöntemin üstün tutmaktadır. Yapılan bir çalışmada, spinal kord iskemisi meydana getirilen köpeklere, hipotermi eşliğinde inferior vena kavadan retrograd

yolla fenitoin verilmiş ve 75 dakika gibi uzun bir iskemi süresine rağmen fenitoin kullanımının yüksek oranda nöroproteksiyon gösterdiği gözlenmiştir [78].

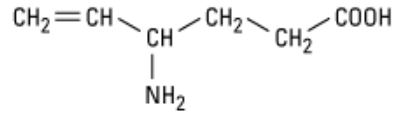
Metilprednisolon, omurilik yaralanması sonrası oluşan lipid peroksidasyonunu engeller, intrasellüler ekstrasellüler kalsiyum akımını stabilize eder, hücre enerji durumunun ve asid-baz dengesinin korunmasını destekler. Na-K ATPaz aktivitesinin tekrar oluşumunu sağlar, omurilik perfüzyonunu artırır, nörofilaman dejenerasyonunu azaltır, aksonal dejenerasyonu yavaşlatır, vazoaktif prostoglandin F2a ve tromboksan üretimini inhibe eder, akut ve kronik dönemde elektrofizyolojik iyileşmeyi ve doku korunmasını artırır. Uzun yıllardır sıklıkla kullanılan metilprednisolon üzerine yapılan yeni bazı çalışmalar neticesinde, metilprednisolonun etkili olmaması, ilaça olan güveni azaltmış ve birçok merkezde rutin kullanımdan kaldırılmıştır [79]. Reperfüzyon hasarının azaltılması amacıyla serbest radikal temizleyicileri (süperoksit dismutaz gibi enzimler, allopurinol, E vitamini, koenzim q, sistein, glutatyon, albümin, serüloplasmin, transferin vb.), immün sistem düzenleyicileri, adenosin gibi birçok ajan denenmektedir [80].

Konu ile ilgili çok sayıda yayın olmamakla birlikte PAF antagonizması gelecekte ümit vaad etmektedir [44].

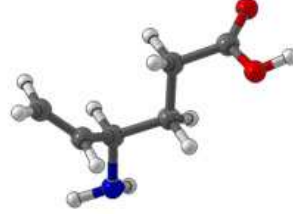
Sonuç olarak, iskemi ile karşılaşma süresi ne kadar kısa olursa iskemi-reperfüzyon hasarının şiddeti de o kadar az olmaktadır. Hasarı önlemek için çok sayıda teori üretilip birçok kimyasal madde geliştirilmiştir. Ancak bugüne kadar pek azı klinik kullanıma girebilmiştir.

I. 4. VİGABATRİN

Tanım: Gamma-vinil Gaba



Vigabatrin



FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Farmakodinamik Özellikleri

VGB çeşitli deneysel epilepsi modellerinde bir antikonvülzan olarak etkili olan bir anti-epileptik ilaçtır. Bu etki mekanizması, GABA-transaminazın (GABA-T) doza bağlı enzim inhibisyonu ve dolayısıyla inhibe edici nörotransmitter olan, GABA düzeylerinde artışa bağlanmaktadır. Kısa ve uzun süreli kontrollü klinik çalışmalar, VGB'in, konvansiyonel ilaçlara dirençli epilepsi hastalarında ek tedavi olarak ya da infantil spazmlarda monoterapi olarak verildiğinde nöbet sıklığını azalttığını göstermiştir. Etkinliği kompleks parsiyel nöbetleri olan hastalarda özellikle belirgindir.

Farmakokinetik Özellikleri

VGB suda kolaylıkla çözünür, oral alımdan sonra hızla absorbe edilir, gıdalar absorpsiyonunu etkilemez. Görünür dağılım $\square$ amcı, total vücut sıvı hacminden biraz daha fazladır. VGB plazma proteinlerine bağlanmaz. Plazma doruk konsantrasyonuna yaklaşık 2 saatte ulaşılır. Plazma eliminasyon yarılanma ömrü gençlerde 5–8 saat, yaşlılarda 12–13 saattir. Plazma ve serebral sıvıdaki konsantrasyonları verilen dozla orantılıdır. Plazma konsantrasyonu ve etkinlik

arasında bir korelasyon yoktur. Bu, VGB'in etki mekanizmasının bir sonucudur. Çünkü, VGB'in etki süresi, VGB'in plazma konsantrasyonuna bağlı olmayıp, GABA transaminaz enziminin tekrar sentezlenme hızına bağlı bulunmaktadır. VGB hepatik sitokrom P450 enzimlerini indüklemez ve yaygın olarak metabolize olmaz. Tek doz uygulamasından 24 saat sonra, dozun % 70'i idrarla değişmeden atılır.

ENDİKASYONLARI

Diğer uygun ilaç kombinasyonlarının yetersiz kaldığı veya tolere edilemediği, sekonder jeneralizasyonu olan veya olmayan dirençli parsiyel epilepsilerde anti-epileptik ilaçlara ilave olarak kullanılabilir. İnfantil spazmda (West Sendromu) monoterapi olarak kullanılabilir.

KONTRENDİKASYONLAR

Gamma-vinil-gaba ve diğer bileşenlerine alerjisi olanlara kontraendikedir.

UYARILAR/ÖNLEMLER

VGB alan hastaların yaklaşık üçte birinde görme alanı kusuru olduğu bildirilmiştir. Bu risk kadınlara kıyasla erkeklerde daha yüksektir. Var olan verilere göre, görme her iki nazal bölgeden bilateral olarak azalmaktadır. Merkezi görsel keskinlikte bozulma olmamaktadır. Bozukluğu görsel alan ölçümü ile doğrulanmış hastaların çoğu (görsel alan ölçümünde şiddetli bozukluk gözlenenler dahi), kendiliğinden daha önce semptomlarının farkına varmamışlardır. Bu

nedenle, bu istenmeyen etki sadece sistematik perimetri testleriyle güvenilir olarak tespit edilebilir. Bu testleri ancak 9 yaşın üzerindeki hastalarda uygulamak mümkündür.

Mevcut bulgular tedavi kesildikten sonra bile devam edebildiğini düşündürmektedir. Görme alanı kusuru birkaç ay ila birkaç yıl VGB tedavisinden sonra başlayabilir. Klinik araştırmalara katılan bireylerin sistematik olarak taranmasından bugüne kadar elde edilen veriler, eğer bir hastada 3 ila 4 yıllık tedaviden sonra kusur gelişmemişse, VGB tedavisine devam edilmesiyle görme alanı kusurları gelişme riskinin düşük olduğunu göstermektedir.

VGB retinaya zarar verecek başka ilaçlar ile beraber kullanılmamalıdır.

Mevcut verilere dayanarak, görme alanı kusurları retinada artmış GABA düzeylerinden kaynaklanmaktadır.

Önceden var olan ve klinik olarak anlamlı görme alanı kusuru olan hastalarda VGB kullanımı önerilmez. VGB tedavisine başlanmadan önce hastaların tümüne görsel alan muayenesiyle birlikte oftalmolojik konsültasyon yapılmalıdır.

Mümkünse tedaviye başlanmadan önce ve altı aylık takiplerle uygun bir görsel alan testi (perimetri) uygulanmalıdır. Standart statik perimetri (Humphrey veya Octopus) veya kinetik perimetri (Goldmann) testleri kullanılabilir. Statik perimetrinin, VGBe bağlı görsel alan bozukluklarının belirlenmesinde daha etkin bir yöntem olduğu belirlenmiştir.

Takip döneminde görsel alanda daralma ortaya çıkarsa VGB tedavisinin devam etmesi ya da kesilmesine ilişkin karar bireysel yarar-risk

değerlendirmesine dayanmalıdır. Tedavinin sürdürülmesine karar verilecek olursa, ilerlemenin veya görüşü tehdit edecek bozuklukların tespit edilebilmesi için daha sıkı bir takip (perimetri) uygulanmalıdır.

Görme alanı muayenesi, akıl yaşı 9'un altında olan çocuklar için nadiren mümkündür. Çocuklarda, tedavinin taşıdığı risk kazanımlara oranla çok dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir. Şu anda, standart perimetrenin uygulanmadığı çocuklarda görme alanındaki bozuklukları tanıyabilecek ya da dışlanmasını sağlayabilecek yerleşik bir yöntem yoktur. Üç yaşındaki ve daha büyük çocukların periferik görmesini değerlendirmek için, görme alanının spesifik görsel olarak uyarılmış potansiyellerine (VEP) dayanan özel bir yöntem istek üzerine laboratuvarında uygulanabilir. Bu yöntem şimdiye değin VGB'e bağlı görme alanı bozukluklarının tespitinde kullanılmamıştır. Yöntem, santral görme alanından normal bir yanıt ve periferik yanıt yokluğunu gösterirse, VGB'in yararları ve riski yeniden değerlendirilerek tedavinin progresif olarak kesilmesi düşünülmelidir. Periferik görmenin varlığı, yine de görme alanı kusurunun ortaya çıkma olasılığını ortadan kaldırmamaktadır. Elektoretinografi yararlı olabilir, ancak 3 yaşın altındaki çocuklarda uygulanmamalıdır.

VGB, öyküsünde psikoz, depresyon veya davranış problemleri bulunan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. VGB tedavisi sırasında ajitasyon, depresyon, anormal düşünme, paranoyak reaksiyonlar gibi psikiyatrik bozukluklar görülmüştür. Bu tür bozukluklar psikiyatrik öyküsü olan ya da olmayan hastalarda ortaya çıkabilmekte ve genellikle VGB dozunun azaltılmasıyla veya kademeli olarak kesilmesiyle eski haline dönebilmektedir. Klinik çalışmalarda, depresyon

hastaların % 10'undan azında meydana gelmiş ve nadiren VGB tedavisinin kesilmesini gerektirmiştir. Daha az sıklıkta görülen olaylar psikotik semptomları içermiştir.

VGB tedavisine başlandıktan hemen sonra, elektroensefalogram üzerinde spesifik olmayan ağır dalga aktivitesi ile bağlantılı olarak, ender olmakla birlikte belirgin uyuşukluk, sersemlik, şaşkınlık gibi ensefalopatik semptomlar görülmüştür. Bu reaksiyonlara neden olan risk faktörleri arasında, başlangıç dozunun önerilen başlangıç dozundan daha yüksek olması, dozun önerilenden daha hızlı artırılması ve böbrek yetmezliği yer almaktadır. Bu etkiler, dozun azaltılmasıyla veya VGB'in kesilmesiyle ortadan kalkmıştır Diğer antiepileptik ilaçlarda olduğu gibi, VGB bazı hastalarda VGB ile status epilepticus'u da içeren nöbet sıklığında artışa veya yeni nöbet şekillerinin ortaya çıkmasına neden olabilir. Nadir vakalarda yeni başlayan miyoklonus ya da myoklonusun alevlenmeleri görülebilir.

Tablo 2: VGB'in yan etki profili ve sıklığı

Bozuklukların sıklığı ve cinsi:

Çok sık (> 1/10):

- genel durum: somnolans, yorgunluk;
- psikiyatrik bozukluklar: eksitasyon ve ajitasyon (çocuklar);
- göz bulguları: görme alanı anomalisi.

Sık (> 1/100, < 1/10):

- genel durum: baş ağrıları, kilo artışı, titremeler, ödem;
- nörolojik bulgular: baş dönmesi, paresteziler, mental konsantrasyon ve hafıza bozuklukları;
- psikiyatrik bozukluklar*: ajitasyon, saldırganlık, sinirlilik, irritabilite, depresyon, düşünce bozuklukları, paranoid reaksiyon;
- gastrointestinal bulgular: bulantı, karın ağrısı;
- göz bulguları: görme bozukluğu, diplopi, nistagmus.

Düşük sıklıkta (> 1/100, < 1/100):

- nörolojik bulgular: ataksi;
- psikiyatrik bozukluklar*: hipomani, mani, psikoz, halüsinasyon;
- deri bulguları: döküntüler.

Nadir (< 1/1000):

- genel durum: Quincke ödemi, ürtiker;
- nörolojik bulgular: ensefalopatik semptomlar**;
- psikiyatrik bozukluklar: intihar girişimi;
- göz bulguları: retinal bozukluklar (örneğin periferik retina atrofisi).

Çok nadir (< 1/10.000):

- göz bulguları: optik nörit, optik sinir atrofisi, bilateral optik disk pallor.

Diğer antiepileptik ilaçlarda olduğu gibi, tedavinin aniden kesilmesi rebound etkiye (nöbetlerin tekrar başlamasına) neden olabilir. Eğer hastanın VGB tedavisi sonlandırılacaksa bu azaltılarak yapılmalı ve dikkatli olunmalıdır.

VGB böbrekler yoluyla atıldığından, yaşlılarda ve özellikle kreatinin klerensi 60ml/dakikadan az olan hastalarda dikkatli olunmalıdır. Böbrek fonksiyonu normal veya azalmış olan yaşlı hastalarda klerensin azalmış olmasından dolayı benzer önlemlerin alınması gereklidir. Hastalar sedasyon veya konfüzyon gibi istenmeyen etkiler açısından izlenmelidirler.

YAN ETKİLER:

VGB ile tedavi edilen hastalarda sıklıkla hafiften şiddetli arasında değişen görme alanı bozuklukları bildirilmiştir. Bu bozukluklar VGB tedavisinden aylar, hatta yıllar sonra ortaya çıkabilir. Kontrollü klinik araştırmalarda, VGB tedavisi sırasında hastaların yaklaşık %50'sinde istenmeyen etki ortaya çıkmıştır. Erişkinlerdeki başlıca istenmeyen etkiler merkezi sinir sistemiyle ilişkilidir ve sedasyon, somnolans, yorgunluk ve konsantrasyon bozuklukları türündedir. Buna karşılık, çocuklarda eksitasyon veya ajitasyon olguları sık görülmektedir. Bu istenmeyen etkilerin sıklığı genellikle tedavinin başlangıcında daha fazladır ve sonraları azalır.

Miyoklonik krizleri olan hastalar bu etkiye karşı özellikle duyarlıdır. Nadir olgularda bir miyokloninin ortaya çıkışı veya daha önceden var olan bir miyokloninin kötüleşmesi gözlenmiştir.

KULLANIM ŞEKLİ VE DOZU

Yetişkinlerde:

VGB oral yolla, günde bir veya iki kez yemeklerden önce veya sonra alınabilir.

Başlangıç dozu olarak günde 1gr, sürdürülmekte olan tedaviye ilave olarak verilir. Eğer gerekirse, günlük doz, klinik cevap ve toleransa göre haftalık aralıklarla 0.5 g. lık miktarlarda artırılır veya azaltılır. Maksimum etkinlik genellikle günlük 2-3 g lık dozlarda görülür. 3 g/gün üzerindeki dozlar yalnızca istisnai durumlarda yan etkiler yakından izlenerek kullanılmalıdır.

Çocuklarda:

Önerilen başkangıç dozu 40mg/kg/gündür. İdame dozu olarak aşağıdaki dozlar önerilir;

Vücut ağırlığı Dozaj

10-15 kg 0.5- 1 g/gün

15-30 kg 1 -1.5 g/gün

30-50 kg 1.5-3 g/gün

> 50 kg 2 -3 g / gün

3 g/gün üzerindeki dozlar yalnızca istisnai durumlarda yan etkiler yakından izlenerek kullanılmalıdır.

İnfantil spazmı olan (West sendromu) bebeklerde monoterapi için önerilen başlangıç dozu **50 mg/kg/gün**'dür. Bu doz klinik cevaba göre, günlük 50 mg/kg miktarlık değişimlerle ayarlanır. Günde **150mg/kg**'a kadar olan doz iyi tolere

edilmiştir. Cevap genellikle iki hafta içinde alınır. Az sayıda hastada daha yüksek dozlar kullanılmıştır.

Yaşlılar:

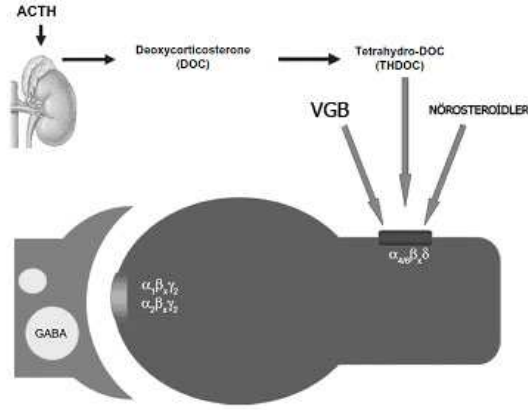
Böbrek yoluyla atıldığı için böbrek yetmezliğinde kullanımında dikkatli olunmalıdır.

VGB'in Etkileri

VGB gamma amino bütirik asit transaminazın (GABA-T) irreversibl inhibitörüdür. Dokuda GABA konsantrasyonunu arttırarak epilepsi eşiğini yükseltmek için tasarlanmıştır. İlacın etkisinin azalması yarılanma ömründen çok irreversibl bağlanması nedeniyle yeni GABA-T sentezlenmesi ile mümkün olabilmektedir. Bu düşük dozlarda bile etkin olabilmesini sağlamaktadır. Tek doz ile bile GABA seviyelerinin 24 saat yüksek olabileceği saptanmıştır. İlaç ilk olarak İngiltere’de ve İrlanda’da 1989’da lisans almış olup, 1990’ların sonunda yaklaşık 40 ülkede kullanıma girmiştir. Hastalarda gelişen görme alanı defektleri, ve hayvan deneylerinde saptanan beyaz cevher toksisitesi nedeniyle uzunca süre Amerikan Yemek ve İlaç Yönetim Kurulundan (FDA) lisans alamayan ilaç 2009’da nihayet bebekte kullanım için infantil spazm tanısıyla ve erişkinde kullanım için kompleks parsiyel epilepsi tanısıyla FDA tarafından lisanslandırılmıştır. Ve şu an Amerika’da infantil spazm için lisanslı tek ilaçtır [81].

İlacın tanımlı iki kullanım endikasyonu vardır: Epilepsi, infantil spazm (WEST sendromu). İnfantil spazm, ilk bir yaş epilepsilerinin yaklaşık %50’sini

içeren yönetimi zor, ilaca dirençli tipik epileptik nöbetleri içeren bir sendromdur ve çoğunlukla mental retardasyon ile seyreder. Doğum öncesi ilaç kullanımı, çeşitli kromozomal bozukluklar (Xp.22,3) ve doğumda oluşan fetal distres, ve/veya intraserebral kanama bu sendroma neden olabilir. İnsidansı 1000 canlı doğumda 0,25–0,42 civarında olan bu hastalık yenidoğanın nörolojik hastalıkları düşünüldüğünde önemli bir sağlık problemidir. ACTH bu hastalıktaki en eski kullanılan ilaçtır ancak son zamanlarda yerini VGB’e bırakmıştır [81] (Şekil 7).



Şekil 7: İnfantil spazm’da VGB’in etki şeması [81].

Epilepsi de ve infantil spazm’da tedavideki amaç nöronal düzeyde GABA seviyelerini arttırmaktır. **GABA-T inhibisyonu hem GABA seviyelerini artırırken aynı zamanda glutamatın yapımında önemli rola sahip olan alfa-ketoglutaratın yapımını da azaltmaktadır** (Şekil 2). Farede yapılan bir çalışmada 1500 mg/kg tek doz uygulanan VGB sonrasında 4 saat içinde GABA sevipleri kontrol grubuna kıyasla %650 artmışken, eksitator amino asitler olan glutamat ve aspartat’ın seviyeleri ise kontrol grubunun %80’inde kalmıştır [81]. VGB’in major inhibitör mediyatör olan GABA’yı artırıp, major eksitator mediyatör olan

glutamat'ı azaltması VGB'in iskemik nöroproteksiyonda kullanılıp kullanılamayacağını düşündürmüş ve bununla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Aslında epileptik atak anında özellikle status epileptikustaki nöronal hasar daha önce ortaya konmuş ve hipoksemiye sekonder olduğu düşünülmüş, bundan yola çıkarak antiepileptik ilaçların nöroproteksiyona etkisi araştırılmıştı [82]. Bu çalışmalardan birine göre VGB'in iskemide ve epileptik atakta nöroprotektif etkinliği varken özellikle yüksek doz ve kronik uygulanımında diğer antiepileptiklerde olduğu gibi nörodejenerasyonu indüklediği ortaya çıkmaktaydı [82].

Bu çalışmalar dışında VGB'in'in serebral nöroproteksiyondaki etkinliği için pek çok çalışma yapılmış ve bir kısmı etkinliğini gösterirken, bir kısmı ise etkinliğini tam olarak ispatlayamamıştır. Bu konu ile ilgili pek çok açıklama yapılmakla birlikte VGB'in hücrel ve moleküler aktivitesi ile ilgili halen net bilgiye sahip değiliz. Bu konu ile ilgili pek çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Tezimde diğer santral sinir sistemi ögeleriyle kıyaslandığında iskemi reperfüzyon hasarında benzer patofizyolojik değişiklikler gösteren spinal kordu ele alarak İ/R modelinde VGB'in etkilerini incelemek istedim. Daha önce benzeri, VGB için çalışılmamış olan bu deney modelinin VGB'in etki mekanizmasına ışık tutmasını umut ediyorum.

GEREÇLER VE YÖNTEM

II. 1. DENEY GRUBU

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Deneysel Araştırma Merkezinde yapıldı. Toplam 24 adet, ortalama ağırlığı 2,5 ile 3,0 kg olan erkek sağlıklı Yeni Zellenda türü beyaz tavşan, n=6 olacak şekilde 4 grup oluşturulmak üzere Gazi Üniversitesi deney hayvanları etik kurulundan alınan onayla denek olarak seçildi.

Grup 1 - Kontrol (n=6): Sadece abdominal cerrahiye maruz kalan grup, Grup 2- İskemi-Reperfüzyon (İ/R) (n=6): Tedavi yapılmayan post-iskemik spinal kord grubu, Grup 3- Düşük Doz Tedavi (dT) (n=6): 50mg/kg VGB verilen post-iskemik spinal kord grubu, Grup 4- Yüksek Doz Tedavi (yT) (n=6): 150mg/kg VGB verilen post-iskemik spinal kord grubu. Kontrol grubu deneklere normal cerrahi prosedür uygulanırken klemp uygulanmadı. İ/R ve tedavi gruplarına cerrahi prosedür ve klemp uygulandı. Aortik oklüzyon için 50gr kapanma basıncı olan anevrizma klipleri kullanıldı (YAŞARGİL FE 693). Denekler cerrahi takiben yaklaşık iki saat süren anesteziden uyanma periyodu sonrası normal olarak beslenmelerine izin verildi. Nörojenik mesane gelişen deneklere günde en az iki kez crede manevrası uygulanarak mesanelerinin boşaltılması sağlandı. Mesanesi crede manevrası ile boşaltılmayan deneklere silikon lumboperitoneal shunt kateterinden hazırlanan sondalarla trans üretral boşaltma uygulandı. Deneklerin kan ve doku örnekleri cerrahi prosedürü takiben 48 saatlik takip sonrasında alındı.

II. 2. ANESTEZİ VE MONİTORİZASYON

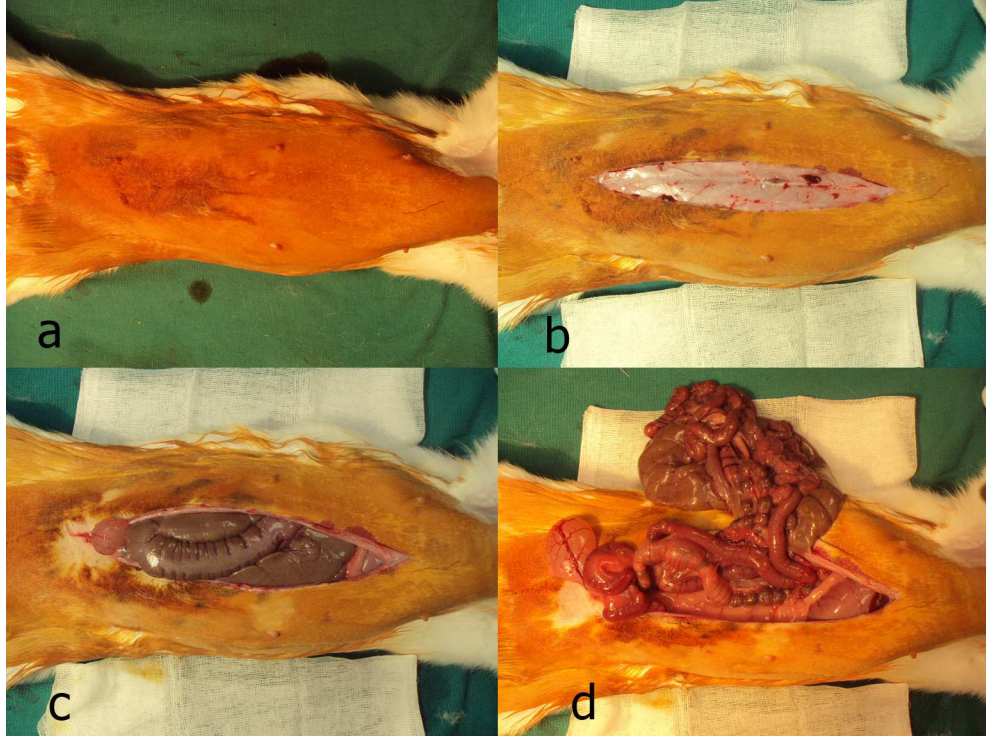
Tüm deneklerde anestezi, ketamin HCL 50mg / kg ve xylazin 5mg / kg ile intramusküler olarak uygulandı. Gerektiğinde doz ketamin 25 (mg/kg) ve xylazin (5 mg/kg) kokteyli olarak tekrarlandı. Anestezi süresince denekler solunum desteğine ihtiyaç duymadan spontan solunumda izlendiler.

II. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizlerde SPSS for Windows Version 15.0 programı kullanıldı. Sayısal değişkenler ortalama±standart sapma ve ortanca [minimum-maksimum] ile gösterildi. Gruplar arası farklılıklar, gözlem sayısının azlığı nedeniyle, Kruskal Wallis Varyans testi ile değerlendirildi. Kruskal Wallis Varyans testi ile gruplar arasında farklılık bulunması durumunda, ikili karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U-testi ile yapıldı. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0.05$ olarak belirlendi. Bonferroni düzeltmesinin yapıldığı durumlarda anlamlılık düzeyi $0.05/6=0.008$ olarak alındı.

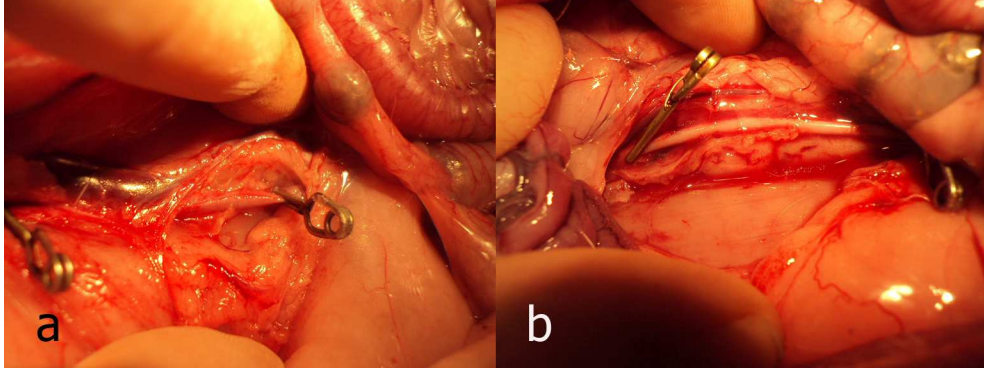
II. 4. CERRAHİ TEKNİK

Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonunda steril sahada operasyona alındı. Batın traş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfeksiyon sonrası steril örtüler örtülüp orta hat laparotomi yapıldı. Bağırsaklar sağa devrilip retroperitoneal bölgeye ulaşıldı (Resim 8).



Resim 8: Tavşan orta hat laparotomi fotoğrafları; sağ kranial, sol kaudal taraf: a) karın ön duvarı povidon iyot solüsyonu ile temizlenmesi, b) orta hat cilt insizyonu, c) linea alba ve peritonun açılıp abdomine girilmesi, d) bağırsakların sağa devrilmesi.

Cerrahi mikroskop altında mikrocerrahi yöntemle abdominal aorta, sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm inferiora ve bifurkasyondan yaklaşık 1 cm superioruna doğru çevre dokulardan diseke edilerek çepeçevre dönüldü. Aort oklüzyonundan 5 dk. önce intravenöz uygulanan 150 U/kg heparin ile antikoagülasyon sağlandı. Kontrol grubu dışındaki deneklere, distale ve proksimale aortik klemp uygulandı (Resim 9).



Resim 9: Aorta klipaj ; a) sol renal arter çıkışının distaline klip uygulaması, b) iliak arter bifürkasyonunun 1cm proksimaline klip uygulanması.

30 dk. sonra İ/R, dT ve yT gruplarının klemleri kaldırıldı, distal aortada pulsatil basınç yeniden görüldü. dT grubuna 50mg/kg, yT grubuna 150 mg/kg dozunda VGB %0.9 NaCl solüsyonu ile karıştırılarak intraperitoneal olarak verildi ve dozlar 24. ve 48. saatlerde tekrarlandı. Kanama kontrolünü takiben batın kasları ve cilt iki kat olarak 3/0 ipek sütür materyali ile kapatıldı.

II. 5. FİZYOLOJİK PARAMETRELER

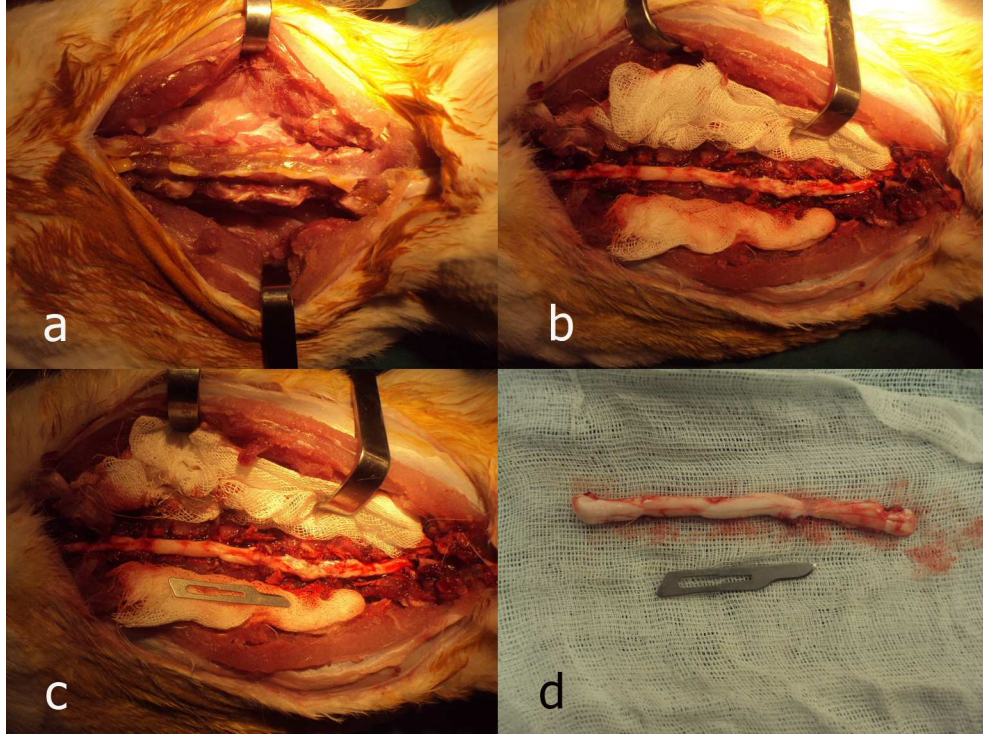
Nörolojik değerlendirme, reperfüzyonu izleyen 6. 24. ve 48. saatlerde arka bacakların motor fonksiyonları, uygulanan tedaviyi bilmeyen bir araştırmacı tarafından, Tarlov kriterlerine göre [83] değerlendirildi.

TARLOV SKALASI:

- 0: alt ekstremitelerde hareket yok (tam parapleji)
- 1: hafif hareket
- 2: yardımla oturabiliyor
- 3: tek başına oturabiliyor
- 4: yürüyebiliyor ancak normal değil
- 5: normal yürüyebiliyor

II. 6. DOKU ve KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Reperfüzyon sonrası 48. saatte yüksek doz tiyopental (120 mg/kg intraperitoneal) anestezisi altında önce batına eski insizyonda girildi ve vena kava inferior bulunarak 10 cc kan örneği alındı. Sonra prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adeleler laterallere sıyrıldı ve torakolomber bileşkeden sakral segmente kadar total laminektomi yapılarak tüm posterior vertebral elemanlar çıkarıldı. Sonra rootlar kesildi ve spinal kord aynı sınırlardan (L2-S1) kesilerek çıkartıldı (Resim 10). Çıkarılan kord bistüri ile L5 düzeyinden transvers olarak kesilerek iki parçaya bölündü. L2-L5 kord segmenti biyokimyasal inceleme için alimünyum folyoya sarılıp kodlandıktan sonra sıvı azot içine atıldı. L5-S1 segmenti ise sakral kısmı 5/0 ipek iplik ile bağlanmak suretiyle işaretlendikten sonra histopatolojik inceleme için %10'luk fosfat ile tamponlanmış formaldehit solüsyonuna konuldu.



Resim 10: Lumbosakral kordun çıkarılması: a) Dorsal orta hat insizyon ve fasia açılımı sonrasında paravertebral kasların diseksiyonu, b,c) L2-S1 total laminektomi sahasında spinal kord izlenmekte, d) eksize edilmiş lumbosakral spinal kord

II. 7. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Doku Takibi ve Hematoksilen-Eozin Boyama

Medulla spinalis segmentleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 72 saat süreyle tespit edildi. Akar suda 1 gece yıkanan dokular artan etil alkol gradiyent serilerinden geçirilerek sedir yağında şeffaflandırıldılar. Ardından ksilol ve parafin serilerinden geçirilen dokular parafin blok haline getirildiler. Elde edilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoksilen eozin ile boyandı. Kesitler mikroskop altında değişik büyültmelerde incelenerek değerlendirildi.

Her gruba ait kesitlerde ön boynuzda bulunan randomize seçilen 10 nöron değerlendirilmeye alındı.

Değerlendirmede;

Nöronlar: Medulla spinalis ön boynuza ait substansia grisea da bulunan multipolar özellikte, bazofilik sitoplazmalı, Nissl cisimcikleri içeren, ökromatik çekirdekli nöronlar normal yapılı nöronlar olarak değerlendirildi. Medulla spinalis ön boynuzuna ait substansia grisea da bulunan multipolar özelliğini yitirmiş, genellikle triangular şekilli, Nissl cisimciklerini yitirmiş, eozinofilik sitoplazmalı nöronlar ise hasarlı nöron olarak değerlendirildi.

Aksonlar: Medulla spinalis substansia albasında yer alan, myelin kılıfla çerelenmiş aksonlar incelendi. İskemik hasar sonucu akson yapısında meydana gelen dejenerasyon, şişme ve vakuolizasyon, şiddet ve yoğunluklarına göre derecelendirdi. Buna göre;

G-0: Normal akson yapısı

G-1: Aksonlarda orta dereceli şişme ve vakuolizasyon

G-2: Aksonlarda ileri derecede şişme, dejenerasyon ve vakuolizasyon 38

Olmak üzere üç grupta değerlendirildi.

Astrosit ve mikrogliyal hücre infiltrasyonu hücre yoğunluğuna göre değerlendirildi.

Yoğunluğun derecesi +1, +2, +3, +4 olarak gösterildi.

Tüm değerlendirme bulguları birleştirilerek spinal korddaki hasar 3 grade de değerlendirildi.

Grade 1: Normal histolojik görünüm

Grade 2: Orta derecede hasar

Grade 3: İleri derecede hasar

II. 8. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Kullanılan Aletler

- Homojenizatör (Virtis-Virtishear, The virtis Company, INC. USA)
- Hassas terazi (Schimadzu, Libror AEG 220)
- Santrifüj (Damon IEC, B-20A Hermle Z 323 K, soğutmalı Germany)
- Spektrofotometre BİOKIT EL X 800 Bioelisa Reader
- Spektrofotometre (Schimadzu UV 1601)
- Vortex (Heidolph Reax 2000)
- Benmari (Heto Maxi-Shake)
- Derin dondurucu (Sanyo CFC Free Japan)
- pH-metre (Nel Elektronik) (Nel)
- Santrifüj (Hermle Z 380 K)

Kullanılan Kimyasal Maddeler

EDTA, asetik asit, TCA, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , Na_2CO_3 , CuCl_2 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaOH , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, HCl , NaK tartarat, tris, etanol, kloroform Merck firmasından sağlandı.

5,5' ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), sığır serum albumin (BSA), ksantin, ksantin oksidaz, tiyobarbitürik asit (TBA), Na₂HPO₄.2H₂O, KI, nitroblue tetrazolium (NBT), sodyum sitrat, Kloramin T, Folin Ciocalteu fenol reaktifi Sigma firmasından sağlandı.

Yöntemlerin Uygulanması

Spinal Kord Dokusu TBARS Düzeyinin Ölçülmesi

Spinal kord dokusunda lipid peroksidasyon düzeyi tiyobarbitürik asit reaktif madde oluşumu yöntemi ile çalışıldı [84]. Doku örnekleri homojenizatör ile soğuk trikloroasetik asit (TCA) (1 g doku + 9 ml % 10'luk TCA) içinde buzlu ortamda homojenize edildi. Daha sonra 15 dakika süreyle 4,000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant alınarak 4,000 rpm'de 8 dakika tekrar santrifüj edildi. Örnekten 750 µl alınarak üzerine 750 µl % 0,67'lik tiobarbitürük asit (TBA) eklendi. Daha sonra örnekler 100°C'de kaynayan su banyosunda 15 dakika bekletildi. Daha sonra soğutularak 4,000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant alınarak her bir örneğin absorbansı 532 nm'de tayin edildi. Spinal kord lipid peroksidasyon düzeyi $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ katsayısı kullanılarak malondialdehit (MDA) eşdeğeri olarak ifade edildi.

Spinal Kord Dokusu Glutatyon Düzeyinin Ölçülmesi

Spinal kord dokusunda glutatyon (GSH) tayini için modifiye Ellman yöntemi kullanıldı [85]. Lipid peroksidasyonunda anlatıldığı şekilde spinal kord

dokuları homojenize edilip santrifüj edildikten sonra, 2 hacim süpernatant, 8 hacim 0,3 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 1 hacim ditiyobisnitrobenzoat (0,4 mg/ml % 1'lik sodyum sitrat) çözeltisi ile karıştırıldı. Örnekler oda ısısında 5-10 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra spektrofotometrede karışımın 412 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü ve glutatyon düzeyleri $13,600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ katsayısı kullanılarak hesaplandı.

Spinal Kord Dokusu Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçülmesi

SOD enzim aktivitesi Sun ve ark.'nın modifiye ettiği spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür [86]. Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium (NBT)' un süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafında indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Süperoksit dismutaz aktivitesi ünite/mg doku proteini olarak ifade edildi.

Reaktifler

- 3mmol/L stok ksantin çözeltisi
- 0,6 mol/L EDTA
- 150 mmol/L NBT (nitroblue tetrazolium)
- 400 mmol/L Na_2CO_3
- 1 g/L BSA (sığır serum albumini)
- 0,8 mmol/L CuCl_2
- 2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- Ksantin oksidaz 16,66 Ü/ml

Deneyin Yapılışı

Distile su ile %10 (w/v) homojenize edilen doku 5,000xg'de 30 dakika +4°C' de santrifüj edilip süpernatant alındı. 500 µl kloroform etanol çözeltisi üzerine süpernatandan 500 µl eklenip, vortekslendi. Daha sonra 5,000xg'de 2 saat +4°C'de 42 santrifüj edilip süpernatant alındı. Reaktif karışımı hazırlandıktan sonra, 100 µl süpernatant 2,85 µl reaktif karışımı ve 50 µl ksantin oksidaz enzim çözeltisi eklendikten sonra karışım vortekslendi. Oda sıcaklığında (25°C) 20 dakika inkübasyondan sonra üzerine 1 ml CuCl₂ eklenerek 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapıldı.

% inhibisyon= $\frac{\text{Kör Absorbansı} - \text{Numune Absorbansı}}{\text{Kör Absorbansı}} \times 100$ Kör Absorbansı % 50 inhibisyonu 1 Ü aktivitenin sağladığı düşünülerek hesaplandı. Süpernatandan da Lowry metodu ile protein tayini yapılarak süperoksit dismutaz aktivitesi Ü/mg protein olarak verildi.

Lowry Protein Tayini

Doku protein düzeyleri sığır serum albumini (BSA)'nın standart olarak kullanıldığı Lowry yöntemine göre ölçüldü [87].

Reaktifler

- BSA (sığır serum albumini): 1 mg/ml
- Alkalen reaktif: 0,1 N NaOH içinde % 2'lik Na₂CO₃:32 kısım

NaK tartarat: % 2: 1 kısım

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: % 1: 1 kısım

●Folin Ciocalteu fenol reaktifi: 1/1 oranında distile su ile seyreltilir.

Deneyin Yapılışı

Her bir numune tüpüne 20 µl süpernatant, 80 µl distile su, 2 ml alkalin reaktif eklenip, karıştırıldı. Tüpler oda ısısında, karanlıkta 15 dakika inkübe edildikten sonra, 0,2 ml Folin Ciocalteu's fenol reaktifi eklenip, karıştırıldı. Tüpler oda ısısında, karanlıkta 1 saat inkübe edildi. 750 nm'de köre karşı absorbans ölçüldü. BSA'nın ölçülen absorbansı, standart olarak kullanıldı.

Hesaplama

Protein Miktarı= (Numune absorbansı/Standart absorbansı) x Standart Konsantrasyonu

Sonuçlar mg/ml cinsinden verilir.

Plazma SOD Aktivitesinin Ölçülmesi

500 µl kloroform etanol çözeltisi üzerine 500 µl plazma eklenip, vortekslendi. Daha sonra 5,000xg'de 2 saat +4°C'de santrifüj edilip süpernatant alındı. Reaktif karışımı hazırlandıktan sonra, 100 µl süpernatant 2,85 µl reaktif karışımı ve 50 µl ksantin oksidaz enzim çözeltisi eklendikten sonra karışım vortekslendi. Oda sıcaklığında (25°C) 20 dakika inkübasyondan sonra üzerine 1

ml CuCl_2 eklenerek 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapıldı [86].

Süperoksit dismutaz aktivitesi Ü/ml olarak verildi.

Spinal Kord Dokusu AOPP Düzeyinin Ölçülmesi

Doku AOPP (ileri düzey oksidasyon protein ürünleri) Witko-Sarsat ve ark.'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür .

Reaktifler

- 20 mM Tris-HCl (pH=7,4)
- 20 mM PBS (fosfat tampon solüsyonu, pH=7,4)
- 1,16 M KI (potasyum iyodür)
- Asetik asit % 100
- Kloramin T (0–100 μM arasındaki konsantrasyonlarda standart

olarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

20 mM Tris-HCl (pH=7,4) ile % 20 (w/v) homojenize edilen doku $5.000\times g$ 'de 10 dakika $+4^\circ\text{C}$ 'de santrifüj edilip süpernatant alındı. 200 μl süpernatant 1:5 oranında PBS ile dilue edildi. Üzerine 10 μl KI ve 20 μl asetik asit eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm absorbandsa PBS'ye karşı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. 0-100 μM Kloramin T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak, süpernatandan da Lowry

metodu ile protein tayini yapılarak [87] AOPP düzeyi nmol/mg protein olarak verildi [88].

Plazma AOPP Düzeyinin Ölçülmesi

200 µl plazma 1:5 oranında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile dilue edildi. Üzerine 10 µl KI ve 20 µl asetik asit eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm absorbansda PBS'ye karşı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. 0-100 µM Kloramin T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak, µmol/L olarak verildi [88].

Spinal Kord Dokusu ve Plazmada Nitrik Oksit Düzeyinin Ölçülmesi Doku ve plazma NO' un göstergesi olarak nitrit+nitrat (NO) düzeyleri tayininde modifiye Griess yöntemi kullanıldı [89,90].

Plazmaların Hazırlanması

Plazma örneklerini deproteinize edilmek üzere; 0,25 ml plazma üzerine 0,25 ml 0,3 M NaOH eklenerek oda ısısında 5 dakika inkübe edildi. Üzerine 0,25 ml % 10'luk ZnSO₄ konularak vorteks ile karıştırıldı. Karışım +4°C 14,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Alınan süpernatantlar tekrar +4°C 14,000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

Dokuların Hazırlanması

Spinal kord dokusunda NO miktarı Griess metodu ile çalışıldı. Bunun için alınan doku beş katı hacimde PBS eklenerek homojenize edildi. PBS Çözeltisi için; 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,92 g (Na_2HPO_4 , 0,2 g KH_2PO_4 ; 1 lt suda çözöldü, pH=7,4 olacak şekilde ayarlandı). 2.000 RCF' de +4°C'de 5 dakika santrifüj edildi. Sonra üzerine 250 µl 0,3 N NaOH ilave edilerek oda ısısında 5 dakika inkübasyona bırakıldı. 250 45 µl % 10'luk ZnSO_4 ilave edilip, vortekslendi. 3,000 RCF'de +4°C'de 20 dakika santrifüj edildi. 500 µl süpernatant 14,000 rpm'de +4°C'de 5 dakika santrifüj edildi. Plazma ve spinal kord dokusunda NO miktarını belirlemek için, 1 birim VaCl_3 (400 mg VaCl_3 tartılır, 1 M HCl çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanarak karıştırılır). 0,5 birim sülfanilamid (2 gr Sülfanilamid tartılır, 100 ml olacak şekilde % 5'lik HCl çözeltisinde çözölür) 0,5 birim N-(1-Naphthyl) Ethyl-Enediamine (NEED) karışımı (100 mg NEED tartıldı, 100 ml olacak şekilde deiyonize su içerisinde çözöldü) karıştırılıp, 37°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra Elisa okuyucuda 540 nm dalga boyunda okundu. NO miktarı hazırlanan standart çözeltiye göre hesaplandı.

Plazmada Sülfidril Bileşiklerinin Düzeyinin Ölçümü

500 µl plazma alındı. 1000 µl Tris/Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) / NaDS (Na dedusülfat) eklenip vorteks ile karıştırıldı. 3 dakika oda ısısında bekletildikten sonra 3 dakika 10,000xg'de santrifüj edildi. Süpernatant alındı. 40 µl ditiyonitrobenzoik asit (DTNB) eklendi. 20 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Elisa okuyucuda 405 nm dalga boyunda okundu [91] ($\text{abs}-0.756$)/ 0.0136×3.08 nmol/RSH/ml şeklinde hesaplandı.

Plazmada MDA Düzeyi Ölçümü

Plazmada MDA düzeyi tiobarbitürik asit reaktif madde oluşumu yöntemi ile çalışıldı [92].

Reaktifler

- TCA 200 g/L
- TBA 6,7 g/L
- n.Butanol
- Standart: Tetraetoksipropan

Deneyin Yapılışı

0,5 ml plazma üzerine sırasıyla 2,5 ml TCA ve 1 ml TBA eklenerek vortekslendi. Tüpler 30 dakika kaynatılıp, oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 2 ml n.butanol eklenerek 3,000xg'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz alınarak spektrofotometrede n.butanole karşı 532 nm'de okundu. 5–20 nmol/ml tetraetoksipropan standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak, nmol/ml olarak verildi.

III. 1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

BULGULAR

Kontrol grubuna ait spinal kord segmentlerinden alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra çeşitli büyültmelerde incelendi. Bu grupta alınan kesitlerde normal nöronal ve aksonal yapı izlendi. Ayrıca astrosit-mikrogliya (A-M) hücre infiltrasyonunun normal düzeyde olduğu dikkati çekti. Bu gruptaki hasar Grade 1 olarak değerlendirildi. (Resim 11-12)

İskemi reperfüzyon grubuna ait kesitlerde, motor nöronların, % 76'sının hasarlı olduğu, Nissl cisimciğinde kayıp (kromatolizis), aksonlarda yoğun vakuolar dejenerasyon, orta dereceli astrosit- mikrogliyal hücre infiltrasyonu ve ödem dikkati çekti. Bu gruptaki hasar Grade 3 olarak değerlendirildi. (Resim 13-14)

Düşük doz VGB uygulanan grubuna ait kesitlerde, motor nöronların ortalama %16'sının hasarlı olduğu, aksonlarda hafif şişme ve birkaç hücreyle sınırlı astrosit-mikrogliyal infiltrasyon izlendi. Bu grup Grade 1 olarak değerlendirildi. (Resim 15-16)

Yüksek doz VGB uygulanan grupta, motor nöronlarda ortalama %25'inin hasarlı olduğu, aksonlarda vakuolizasyon ve ödem ayrıca orta dereceli astrosit-

mikroglial infiltrasyon izlendi. Bu grup Grade 2 olarak değerlendirildi (Resim 17-18)

Gruplar arasındaki hasarlı nöron, hasarlı akson ve astrosit-mikroglial hücre infiltrasyonu kantitatif değerleri istatistiksel olarak birbirinden anlamlı olarak farklı bulundu ($p<0,05$) . (Sırasıyla her grubun p değerleri: 0,000 / 0,000 / 0,001)

Tablo 3: Kontrol grubunun histopatolojik değerlendirmesi

Denek No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre İnfiltrasyonu
1	0/10	G-0	+
2	0/10	G-0	+
3	0/10	G-0	+
4	1/10	G-0	+
5	1/10	G-0	+
6	0/10	G-0	+

Tablo 4: İ/R grubunun histopatolojik değ rlendirmesi

Denek No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre �nfiltrasyonu
1	7/10	G-2	++
2	8/10	G-1	+++
3	7/10	G-2	+++
4	8/10	G-1	++
5	8/10	G-2	++++
6	8/10	G-2	+++

Tablo 5: dT grubunun histopatolojik değ rlendirmesi

Denek No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre �nfiltrasyonu
1	1/10	G-1	+
2	2/10	G-1	++
3	2/10	G-0	+
4	2/10	G-0	+
5	1/10	G-0	+
6	2/10	G-0	++

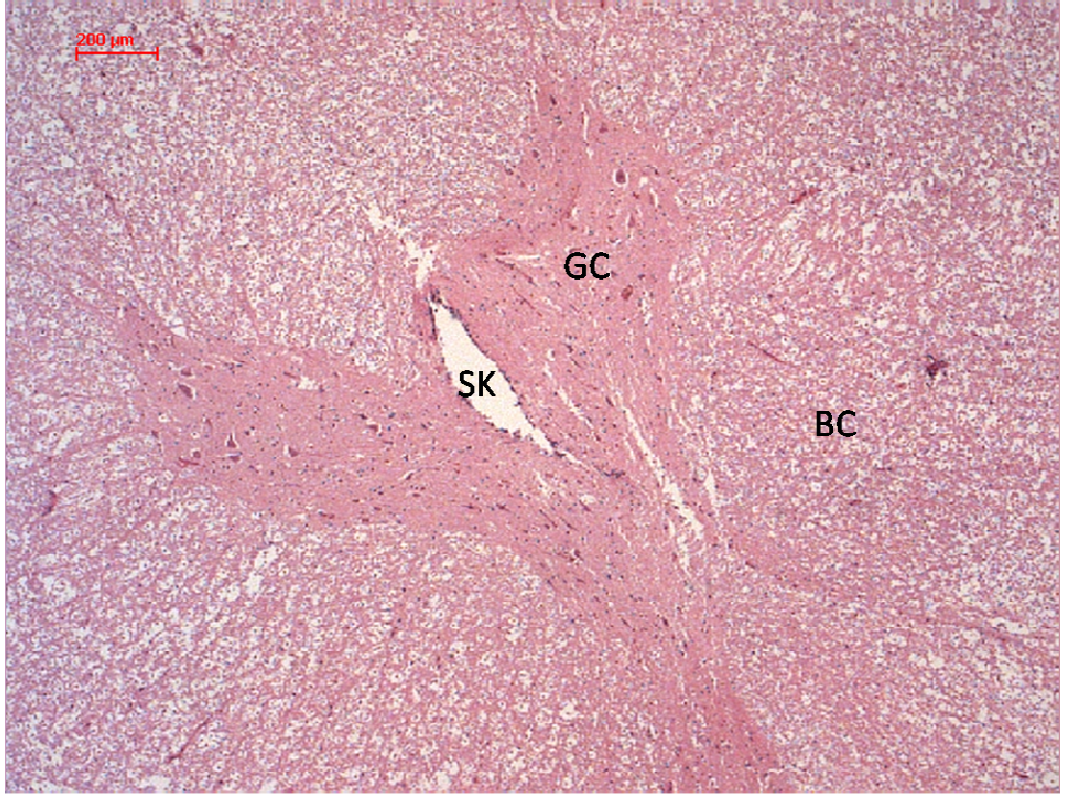
Tablo 6: yT grubunun histopatolojik değerlendirmesi

Denek No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre İnfiltrasyonu
1	2/10	G-1	++
2	3/10	G-2	++
3	2/10	G-2	+
4	3/10	G-2	++
5	2/10	G-1	++
6	3/10	G-2	+

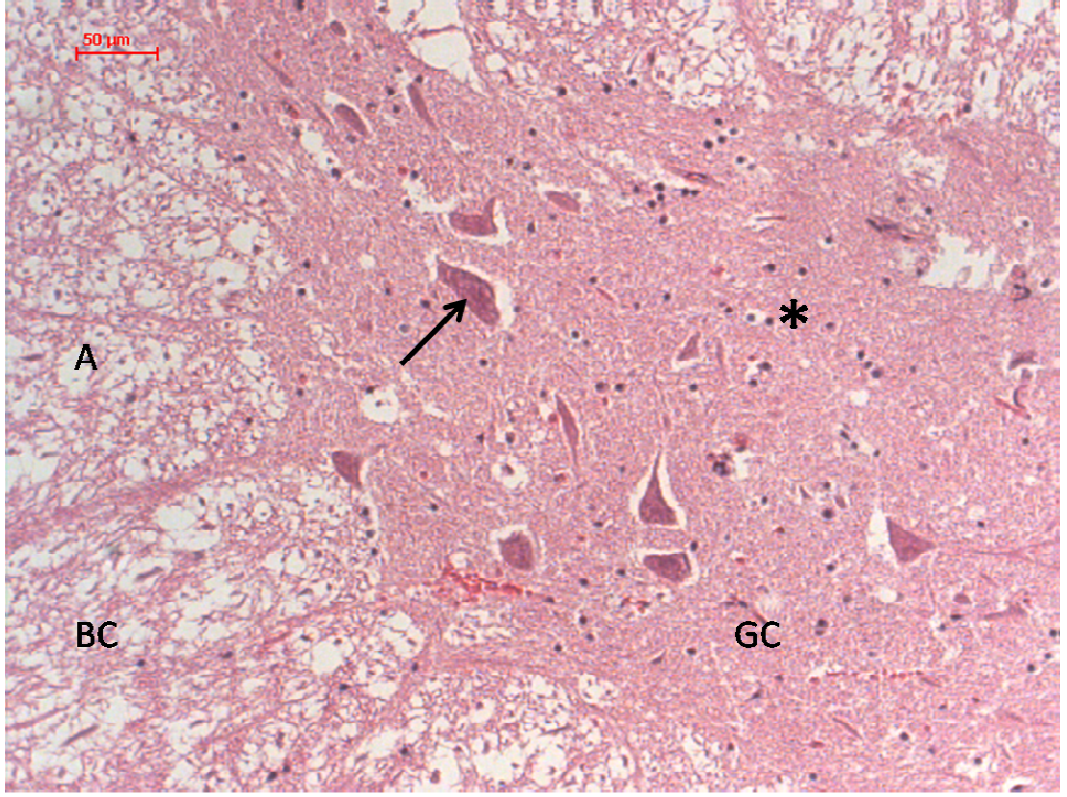
Hasarlı nöron, hasarlı akson, astrosit mikrogliya hücre infiltrasyonu açısından gruplar istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol ve İ/R grubu anlamlı olarak farklı idi ($p<0,008$). Bu bize deney modelinin etkin olduğunu ve spinal kordun iskemi-reperfüzyon hasarından etkilendiğini göstermektedir. İ/R grubu ve dT grubu arasındaki farka bakıldığında farkın anlamlı olduğu saptandı ($p<0,008$). Bu bize düşük doz VGB'in iskemi sonrasında spinal kordı koruduğunu göstermektedir. Düşük doz ile yüksek doz arasındaki farklılığa bakıldığında hasarlı akson miktarı olarak aradan anlamlı fark varken ($p=0,004$), diğer parametreler açısından arada anlamlı fark saptanmadı ($p<0,008$). Her iki grup arasındaki aksonal hasarlanma açısından farkın, aksonal vakuolizasyona bağlı olduğu düşünüldü. Çünkü yüksek doz grubunda, diğer gruplardan farklı olarak yoğun aksonal vakuolizasyon izlenmekteydi.

Tablo 7: Gruplar arası p değerleri

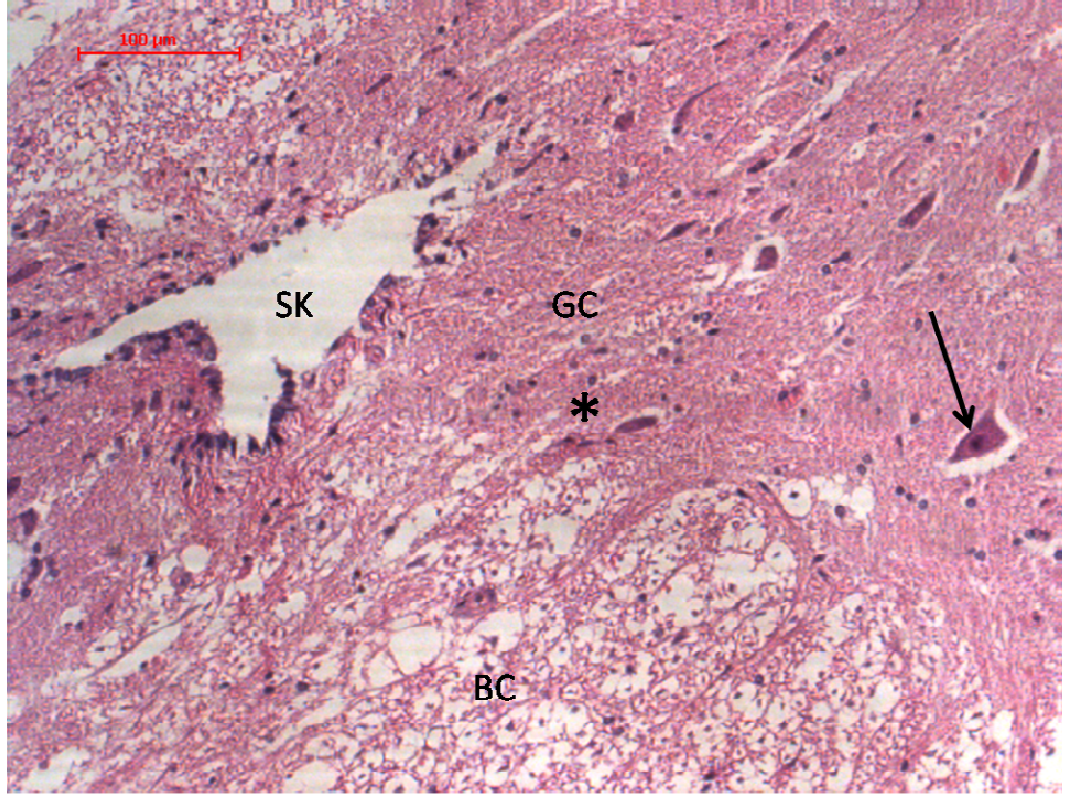
	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M İnfiltrasyonu
Kontrol-İ/R	0,003	0,002	0,002
İ/R- dT	0,003	0,007	0,007
dT-yT	0,034	0,004	0,187



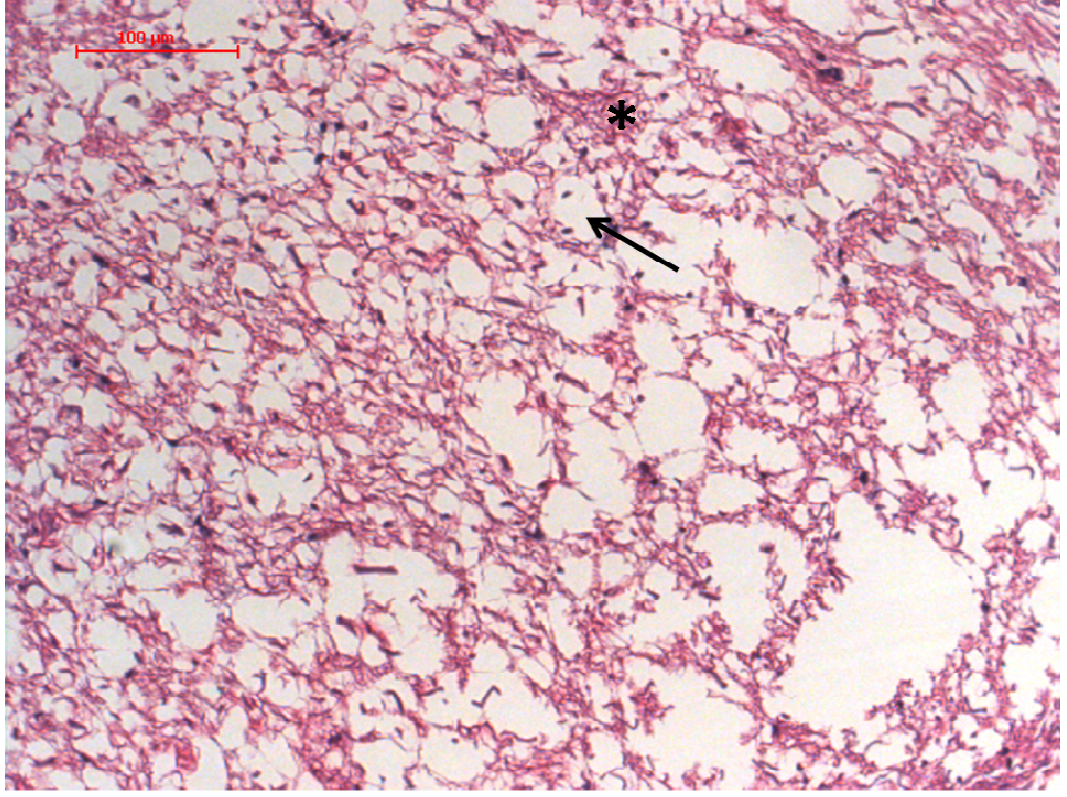
Resim 11: Kontrol grubuna ait medulla spinalis . Normal yapıda gri cevher (GC), beyaz cevher (BC), santral kanal (SK) ve nöron gövdeleri izleniyor. (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).



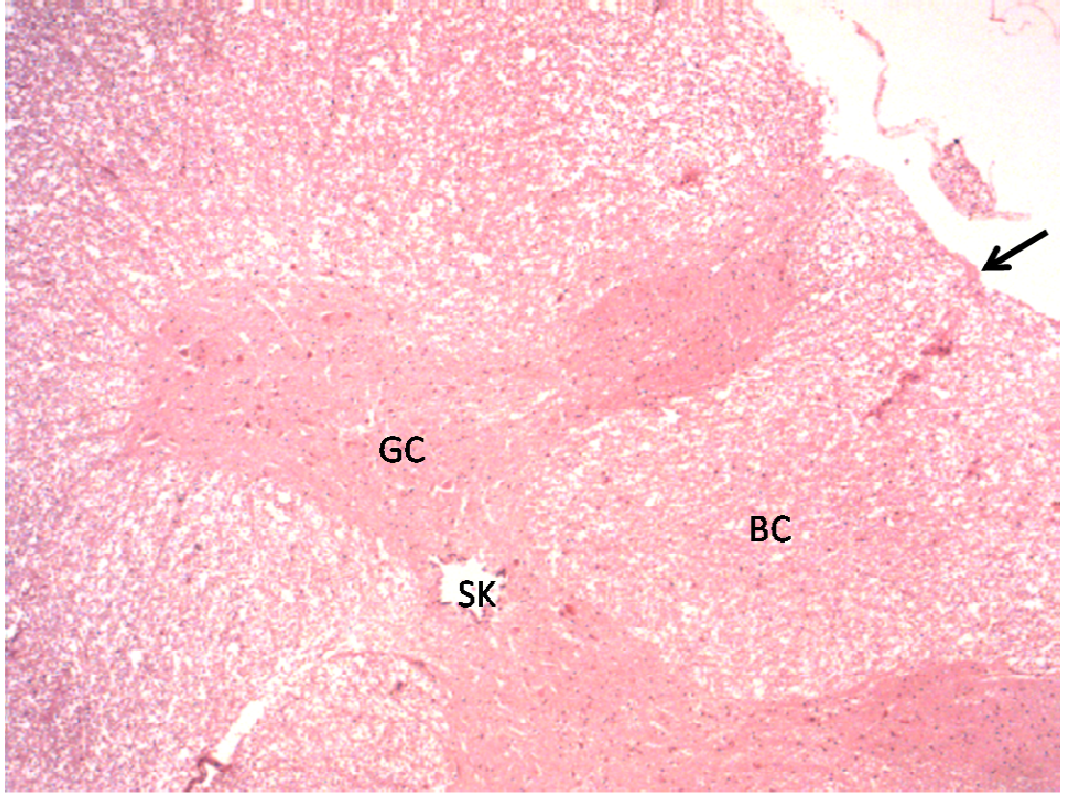
Resim 12: Kontrol grubuna ait medulla spinalis gri cevher (GC) ve beyaz cevheri (BC) izleniyor. Nöron gövdeleri(↑), nöroglial hücreler (*), aksonlar (A), normal yapıda dikkati çekiyor (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).



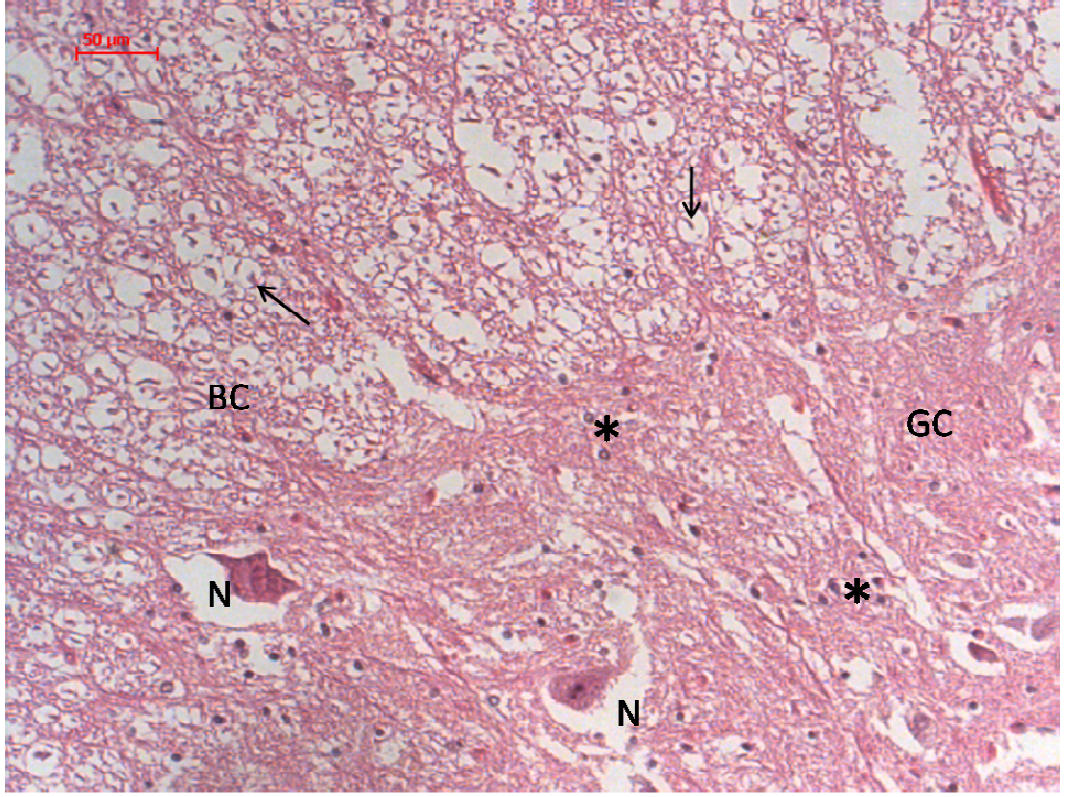
Resim 13: İskemi reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis izleniyor. Multipolar özelliğini ve Nissl cisimciklerini yitirmiş, eozinofilik nöronlar (↑), artmış nörogliya hücreleri (*), beyaz cevherde genişlemiş ve şişmiş aksonal yapılar (BC) dikkati çekiyor (Bar: 100 µm, Hematoksilen-Eozin).



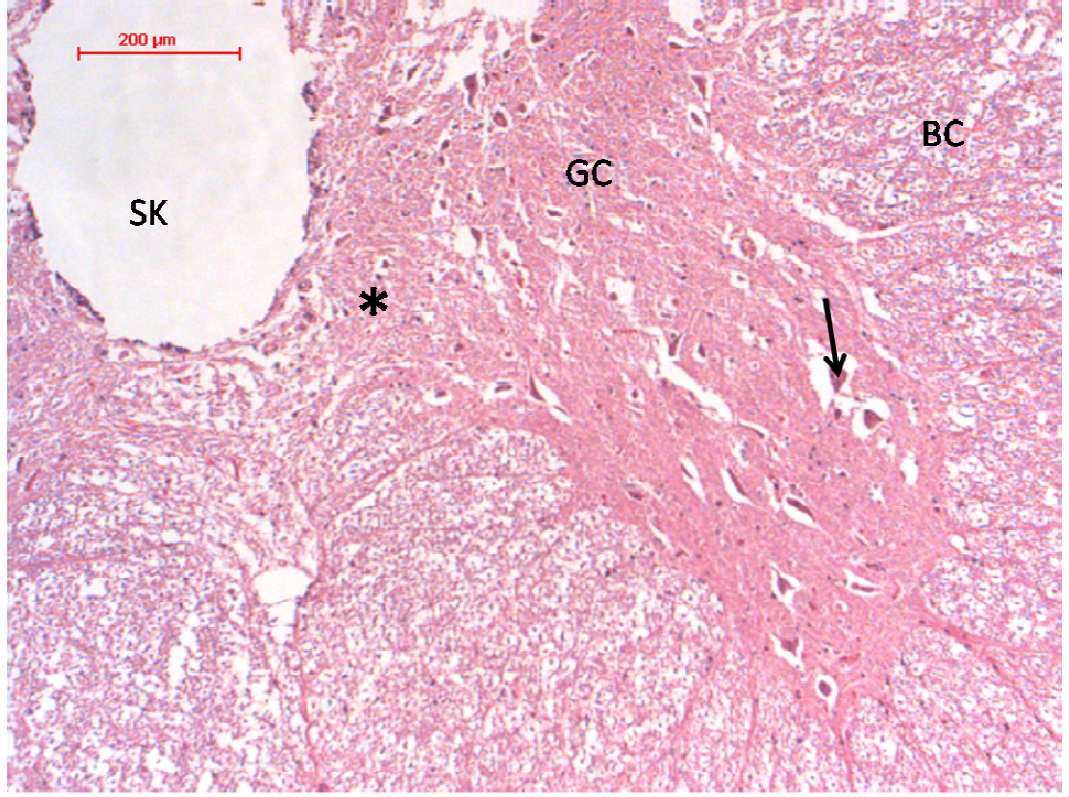
Resim 14: İskemi reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Aksonlarda vakuolizasyon (↑) ve ödem(*) izleniyor (Bar: 100 μm, Hematoksilen-Eozin).



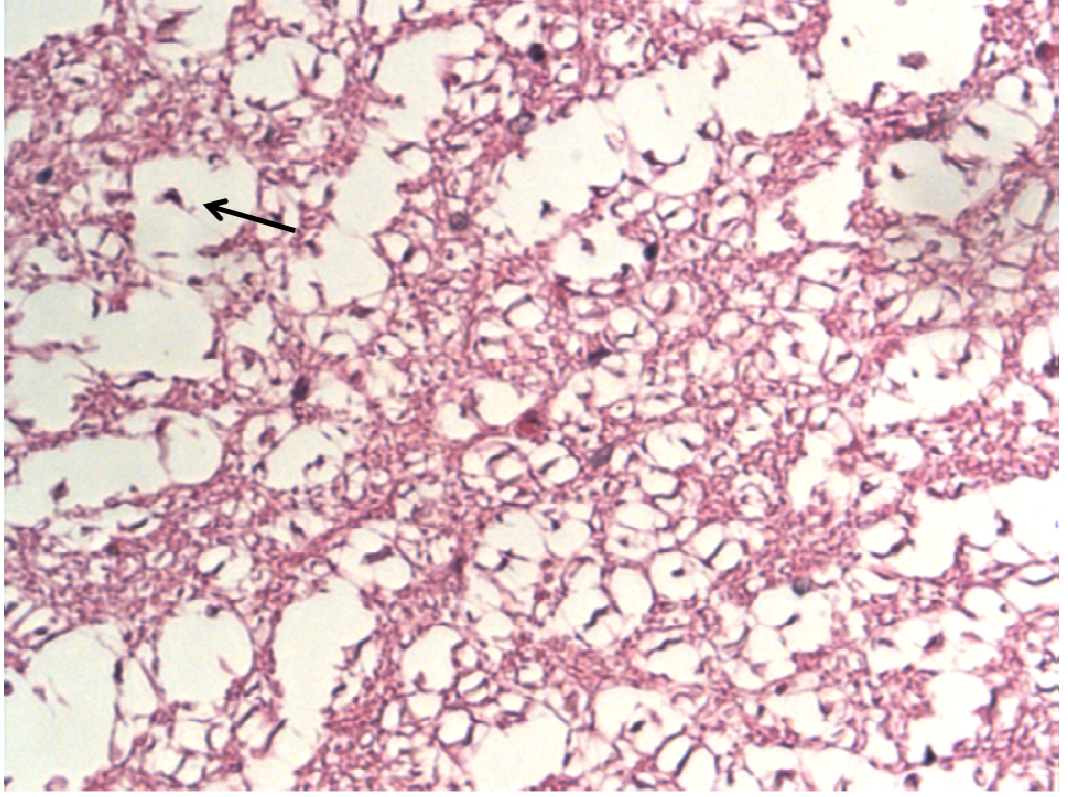
Resim 15: Düşük doz VGB uygulanan gruba ait medulla spinalis'in gri cevher (GC), beyaz cevher (BC), santral kanal (SK) ve pia mater (↑) normal yapıda izleniyor (Bar: μm , Hematoksilen-Eozin).



Resim 16: Düşük doz VGB uygulanan gruba ait medulla spinalis beyaz (BC) ve gri cevheri (GC) izleniyor. Normal yapıda nöronlar (N), aksonlar (↑) ve nöroglia dokusu (*) izleniyor (Bar: 50 μm, Hematoksilen-Eozin).



Resim 17: Yüksek doz VGB uygulanan gruba ait medulla spinalis izleniyor. Normal yapıda nöronlar, ve nöroglia hücreleri (*) izleniyor (Bar: 200 μm, Hematoksilen-Eozin).



Resim 18: Yüksek doz VGB uygulanan gruba ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Aksonlarda yoğun vakuolizasyon ve ödem (↑) izleniyor (Bar: 200 µm, Hematoksilen-Eozin).

III. 2. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

III.2.1. SPİNAL KORD DOKUSUNDA GSH DÜZEYLERİ

Spinal kord dokusunda GSH düzeyleri değerlendirildiğinde ve kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında, İ/R grubunda GSH düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı azalma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile düşük doz grubu arasındaki GSH düzeylerine bakıldığında, dT grubunda GSH düzeylerinde anlamlı olarak artış görüldü ($p=0,002$). Bu düşük doz VGB'in GSH düzeylerini kontrol grubuna benzer şekilde anlamlı düzeyde arttırdığını göstermektedir. Yüksek doz tedavi grubunda da sonuç benzer şekildedir ($p=0,001$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, yüksek dozun GSH düzeyini düşük doza göre daha da arttırdığı görülmektedir ($p=0,005$). Sonuç olarak güçlü bir antioksidan olan GSH düzeylerinin, düşük doz grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda artmış olduğu, yT grubunda da dT grubu ile karşılaştırıldığında yine anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiştir. (Tablo 8, Grafik 1)

Tablo 8 –GSH doku analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. sapma	1,3±0,22	0,74±0,19	1,34±0,15	1,83±0,43	<0,001 *
Ortanca [Min – Maks]	1,19 [1,12 – 1,59]	0,83 [0,41 – 0,88]	1,35 [1,08 – 1,49]	1,63 [1,43 – 2,68]	

Kontrol – İsk rep farklılığı: $p=0,002^{**}$

Kontrol – Düşük doz farklılığı: $p=0,818$

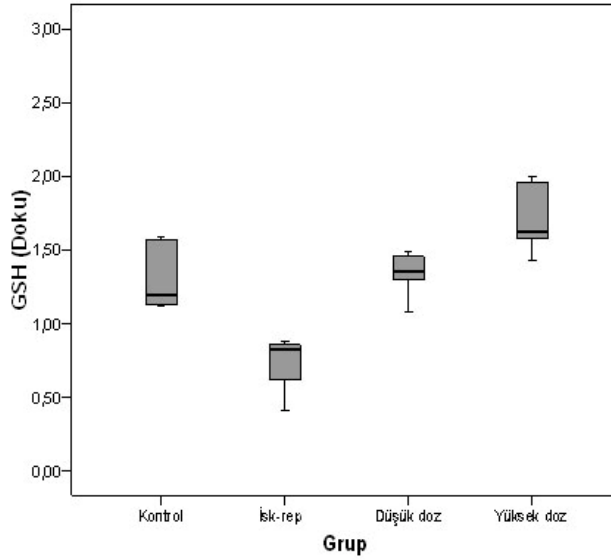
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: $p=0,014$

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: $p=0,002^{**}$

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,001^{**}$

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,005^{**}$

(* $p<0,05$, ** $p<0,008$)



Grafik 1: Gruplar arası doku GSH değerleri

III. 2. 2. SPİNAL KORD DOKUSUNDA MDA DÜZEYLERİ

Spinal kord dokusunda MDA düzeyleri değerlendirildiğinde ve kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı artma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki MDA düzeylerine bakıldığında dT grubunda İ/R grubuna göre MDA düzeylerinde anlamlı bir azalış görüldü. ($p=0,002$). Düşük doz grubundaki MDA düzeyleri kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir ($p=0,818$). Yüksek doz uygulamasında da sonuçların benzer şekilde olduğu görüldü ($p=0,001$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır ($p=0,022$). Sonuç olarak reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan ve oksidatif stres marker'ı olarak kullanılan MDA düzeylerinin dT grubunda, İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda azalmış olduğu, yT

grubunda da düşük doz ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmadığı görülmüştür. (Tablo 9, Grafik 2)

Tablo 9 – MDA doku analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. sapma	2,71±0,85	7,38±0,97	2,73±0,49	3,99±0,92	0,001*
Ortanca [Min – Maks]	2,75 [1,41 – 3,97]	7,55 [5,89 – 8,32]	2,82 [2,18 – 3,46]	3,84 [2,69 – 5,25]	

Kontrol – İsk rep farklılığı: p=0,002**

Kontrol – Düşük doz farklılığı: p=0,818

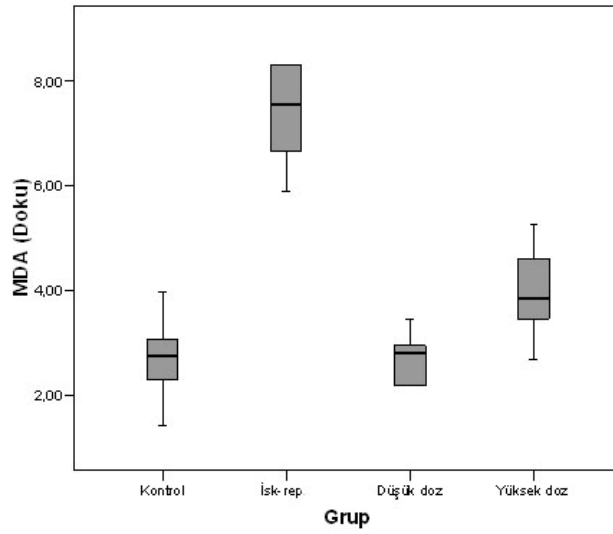
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: p=0,035

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: p=0,002**

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,001**

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,022

(* p<0,05, ** p<0,008)



Grafik 2: Gruplar arası doku MDA değerleri

III. 2. 3. SPİNAL KORD DOKUSUNDA AOPP DÜZEYLERİ

Spinal kord dokusunda AOPP düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda AOPP düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı artma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki AOPP düzeylerine bakıldığında dT grubunda İ/R grubuna göre AOPP düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü. ($p=0,002$). Düşük doz tedavi grubundaki AOPP düzeylerinin kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği görüldü ($p=1,000$). Yüksek doz tedavi grubunda, AOPP düzeyleri kontrol grubuna yakın seyretmesine rağmen İ/R grubuna göre AOPP düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma saptandı ($p=0,022$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır ($p=0,836$). Sonuç olarak reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan ve oksidatif stres marker'ı olarak kullanılan AOPP düzeylerinin, dT grubunda, İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda azalmış olduğu, yT grubunda da düşük doz ile karşılaştırıldığında anlamlı olmamakla beraber benzer etkilerinin olduğu görüldü. (Tablo 10, Grafik 3)

Tablo 10 – AOPP doku analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. sapma	5,3±1,22	11,5±1,19	5,31±1,65	6,29±3,1	0,012*
Ortanca [Min – Maks]	5,31 [3,49 – 6,84]	12,06 [9,79 – 12,58]	5,6 [3,38 – 6,96]	5,63 [2,88 – 12,58]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: $p=0,002^{**}$

Kontrol – Düşük doz farklılığı: $p=1,000$

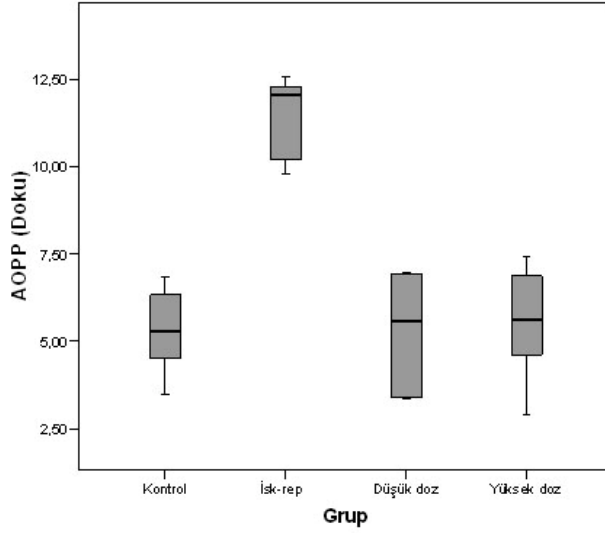
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: $p=0,836$

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: $p=0,002^{**}$

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,022$

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,836$

(* $p<0,05$, ** $p<0,008$)



Grafik 3: Gruplar arası doku AOPP değerleri

III. 2. 4. SPİNAL KORD DOKUSUNDA SOD DÜZEYLERİ

Spinal kord dokusundaki SOD düzeyleri değerlendirildiğinde ve kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda SOD düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p=0,004$). Bu anlamlı azalma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki SOD düzeylerine bakıldığında dT grubunda, düzeylerde anlamlı olarak artış görüldü ($p=0,004$). Kontrol grubu ile dT grubu arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,078$). İskemi reperfüzyon grubu ile yT grubunun sonuçları karşılaştırıldığında yT grubunda kontrol grubuna benzer şekilde, SOD düzeylerinin anlamlı olarak arttığı görüldü ($p=0,003$). Bu düşük doz ve yüksek doz VGB uygulamalarının SOD düzeylerini kontrol grubuna benzer şekilde anlamlı olarak arttırdığını göstermektedir. Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında SOD düzeyinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,391$). Sonuç olarak güçlü bir antioksidan olan SOD'un

düzeyinin, dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda artmış olduğu görülmüş, Yüksek doz grubu dT grubu ile karşılaştırıldığında düzeylerde anlamlı fark olmadığı gözlemlenmiştir. (Tablo 11, Grafik 4)

Tablo 11 – SOD doku analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std . sapma	20,591±1,05	12,96 ±0,83	19,36±0,94	19,81±37,28	0,002*
Ortanca [Min – Maks]	20,87 [19,18 – 21,80]	13,20 [11,63 – 13,82]	19,65 [18,08 – 20,23]	19,96 [18,43 – 20,75]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: p=0,004**

Kontrol – Düşük doz farklılığı: p=0,078

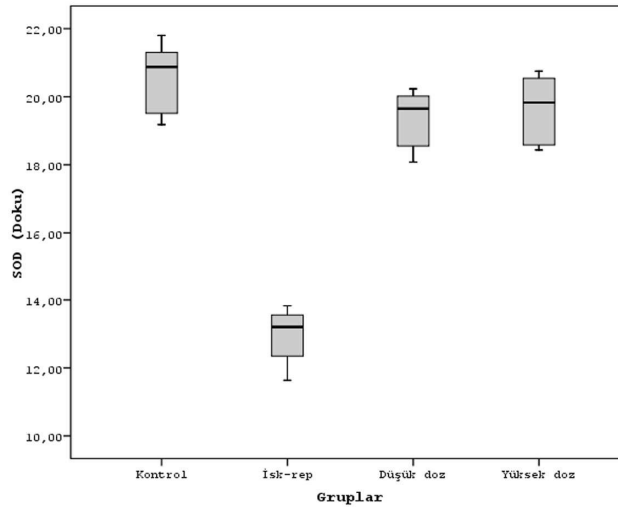
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: p=0,253

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: p=0,004**

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,003**

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,391

(* p<0,05, ** p<0,008)



Grafik 4: Gruplar arası doku SOD düzeyleri

III. 2. 5. SPİNAL KORD DOKUSUNDA NO DÜZEYLERİ

Spinal kord dokusunda NO düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda NO düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0,004$). Bu anlamlı artma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki NO düzeylerine bakıldığında dT grubunda İ/R grubuna göre NO düzeylerinde anlamlı bir azalış görüldü. Düşük doz tedavi grubundaki NO düzeyleri kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir ($p=0,150$). Yüksek doz tedavi grubunun NO düzeyine etkisi incelendiğinde kontrol grubuna yakın değerler elde edilmesine karşın, yT grubunda İ/R grubuna göre NO düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma görüldü ($p=0,010$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır ($p=0,886$). Sonuç olarak reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan ve oksidatif stres marker'ı olarak kullanılan NO düzeylerinin dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda azalmış olduğu gözlenmiştir. Yüksek doz grubunda ise benzer sonuçlar elde edilse de bu anlamlı çıkmamıştır (Tablo 12, Grafik 5)

Tablo 12 – NO doku analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=7)	P (Genel)
Ort.±Std. sapma	32,82±3,54	60,22±15,08	37,28±10,07	34,43±0,94	0,005*
Ortanca [Min – Maks]	31,94 [28,69 – 38,86]	58,04 [39,63 – 78,62]	34,16 [30,24 – 45,18]	34,69 [27,05 – 55,81]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: $p=0,004^{**}$

Kontrol – Düşük doz farklılığı: $p=0,150$

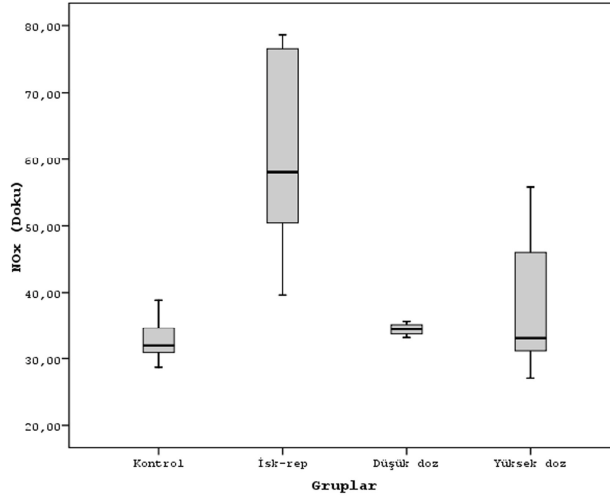
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: $p=0,391$

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: $p=0,004^{**}$

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,010$

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,886$

(* $p<0,05$, ** $p<0,008$)



Grafik 5: Gruplar arası doku NO düzeyleri

III. 2. 6. PLAZMA GSH DÜZEYLERİ

Plazma GSH düzeyleri değerlendirildiğinde ve kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda GSH düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı azalma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki GSH düzeylerine bakıldığında dT grubunda, düzeylerde anlamlı olarak artış görüldü ($p=0,002$). Kontrol grubu ile dT grubu arasında GSH değerleri açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0,699$). İskemi reperfüzyon grubu ile yT grubunun sonuçları karşılaştırıldığında yT grubunda kontrol grubuna benzer şekilde, GSH düzeylerini anlamlı olarak arttığı saptandı ($p=0,002$). Bu düşük doz ve yüksek doz VGB uygulamalarının GSH düzeylerini kontrol grubuna benzer şekilde anlamlı düzeyde arttırdığını göstermektedir. Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında,

her iki grup arasında GSH düzeyinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,937$). Sonuç olarak güçlü bir antioksidan olan GSH düzeyinin, dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak arttığı; yT grubu, dT grubu ile karşılaştırıldığında düzeylerde anlamlı fark olmadığı gözlemlenmiştir (Tablo 13, Grafik 6).

Tablo 13 – GSH plazma analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. . sapma	475,83±22,44	316,98±9	464,17±34,95	467,15±120,7	0,005*
Ortanca [Min – Maks]	482,93 [437,62 – 500,11]	318,7 [300,11 – 327,25]	467,96 [419,89 – 508,74]	453,29 [338,52 – 618,98]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: $p=0,002^{**}$

Kontrol – Düşük doz farklılığı: $p=0,699$

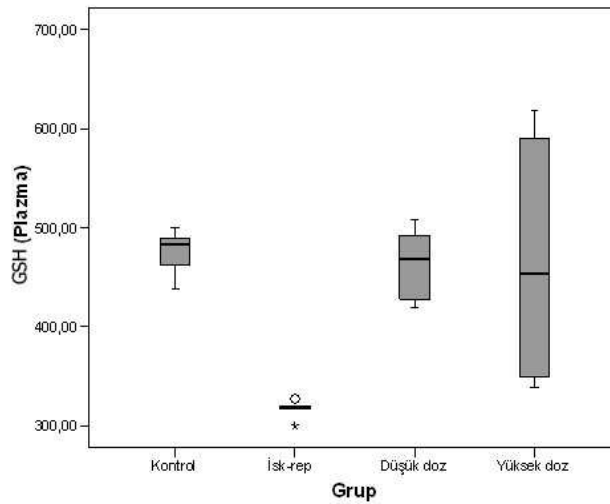
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: $p=0,937$

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: $p=0,002^{**}$

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,002^{**}$

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,937$

(* $p<0,05$, ** $p<0,008$)



Grafik 6: Gruplar arası plazma GSH düzeyleri

III. 2. 7. PLAZMA MDA DÜZEYLERİ

Plazma MDA düzeyleri değerlendirildiğinde ve kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı artma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki MDA düzeylerine bakıldığında dT grubunda İ/R grubuna göre MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü. Düşük doz tedavi grubundaki MDA düzeylerinin kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği görüldü. ($p=0,310$). yT grubunda, MDA düzeyleri kontrol grubuna yakın seyretmesine rağmen, İ/R grubuna göre MDA düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma saptandı. ($p=0,485$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır. Sonuç olarak reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan ve oksidatif stres marker'ı olarak kullanılan MDA düzeylerinin dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Yüksek doz grubunda ise benzer sonuçlar elde edilse de bu anlamlı çıkmamıştır (Tablo 14, Grafik 7).

Tablo 14 – MDA plazma analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. sapma	4,53±0,42	6,78±0,73	4,71±0,1	4,97±2,6	0,021*
Ortanca [Min – Maks]	4,5 [4,1 – 5,24]	6,58 [5,85 – 7,81]	4,71 [4,56 – 4,85]	5,9 [1,63 – 7,7]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: $p=0,002^{**}$

Kontrol – Düşük doz farklılığı: $p=0,310$

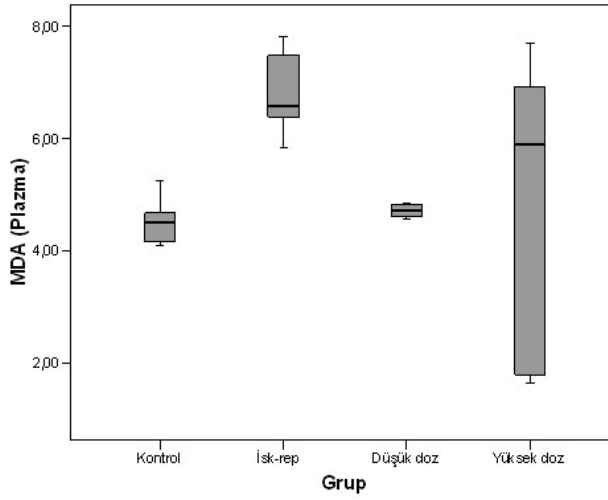
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: $p=0,485$

İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: $p=0,002^{**}$

İsk rep farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,485$

Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,394$

(* $p<0,05$, ** $p<0,008$)



Grafik 7: Gruplar arası plazma MDA düzeyleri

III. 2. 8. PLAZMA AOPP DÜZEYLERİ

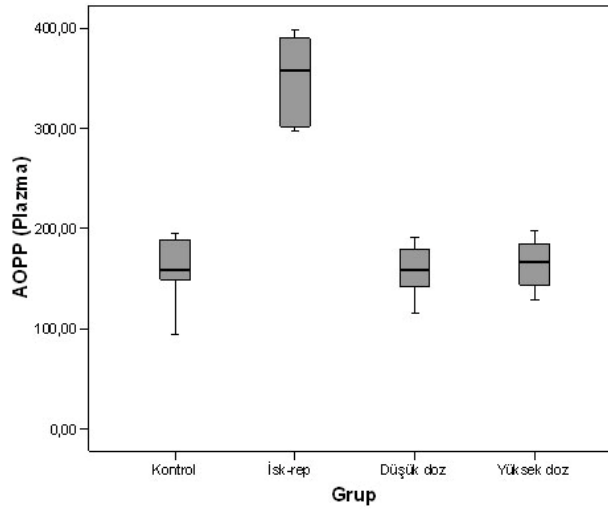
Plazma AOPP düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda AOPP düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı artma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki AOPP düzeylerine bakıldığında dT grubunda İ/R grubuna göre AOPP düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü. ($p=0,002$). Düşük doz tedavi grubundaki AOPP düzeylerinin kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği görüldü ($p=0,937$). İskemi reperfüzyon grubu ile yT grubunun sonuçları karşılaştırıldığında kontrol grubuna benzer şekilde, yT grubunun AOPP değerlerini anlamlı düzeyde azalttığı görüldü ($p=0,002$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı düzeyde fark saptanmamıştır. Sonuç olarak reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan ve oksidatif stres marker'ı olarak kullanılan AOPP düzeylerinin dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda

azalmış olduğu, yT grubunda da düşük doz ile karşılaştırıldığında belirgin fark göstermediği görülmüştür. (Tablo 15, Grafik 8)

Tablo 15 – AOPP plazma analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	P
Ort.±Std. sapma	156,98±36,29	350,47±45,49	157,5±26,98	164,72±25,75	0,004*
Ortanca [Min – Maks]	157,87 [93,72 – 194,82]	357,14 [297,94 – 398,76]	158,84 [114,99 – 190,98]	166,33 [128,65 – 198,35]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: p=0,002**
 Kontrol – Düşük doz farklılığı: p=0,937
 Kontrol – Yüksek doz farklılığı: p=0,937
 İsk rep2 farklılığı – Düşük doz farklılığı: p=0,002**
 İsk rep2 farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,002**
 Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,699
 (* p<0,05, ** p<0,008)



Grafik 8: Gruplar arası plazma AOPP düzeyleri

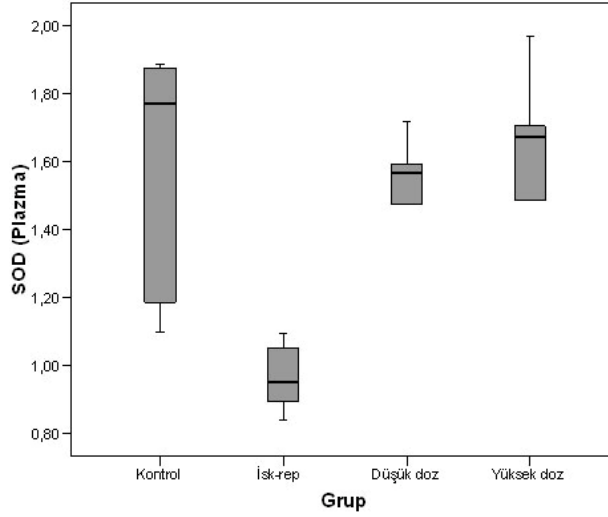
III. 2. 9. PLAZMA SOD DÜZEYLERİ

Plazma SOD düzeyleri değerlendirildiğinde ve kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda SOD düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı azalma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki SOD düzeylerine bakıldığında dT grubunda, düzeylerde anlamlı olarak arttığı görüldü ($p=0,002$). Kontrol grubu ile dT grubu arasında belirgin farklılık saptanmadı ($p=0,394$). Bu dT grubunun SOD düzeylerini kontrol grubuna benzer şekilde anlamlı düzeyde artırdığını göstermektedir. Yüksek doz grubunda, SOD düzeyleri kontrol grubuna yakın seyretmesine rağmen, İ/R grubuna göre SOD düzeylerinde anlamlı olmayan bir artma saptandı. ($p=0,009$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında SOD düzeyinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir ($p=0,485$). Sonuç olarak güçlü bir antioksidan olan SOD'un düzeyinin, dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda arttığı gözlenmiştir. Yüksek doz grubunda benzer etkiler görülmesi karşın bu anlamlı çıkmamıştır. (Tablo 16, Grafik 9)

Tablo 16 – SOD plazma analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. sapma	1,6±0,36	0,96±0,09	1,53±0,16	1,58±0,33	0,005*
Ortanca [Min – Maks]	1,77 [1,1 – 1,89]	0,95 [0,84 – 1,09]	1,57 [1,25 – 1,72]	1,67 [1 – 1,97]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: $p=0,002^{**}$
Kontrol – Düşük doz farklılığı: $p=0,394$
Kontrol – Yüksek doz farklılığı: $p=0,589$
İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: $p=0,002^{**}$
İsk rep2 farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,009$
Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: $p=0,485$
(* $p<0,05$, ** $p<0,008$)



Grafik 9: Gruplar arası plazma SOD düzeyleri

III. 2. 10. PLAZMA NO DÜZEYLERİ

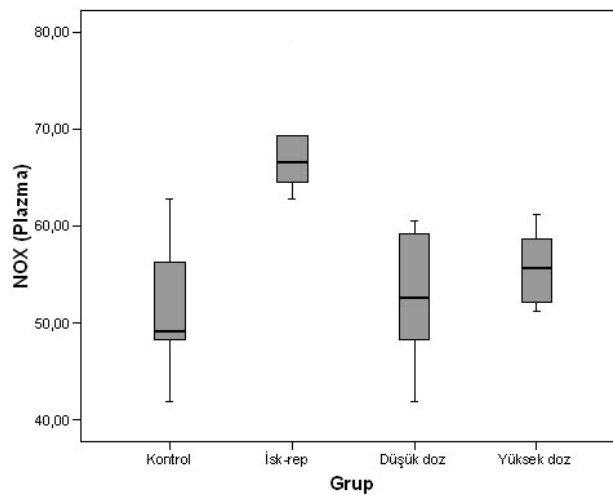
Plazma NO düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubu ile İ/R grubu karşılaştırıldığında İ/R grubunda NO düzeylerinin anlamlı olarak arttığı bulundu ($p=0,002$). Bu anlamlı artma spinal kordun İ/R hasarından etkilendiğini göstermektedir. İskemi reperfüzyon grubu ile dT grubu arasındaki NO düzeylerine bakıldığında dT grubunda İ/R grubuna göre NO düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü ($p=0,002$). Düşük doz VGB verilen gruptaki NO düzeyleri kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir ($p=0,937$). İskemi reperfüzyon grubu ile yT grubu arasındaki NO düzeylerine bakıldığında yT grubunda İ/R grubuna göre NO düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü ($p=0,002$). Yüksek doz VGB verilen gruptaki NO düzeyleri kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir ($p=0,180$). Dozlar arasında anlamlılık düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı

düzeyde fark saptanmamıştır (p=0,485). Sonuç olarak reaktif oksijen radikalleri nedeniyle oluşan ve oksidatif stres marker'ı olarak kullanılan NO düzeylerinin dT grubunda İ/R grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı miktarda azalmış olduğu, yT grubunda da düşük doz ile karşılaştırıldığında belirgin fark göstermediği görülmüştür. (Tablo 17, Grafik 10)

Tablo 17 – NO plazma analizleri

	Kontrol (n=6)	İsk-rep (n=6)	Düşük doz (n=6)	Yüksek doz (n=6)	p
Ort.±Std. sapma	51,25±7,28	68,07±5,64	52,5±7,3	55,76±4,07	0,003*
Ortanca [Min – Maks]	49,13 [41,94 – 62,83]	66,53 [62,83 – 78,66]	52,62 [41,82 – 60,49]	55,71 [51,16 – 61,23]	

Kontrol – İsk rep2 farklılığı: p=0,002**
 Kontrol – Düşük doz farklılığı: p=0,937
 Kontrol – Yüksek doz farklılığı: p=0,180
 İsk rep farklılığı – Düşük doz farklılığı: p=0,002**
 İsk rep2 farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,002**
 Düşük doz farklılığı – Yüksek doz farklılığı: p=0,485
 (* p<0,05, ** p<0,008)

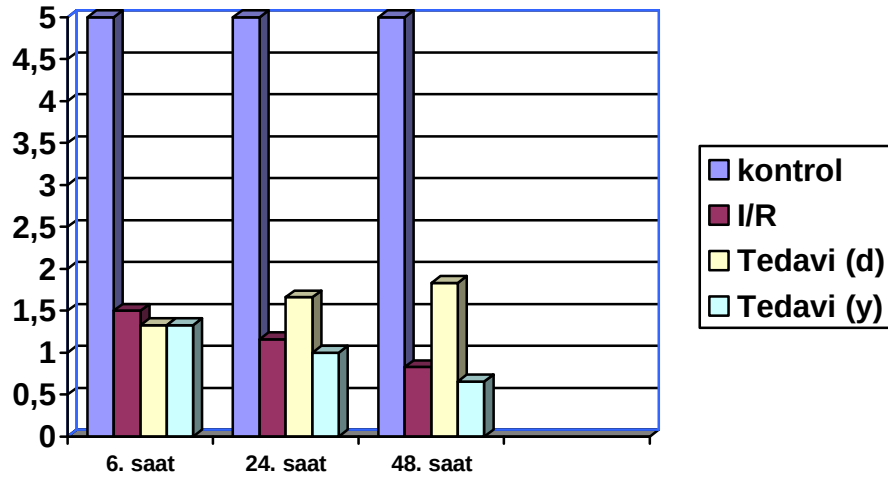


Grafik 10: Gruplar arası plazma NO düzeyleri

III.3. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME (TARLOV SKALASI)

Tablo 18: 6,24,48 saatlerde Tarlov skalasına göre denek sayılarının gruplara göre dağılımı

Tarlov	KONTROL			I/R			TEDAVİ Düşük Doz			TEDAVİ Yüksek Doz		
	6st	24st	48st	6st	24st	48st	6st	24st	48st	6st	24st	48st
0				2	2	2	2	2	2	2	4	4
1				1	1	3	1	0	0	2	1	0
2				1	3	1	2	2	1	0	1	2
3				2	0	0	1	2	3	2	1	0
4												
5	6	6	6									
Ort:	5	5	5	1,5	1,16	0,83	1,33	1,66	1,83	1,33	1,0	0,66



Grafik 11: Ortalama Tarlov Skoru değerlerinin gruplara göre dağılımı

Cerrahi prosedür sonrası kontrol grubunda herhangi bir nörolojik defisit gelişmedi (Tarlov 5). Ancak diğer gruplarda deneklerde ciddi kuvvet kayıpları gelişti. İlerleyen saatlerde düşük doz grubunda I/R grubuna kıyasla kısmi bir düzelme saptanırken, yüksek doz grubunda bir miktar gerileme sapt

TARTIŞMA ve SONUÇ

Dokulara kan sağlayan vasküler yapıların herhangi bir nedenle tıkanması sonucu dokuların beslenmesinin bozulmasına iskemi adı verilmektedir. SSS kısıtlı anaerobik metabolizma ve glikojen depolarındaki kısıtlılık nedeniyle iskemiyeye çok duyarlıdır ve hasarın şiddeti hipoksinin süresine, derinliğine, reperfüzyon sürecine bağlıdır [93,94]. Hipoksik iskemik hasarın hücrel ve moleküler nedenleri araştırılmakla beraber bilinen en önemli mekanizmanın kalsiyum iyon hemostazisinin bozulması olduğu kabul görmektedir [95,96]. Nörotoksik eksitatör amino asitler olan glutamat ve aspartat salınımı sonrasında oluşan proteaz aktivasyonu ve reaktif oksijen radikalleri ile nöronal hasar oluşmaktadır [97,98].

Reperfüzyon sırasında serbest radikaller oluşmakta ve lipid peroksidasyonu, intrasellüler kalsiyumu daha da arttırmakta bu da proteaz ve endonükleaz aktivitesini hızlandırarak nöronal hasar, apoptoz veya nekroz ile nörolojik disfonksiyona neden olmaktadır [97,99].

Tavşan modelinde spinal kord iskemisi için gerekli aort oklüzyon süresi konusunda görüş birliği olmasa da, yaklaşık 13–45 dk. arasında tanımlandığı görülmektedir [100–105]. Aortik oklüzyon süresi ile ilgili yapılan bir çalışmada tavşanlarda iki dakikalık oklüzyonda tüm deneklerde parapleji geliştiği, 16 dakika içinde reperfüze edildiğinde nörolojik fonksiyonların geri dönebildiği, 27 dakikadan sonra ise plejinin kalıcı olduğu gösterilmiştir [47]. Başka bir çalışmada da 25 dk.'lık iskemi süresinden sonra ek koruyucu önlemlerin yokluğunda nörolojik hasar riskinin lineer olarak arttığı bildirilmiştir [57].

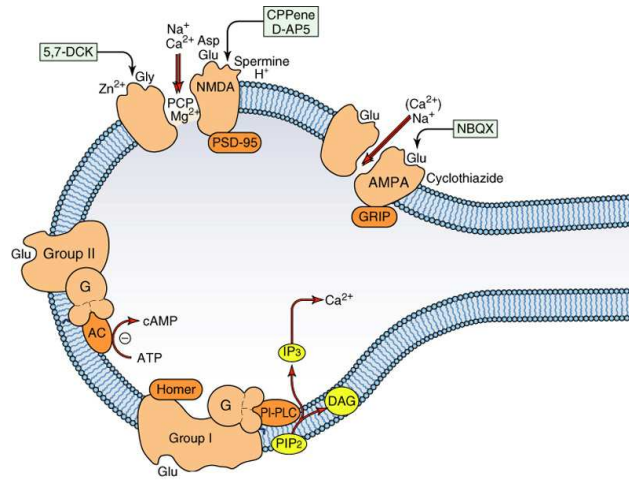
Aort cerrahisinde spinal iskemiden korunmak için pek çok yöntem olsa da [106,107], bu önlemler her zaman etkin olamamaktadır. Bu durum da alternatif koruyucu yöntemlerin geliştirilmesine neden olmuştur.

İskemi reperfüzyon hasarınından korunmada ilk basamağı deneysel hayvan çalışmalarını geliştirerek olmuş ve buna paralel olarak farmasotikler geliştirilmiştir. Tavşan, rat, fare, domuz, köpek gibi hayvanlar spinal İ/R hasarında denek olarak kullanılabilir [100,101,108–115]. En sık kullanılanlar tavşan ve rattır. Tavşanlarda spinal akımın segmenter olması, aortaya renal arterler sonrasında uygulanacak klipaj ile visseral organlara zarar verilmeden spinal iske mi sağlanabilmesi bu modeli önemli kılmıştır. Ayrıca tavşan lomber spinal kordunun iske miye duyarlı olması, tavşan infrarenal aortik klemlemeyi yaygın ve sık kullanılan bir spinal iske mi modeli yapmıştır [100,102–105,116]. Bu nedenle çalışmamızda tavşanın spinal iske mi modeli tercih edilmiştir.

VGB esas olarak parsiyel epilepsi ve infantil spazmda kullanılan bir antiepileptik türüdür. VGB'in etki mekanizması GABA-T'nin irreversibl inhibe edilip mevcut GABA düzeyinin arttırılması üzerinden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada farede 1500 mg. VGB uygulananının inhibitör mekanizma da etkin olan GABA seviyelerini %650 kadar arttırdığı buna karşın aynı zamanda eksitatör amino asit olan glutamatın seviyelerinin ise %80'lerde kaldığını göstermektedir [117].

İskemik nöronal hasarın patofizyolojisi ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Çalışmalar ve yazılı dökümanlar göstermektedir ki iskemik

nöronal hasar, esas olarak major eksitatör amino asit olan glutamat ile major inhibitör aminoasitler olan GABA ve glisin arasındaki dengenin eksitatör tarafa kayması ile ilintilidir. Glutamatın kafa travması ardından kafa içi basıncın artış mekanizmasında etkin olduğu ve anoksik hücre ölümüne neden olduğu bilinmektedir [118,119].



Resim 19: Glutamatın NMDA ve AMPA reseptörleri üzerinden etkisi [119].

GABAerjik transmisyonun artışının da tek başına iskemik nöronal ölümü azalttığı ve bunun GABA-A ve GABA-B reseptörleri ile gerçekleştirdiği daha önce pek çok makale ile gösterilmiştir [120-123]. Ancak GABA'nın post reseptör etkileri ise halen yoğun bir şekilde araştırılmakla beraber belirgin, net bir mekanizma ortaya konulamamıştır. Bu bilgi araştırmacıları GABAerjik ilaçların nöroproteksiyona etkisini araştırmaya itmiş ve pek çok araştırmaya zemin hazırlamıştır. VGB'in, nöronal iskemi reperfüzyon çalışmalarının yoğunlaştığı 1990'larda kullanıma geçmesi ve serbest GABA miktarını artırıcı etkisi nedeniyle, nöronal yaralanma ve iskemi modellerinde etkisi olabileceği düşünülmüş ve araştırılmaya başlanmıştır.

VGB'in nöronal iskemi ve hasarlanmaya etkileri ile ilgili çalışmalar genellikle kranial deney modellerinde incelenmiştir ve çeşitli sonuçlar ile karşılaşmıştır. Abel ve McCandless'in 1992'deki çalışmasında, Costa ve ark.'nın 2004'deki çalışmasında, Shuaib ve ark.'nın 1992 ve 1996'daki çalışmalarında VGB'in, iskemik hasarı da içeren pek çok nörodejeneratif hasardan koruduğu gösterilmiştir [124]. Kim ve ark.'nın gerbil hipokampusünde yaptığı çalışmasına göre tek başına VGB iskemik nöronal hasardan korumamaktadır, başka ilaçlarla kullanıldığında da nöroproteksiyonel etkisi de hipotansif veya sedasyonel etkilerine bağlı olabileceği düşünülmüştür. VGB'in iskemi öncesi kullanımının nöronal korumada etkin olabileceği hipotezi ortaya atılmıştır [124].

Costa ve ark.'nın 2004'de yaptığı çalışmada sinaptik GABA miktarını arttıran tiagabin ile VGB in vitro iskemi modelinde incelenmiş ve her iki ilacında hem GABA-A hem de GABA-B üzerinden nöroprotektif etkisi kanıtlanmıştır [125]. Madden ve ark.'nın 2003'de yaptıkları farede fokal iskemi modelinde 24. saatte, değişik doz VGB uygulamasında (1000mg/kg, 500mg/kg) enfarkt volümü açısından anlamlı fark saptanmamıştır [126]. Kubova ve ark.'nın 2007'deki çalışmasında hipoksi ve pentilentetrazol ile epileptik hale getirilmiş immatür ratlarda uygulananın (600mg/kg), 3 gün sonrasında nöbet sıklığını azalttığı bulunmuştur. Bu bağlamda epileptik deşarjın nöronal ölümü tetiklediği düşünülürse, VGB epilepsi eşiğini yükselterek, hipoksik hasardan parsiyel korunum sağlayabileceği yorumlanabilir. Yine bu çalışmada iskemi öncesinde VGB'in uygulanmasının epilepsi kontrolünde daha etkin olduğu belirtilmiştir [127]. Benzer düşünceyle, epileptik atakların ve özellikle status epileptikusun

hipoksik hasar yaratabileceği düşünüldüğünde, pek çok antiepileptik ilaç VGB ile birlikte nöroproteksiyon açısından çalışılmıştır. Tronjar ve ark.'nın 2002'de çalışmasında pek çok antiepileptik ilaç; iskemik nöroproteksiyon, konvülzanlara sekonder nöroproteksiyon ve nörodejenerasyon indüksiyonu açısından değerlendirilmiştir. VGB hem de konvülsiyonlara sekonder nöroproteksiyonda etkin bulunmuş ancak nörodejeneratif etkileri de gösterilmiştir [82]. Leker ve ark.'nın 2003'de yaptığı bir çalışmada, VGB incelenmemiş ancak benzer şekilde GABA miktarını arttıran tiagabin'nin hem fokal hem de global iskemide nöroprotektif etkisi gösterilmiştir [128]. Sidhu ve ark.'nın 1997'de yaptığı çalışmada erişkin ratlarda VGB'in kronik kullanımının (200mg/kg/gün) **myelin vakuolizasyonu** yaptığı, 12-16 günlük ratlarda klinik dozlara yakın dozlarda 15-50mg/kg/gün kullanımının (yaklaşık bir hafta kullanılmış) ise eksternal kapsülde myelinizasyonu bozduğu, frontal kortekste astrogliozise neden olduğu, beyaz cevherde aksonal dejenerasyona neden olduğu saptanmıştır [129]. Ander ve ark.'nın 2001'deki çalışmasında ise VGB özellikle nöronal hipokampal hasara karşı etkin olarak bulunurken, entorinal kortekste hasarlanmaya yol açtığı saptanmıştır [130]. Bir başka çalışmada gerbillerde geçici global iskemi modelinde nöroproteksiyonda etkin bulunmuştur [131].

Literatür bilgileri özetlendiğinde, yapılan çalışmaların 5'inde [125,127,131, Shuaib ve ark 1992, Abel ve ark. 1992] VGB nöronal iskemide nöroproteksiyon açısından etkin bulunmuş iken, 3 çalışmada [126,129,130] etkinliği saptanamamış, 2 çalışmada da etkin olabileceği [124,128]

gösterilmiştir. Nöronal iskemideki toksik olabilecek etkileri de 2 çalışma ile [129,130] ortaya çıkarılmıştır.

VGB'in spinal iskemiye etkisini araştıran bir çalışma henüz yapılmamıştır. Ancak mevcut kranial nöronal iskemi ve hasarlanma çalışmalarına bakılarak spinal iskemiye etkisi yorumlanabilir. Mevcut yapılan çalışmalara bakılacak olursa ilk bakışta VGB'in nöronal proteksiyona etkisinin olumlu düşünülse de bu tam olarak anlaşılamamıştır. Mevcut çalışmaların deney modellerinin bazıları iyi tasarlanmamıştır ve ilacın klinik kullanım dozundan çok daha yüksek dozlarda kullanıldığı çalışmalar mevcuttur [126,127,129]. Ancak buna karşın ilacın bazı çalışmalarda kortikal zedelenmeye neden olduğu ve aksonal dejenerasyon, myelin vakuolizasyon gibi hücre yapısını bozacak etkilerinin olabileceği de açığa kavuşturulmuştur [129,130]. İlacın bu tartışmalı etkilerini araştırmak ve spinal iskemiye olan etkisini incelemek için bu çalışma yapıldı. Çalışmamızda ilacın olağan kullanım dozu olan 50mg/kg/gün ve maksimum klinik kullanım dozu olan 150mg/kg/gün dozları iki grupta kullanıldı ve kontrol ve İ/R grubuyla karşılaştırıldı.

Nöronal hasarda önemli rol oynayan oksidatif stres ürünleri, antioksidanlar tarafından azaltılır. Antioksidanlar; oksidanları engellemeden önce canlı biyolojik hedefler ile reaksiyona girerler, zincir reaksiyonlarını önlerler, oksijenin yüksek reaktif ürünler oluşturmasını önlerler. Biyolojik sistemler, enzimatik sistemlerin gelişmesi SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer antioksidanların kombinasyonu ile oksidatif hasara karşı korunurlar [132]. Antioksidanların azalması, SOR yapımının artması ya da her ikisinin birlikte olması halinde SOR

yeterince ortadan kaldırılamaz ve oksidatif stres oluşur [133]. Hücrelerde GSH yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve çeşitli stres cevaplarından sorumludur. GSH aynı zamanda toksinlere karşı savunmada vital bir role sahiptir [134].

Çalışmamızda, antioksidan olarak görev yapan, doku ve plazmada GSH ve SOD ölçümleri değerlendirildi. Hem doku hem plazma ölçümlerinde, düşük doz grubunda, her iki antioksidanın kontrol grubuna benzer şekilde, İ/R grubundan yüksek olduğu görüldü. Yüksek doz uygulamasının doku SOD ve plazma GSH düzeylerini anlamlı olarak artırdığı görülmüştür. Ancak yT grubunda ilaç uygulamasının doku GSH düzeyini dT grubundan daha çok yükseldiği saptanmıştır. Plazma SOD değerlerine bakıldığında ise yT grubu, İ/R grubuyla karşılaştırıldığında, plazma SOD düzeylerinde anlamlı olmayan bir artışa neden olduğu saptanmıştır.

MDA oksidatif hasarın belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan markerdir [135,136]. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkan MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olup, lipidler, proteinler ve nükleik asitler ile çapraz bağlanmaya neden olarak membran özelliklerini değiştirir, nöronal hasarda ve pek çok hastalığın etyopatogenezinde rol oynar [137, 138]. Biz de spinal İ/R modelimizde serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olan doku ve plazma kaynaklı MDA düzeylerini değerlendirerek VGB'in koruyucu etkisine baktık. MDA düzeyleri incelendiğinde; dT grubunda doku ve plazmada MDA düzeylerinin kontrol grubuna benzer şekilde olduğu, İ/R grubunu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. yT grubunda doku

MDA düzeyleri, düşük doza benzer şekilde İ/R grubuna göre anlamlı olarak azalırken, plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna benzer şekilde olmasına rağmen, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olmayan bir azalma saptanmıştır.

Protein oksidasyonunun yeni bir belirteci olan AOPP (ileri düzey oksidasyon protein ürünleri), ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır [139]. AOPP düzeylerinin, protein oksidasyonunun göstergesi olan ditirozin ve ileri glikasyon son ürünü olan pentozidin düzeyleri ile kolerasyon gösterdiği fakat lipid peroksidasyon belirteçleri ile kolerasyon göstermediği belirtilmiştir [140]. Çalışmamızda, AOPP'nin doku ve plazmada ölçümleri yapılmış olup, İ/R grubunda doku ve plazmada AOPP düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Düşük doz tedavi grubunda doku ve plazmada AOPP düzeylerinin kontrol grubuna benzer şekilde olduğu, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında ise anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Yüksek doz tedavi grubunda plazma AOPP düzeylerinin kontrol grubuna benzer şekilde, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı, buna karşın doku düzeylerinde benzer etkilere neden olmasına rağmen bu azalmanın anlamlı olmadığı görülmüştür.

NO küçük, difüze olabilen ve NOS olarak adlandırılan enzimler aracılığı ile L-argininden sentezlenen serbest radikaldır. Makrofaj, lenfosit, nötrofil ve monositlerde uyarılabilir NOS fonksiyonuna bağlı olarak yoğun miktarda yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, organizmada bir çok fizyolojik ve

fizyopatolojik olayların regülasyonunda NO'nın önemli rolleri üstlendiği görülmüştür. Moleküler yapısının küçük olması nedeniyle NO ideal bir intersellüler ve transsellüler aracı moleküldür. Yüksek konsantrasyonlardaki NO, proteinlerin yapısındaki geçiş metallerine bağlanarak, peroksinitrit üreterek, N-nitroso bileşiklerini oluşturarak toksik etkiye katkıda bulunur [141-144]. Bizim çalışmamızda da, doku ve plazmada NO düzeyi değerlendirildi. İ/R grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükselirken, dT grubunda kontrol grubuna benzer düzeylere yaklaştığı ve İ/R grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. Yüksek doz tedavi grubunda plazma NO düzeylerinde düşük doza benzer şekilde, İ/R grubuna göre anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Doku NO değerlerinde ise kontrol grubuna benzer düzeyler saptanırken, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olmayan azalma bulunmuştur.

Çalışmamızda düşük doz VGB uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarında spinal kord dokusunda ve plazmada GSH düzeyleri ile SOD enzim aktivitesinde bir artışa yol açarak antioksidan kapasitenin artışına neden olduğu, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu azaltarak serbest radikal düzeylerini düşürüp, organı koruduğu gösterilmiştir. Yüksek doz uygulamasının da düşük doz uygulaması kadar anlamlı olmasa da benzer etkileri görülmüştür.

Biz araştırmamızda, histolojik değişiklikleri hem istatistiksel olarak daha iyi ortaya koymak hemde daha objektif bir değerlendirmeye almak için derecelendirme yolunu tercih ettik. Buna göre histolojik değerlendirme sonuçları üç derece halinde ortaya konulmuştur. Bu amaçla Simpson ve ark.'nın uyguladığı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır [145]. Histolojik inceleme esnasında ön

boynuz motor nöronlarından 10 tanesi randomize olarak seçilmiş ve hemen periferindeki aksonlar incelenmiştir. Normal spinal kord bulguları için Grade 1, orta derecede aksonal şişme, nadir mononükleer hücre-astrosit infiltrasyonu ve az sayıda hasar nöron varlığında (5>) Grade 2, ve aşırı aksonal şişmeye ek olarak yaygın nekrotik nöronların varlığı (5<) ve yoğun mononükleer hücre-astrosit infiltrasyonu tespit edildiğinde ise Grade 3 olarak kabul edildi. Derecelendirme yardımıyla histolojik değişiklikler nümerik hale getirilerek istatistiksel derecelendirmeye alındı. Histolojik değişiklikler daha öncede belirtildiği gibi özellikle kros klemp uygulanan gruplarda ve lumbal segmentlerde yoğunlaşmaktadır. İskemik hasarın oluşması ile histolojik değişikliklerin birlikteliği ve bu değişikliklerin derecelendirme yöntemi ile ortaya konması oldukça önemli bulgulardır.

Histolojik değerlendirme skorlarına bakıldığında, dT grubunda hasarlı nöron, hasarlı akson ve mononükleer hücre-astrosit infiltrasyonunun, iskemi reperfüzyon grubundan daha az olduğu izlenmiştir. Yüksek doz tedavi grubu, dT grubu ile kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte aksonal dejenerasyon ile ilgili anlamlı fark saptanmıştır. ***Yüksek doz grubunda hasarlı akson miktarının daha çok görülmesi daha önce bazı benzer yayınlarda da konu edildiği üzere aksonal vakuolizasyona bağlanmıştır. Çünkü yT grubunda histopatolojik gözleminde aksonlarda yoğun vakuolizasyon gözlenmiştir.*** Nörolojik muayene takibinde sıklıkla kullanılan Tarlov skoru değerlendirmesinde, zaten beklendiği üzere, iskemi, dT ve yT gruplarında ilk saatlerden itibaren ciddi defisitler ile karşılaşıldı. 6, 24 ve 48. saat değerlendirmelerinde, İ/R grubuna

kıyasla, düşük doz tedavi grubunda bir miktar nörolojik düzelme gözlenirken yüksek doz grubunda nörolojik gerileme gözlenmişti. Bu nörolojik kusur artışının, yüksek doz VGB'in aksonlar üzerine toksik etkisinden olabileceği öngörülebilir. Biyokimyasal analizde bazı parametreler açısından her iki dozun da anlamlı olması VGB'in doz bağımsız olarak GABA-T'yi inhibe etmesinden olabilir. Her ne kadar biyokimyasal çalışmamızda benzer etkili olarak saptansa da nörolojik fonksiyonun yüksek doz grubunda daha kötü olmasının nedeni VGB'in yüksek dozda gösterebileceği aksonal toksisitedir.

Bulgular göstermektedir ki, spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında, biyokimyasal, histopatolojik ve nörolojik değerlendirmelere dayanarak, düşük doz VGB uygulanmasının kullanımı ile hasarın şiddeti azalmaktadır. Yüksek doz kullanımında prospektüs bilgileri dahilinde kullanılmasına karşın (150 mg/kg/gün) aksonal vakuolizasyon görülmüştür.

Sonuç olarak; çalışmamız spinal kordda iskemi-reperfüzyon ile antioksidan kapasitenin azaldığını buna karşılık VGB'in düşük doz uygulaması ile birlikte antioksidan kapasitenin artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu azaltarak nöroproteksiyon sağladığını göstermiştir.

Daha önce VGB, spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde denenmemiş olup, farklı çalışmalarda nöroproteksiyon açısından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Klinik kullanıma geçmesi için şüphesiz daha ileri çalışmalar gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991;75: 15-26
2. Li M, Ona VO, Chen M. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* 2000; 99:333-42
3. Hall ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg* 1986;64:951-61
4. Aydoğan S, Özer FÖ: Omuriliğin Vasküler Anatomisi ve Kan Akımı (Vascular Supply and Blood Flow of Spinal Cord) Editörler. M. Zileli, F.Özer. Omurilik ve Omurga Cerrahisi. 2. baskı. İzmir: META Basım Bölüm 7, 2002;87-91.
5. Snell RS: Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomi, İstanbul:Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, 2000;157-77
6. Gharagozloo F, Larson J, Dausmann MJ, Neville RF, Gome MN. Spinal Cord Protection during surgical procedures on the descending thoracic aorta. *Chest* 1996;109:799-809
7. Netter FH: Beyin ve omuriliğin anatomisi. In: Brass A, Ed. The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology. Elsevier Saunders, 2007; 36-66

8. Greenberg MS, *Anatomy In: Greenberg ed: Handbook of Neurosurgery, Sixth Edition, Ontario: Thieme, 2006; 68–93*
9. Koshino T, Murakami G, Morishita K, Mawatari T, Abe T. *Does the Adamkiewicz artery originate from the large segmental arteries? J Thorac Cardiovasc Surg 1999;117:898-903*
10. Wadouh F, Lindemann E.F, Arndt C.M, et al. *The arteria radicularis magna anterior as a decisive factor influencing spinal cord damage during aortic occlusion. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 1984; 88:1-10,*
11. Giglia JS- Zelenock GB, Daley L. *Prevention of paraplegia during thoracic aortic clamping: Importance of patent internal mammary arteries. J Vasc Surg 1994;19:1044-51*
12. Vaccaro AR, Ahmad SS, Rauschnig W, Garfin SR: *Anatomy and Pathophysiology of Spinal Cord Injury: Spine Trauma. Levine AM, Eismont FJ, Garfin SR, Zigler JE (ed) W.B. Saunders, Philadelphia, 1998;75–86*
13. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. *Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. Spine J 2004;4(4):451–64*
14. Taoka Y, Okajima K. *Spinal cord injury in the rat. Prog Neurobio. 1998; 56(3): 341–58*

15. 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* 2007; 9;144(3): 865–77
16. Ducker TB, Kindt GW, Kepme LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1971;35:700-8
17. Nemecek ST. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol* 1987;20:395-405
18. Kaptanoğlu E, Tator CH: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri (Strategies for neuroprotection after spinal cord injury) Omurilik ve omurga cerrahisi. Editörler: M. Zileli, F.Özer. Bölüm 63, Sayfa:813-832, İzmir, 2002.
19. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44: 1027–40
20. Bruce L. Gewertz. Improvements in intraoperative care in aortic surgery. In: John J. B, James S.T. Yao. *Aortic Surgery U.S.A.:Sounders Company.*:75-87, 1989
21. Svensson L.G, Crawford E.S. Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations, and statistical analyses. *Current Problems in Surgery* 1992; Part-I:819-89

22. With Jianping S: Ischemia, reperfusion, and no-reflow phenomenon. In: Svensson L.G, Crawford E.S, eds. *Cardiovascular and vascular disease of the aorta*. U.S.A. W.B. Saunders Company. 194-218, 1997.
23. Krause G.S, White B.C, Aust S.D, et al. Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. *Critical Care Med* 1988; 16:714-26
24. Choi D. Antagonizing excitotoxicity: a therapeutic strategy for stroke? *Mt Sinai J Med* 1998;65:133-8
25. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM: *Principles of biochemistry*, New York, Worth Publishers Inc. ed2. pp.268-97, 1993
26. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. *J Neurosurg* 1992;77:169-84
27. Symon L: The scientific basis of cerebral infarction. in: Suzuki J. *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke*, Sendai, Springer-Verlag Press, pp.237-9, 1987
28. Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG. Role of L-and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience* 2000; 99:179-88
29. Siesjö BK, Memezawa H, Smith ML. Neurocytotoxicity: pharmacological implications. *Fundam Clin Pharmacol* 1991;5:755-67
30. Siesjö BK, Smith ML. The biochemical basis of ischemic brain lesions. *Arzneim.-Forsch/ Drug Res* 1991;41:288-92

31. 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* 1996; 16 (2):545-52
32. Hollier LH. Protecting the brain and spinal cord. *J Vasc Sur.* 1987;5:524-8
33. Kirshner DL, Kirshner RL, Heggeness LM, De-Weese JA. Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion *J Vasc Surg.* 1989;9:305-8
34. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244:6049-55
35. Plaa GL, Witschi H. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Ann Rev Pharmacol* 1976;26:203-17
36. Majewska MD, Strosznajder J, Lazarewicz J: Effect of ischemia, aNO₂ and barbiturate anesthesia on free radical oxidation of mitochondrial phospholipids. *Brain Res* 1978;158:423-34
37. Michael C.M, Lorne H.B, Scott E.L, et al. Prevention spinal cord injury after repair of the thoracic or thoracoabdominal aorta. *Annals of Thoracic Surgery* 1995; 59:245-52
38. Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, Rodzen C, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Vasodilating prostalandins attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann Surg* 1989;Vol 209: 219

39. Ueda Y, Matsuo K, Kamei T, Ono H, Kayashima K, Tobimatsu M, Konomi K. Prostaglandin Ei but not E2 is cytoprotective of energy metabolism and reticuloendothelial function in the ischemic canine liver. *Trans Proc* 1987;19:1329-30,
40. Sundberg R, Lindell S, Jamieson NV, Southard JH, Beizer FO. Preservation of rabbit livers by continuous hypothermic perfusion after donor pretreatment with chlorpromazine and methylprednisolone. *Trans Proc* 1988;20:998
41. Steininger R, Mühlbacher F, Rauchs R, Roth E, Bursch W. Protective effect of PG h and diltiazem on liver ischemia and reperfusion in pigs. *Trans Proc* 1988;20:999-1002
42. Ueda Y, Matsuo K, Kamei T, Kayashima K, Konomi K. Protective effect of prostaglandin Ei on energy metabolism and reticuloendothelial function in the ischemically canine liver. *Liver* 1989;9:6-13
43. Alvarez-Lopez A, de Hemptine B, Hoebke Y, Lambottc L. Prostaglandin E2 increases the tolerance of the rat liver to warm ischemia in absence of splanchnic congestion, *Trans Proc* 1987;19:4105
44. Ontell SJ, Makowka L, Trager J, Mazzaferro V, Ove P, Starzl TE. Pharmacologic modulation of experimental postischemic hepatic function. *Ann Surg* 1989;209:200
45. Jeffrey A. H, Scott E.L, Irving L.K, et al. Complete prevention of postischemic spinal cord injury by means of regional infusion with

hypothermic saline and adenosine. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 1994;107:536-42

46. Qayumi A.K, Michael T.J, Katerina D. Additive effect of allopurinol and deferoxamine in the prevention of spinal cord injury caused by aortic crossclamping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 1994;107:1203-9*

47. Moore W.M Jr, Hollier L.H. The influence of severity of spinal cord ischemia in the etiology of delayed-onset paraplegia. *Annals of Surgery 1991; 213:427-31*

48. Svensson LG, Crawford ES, Hess KR. Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *Journal of Vascular Surgery 1993;17:357-70*

49. Livesay J.J, Cooley D.A, Ventemiglia R.A: Surgical experience in descending thoracic aneurysmectomy with and without adjuncts to avoid ischemia. *Annals of Thoracic Surgery 1995;39:37-46,*

50. Katz N.M, Blacstone E.H, Kirklin J.W. Incremental risk factors for spinal cord injury following operation for acute traumatic aortic transection. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery 1981;81:669-74*

51. Hollier L.H, Symmonds J.B, Pairolero P.C. Thoracoabdominal aortic aneurysm repair: analysis of postoperative morbidity. *Arch Surgery 1988;123:871- 5*

52. Nicholas TK. Spinal cord ischemic injury: Is it preventable? *Seminars in Thoracic Cardiovascular Surgery 1991;3:323-8*

53. Duhaylongsod FG, Glower DD, Wolfe WG. Acute traumatic aortic aneurysm: the Duke experience from 1970 to 1990. *J Vasc Surg* 1992;15:331-43
54. Hilgenberg AD, Logan DL, Akins CW, et al. Blunt injuries of the thoracic aorta. *Ann Thorac Surg* 1992;53:233-9
55. Svensson LG, Patel V, Robinson MF, et al. Influence of preservation or perfusion of intraoperatively identified spinal cord blood supply on spinal motor evoked potentials and paraplegia after aortic surgery. *Journal of Vascular Surgery* 1991;13:355-65
56. Svensson LG, Klepp P, Hinder RA. Spinal cord anatomy of the baboon: comparison with man and implications of spinal cord blood flow during aortic crossclamping. *S Afr J Surg* 1986;24:32-4
57. Sun J, Hirsh D, Svensson G. Spinal cord protection by papaverine and intrathecal cooling during aortic crossclamping. *J Cardiovascular Surgery* 1998;39:839-42
58. Farid C, Joel L, Mary JD, et al. Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Chest*. 1996;109:799-809

59. Maughan RE, Mohan C, Nathan IC, et al. Intrathecal perfusion of an oxygenated perfluorocarbon prevents paraplegia after aortic occlusion. *Ann Thorac Surg* 1992;54:815-25
60. Heinemann MK, Brassel F, Herzog T, et al. The role of spinal angiography in operations on the thoracic aorta: Myth or reality ? *Ann Thorac Surg* 1998;65:346-51
61. Koshino T, Murakami G, Morishita K, et al. Does the Adamkiewicz artery originate from the larger segmental arteries? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;117:898-905
62. Svensson LG, Hess KR, Coselli JS, et al. A prospective study of respiratory failure after high-risk surgery on the thoracoabdominal aorta. *Journal of Vascular Surgery* 1991;14:271-82
63. Hollier LH, Moore WM. Avoidance of renal and neurologic complications following thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Acta Chir Scand, Suppl.* 1990;555:129-35
64. Haan P, Kalkman CJ, Meylaerts SAG, et al. Development of spinal cord ischemia after clamping of noncritical segmental arteries in the pig. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1278-84
65. Griepp RB, Ergin MA, Galla JD, et al. Looking for the artery of Adamkiewicz: a quest to minimize paraplegia after operations for aneurysms of the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:1202-13

66. Blaisdell FW, Cooley DA. *The mechanism of paraplegia after temporary thoracic aortic occlusion and its relationship to spinal fluid pressure. Surgery* 1962;51:351-5
67. McCullough JL, Hollier LH, Nugent M. *Paraplegia after thoracic aortic occlusion: influence of cerebrospinal fluid drainage. J Vasc Surg* 1988;7:153-60
68. Crawford ES, Svensson LG, Hess KR, et al. *A prospective randomized study of cerebrospinal fluid drainage to prevent paraplegia after high-risk surgery on the thoracoabdominal aorta. J Vasc Surg* 1990;13:36-46
69. Gangemi JJ, Kern JA, Ross SD, et al. *Retrograde perfusion with a sodium channel antagonist provides ischemic spinal cord protection. Ann Thorac Surg* 2000;69:1744-9
70. Rokkas CK, Kouchoukos NT. *Profound hypothermia for spinal cord protection in operations on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 1998;10:57-60
71. Robertazzi RR, Cunningham JN. *Intraoperative adjuncts of spinal cord protection. Semin Thorac Cardiovasc Surg* 1998;10:29-34,
72. Frank SM, Beattie C, Christopherson R, et al. *Unintentional hypothermia is associated with postoperative myocardial ischemia. The Perioperative Ischemia Randomized Anesthesia Trial Study Group. Anesthesiology* 1993;78:468-76

73. Frank SM, Parker SD, Rock P, et al. Moderate hypothermia, with partial bypass and segmental sequential repair for thoracoabdominal aneurysm. *J Vasc Surg* 1994;19:687-97
74. Berguer R, Porto J, Fedoronko B, Dragovic L. Selective deep hypothermia of the spinal cord prevents paraplegia after aortic cross-clamping in the dog model. *J Vasc Surg* 1992;15:62-72
75. Maughan RE, Mohan C, Nathan IM, et al. Intrathecal perfusion of an oxygenated perfluorocarbon prevents paraplegia after aortic occlusion. *Ann Thorac Surg* 1992;54:818-25
76. Ross SD, Kern JA, Gangemi JJ, Laurent CR, et al. Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cool the spinal cord and reduces the risk of paraplegia after thoracic aortic clamping. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;119:588-95
77. Svensson LG, Crawford ES. Pathophysiology of aortic crossclamping and influence of spinal cord anatomy. In: Svensson LG, Crawford ES, eds. *Cardiovascular and vascular disease of the aorta*. USA, WB Saunders Company, 226-47, 1997.
78. Aşkın Ender Topal, Ayşe Yıldırım, Özlem Pamukçu, Gönül Ölmez. Aort Cerrahisinde Fenitoin ile Spinal Kord Korunması. *Dicle Tıp Dergisi* 2004; Cilt:31, Sayı:3, (7-14)
79. Omurilik Yaralanmasında Farmakolojik Tedavi. Omurilik ve Omurga Cerrahisi 2. Baskı, Cilt 1, Bölüm: Sayfa:837. Editörler: Mehmet Zileli, A.Fahir Özer. İzmir, 2002.

80. Chan P.H, Longar S, Fishman R.A: *Protective effects of liposom entrapped superoxide dismutase on post-traumatic brain edema. Ann Neurol* 1987;21:540- 7
81. Lerner JT, Salamon N, Sankar R. *Clinical profile of VGB as monotherapy for the treatment of infantile spazms. Neuropsychiatric Disease and Treatment.* 2010;6:731–40
82. Tronlar MK, Malek R, Chrooecinska M, Nowak S, BŁaszczyk B, Czuczwas J R._*Neuroprotective effects of antiepileptic drugs. Pol. J. Pharmacol.,* 2002, 54, 557–66
83. Tarlov IM: *Acute spinal cord compression in paralysis. J Neurosurg* 1972;36:10-20
84. Casini A, Ferrali M, Pompella A, et al, *Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissue of bromobenzene intoxicated mice, Am. J. Pathol.* 1986 ; 123 : 520 - 531.
85. Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H, *The effects of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats, Toxicology.* 1985; 36: 71-76.
86. Sun Y, Oberley LW, Li Y, *A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, Clin. Chem.* 1988; 34(39): 497–500.
87. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ, *Protein measurement with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem.* 1951; 193(1): 265-275.

88. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B, Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, *Kidney Int.* 1996; 49(5): 1304-1313.
89. Taşkıran D, Kutay FZ, Sozmen E, Pogun S, Sex difference in nitrite/nitrate levels and antioxidant defense in rat brain, *Neuro Report.* 1997; 8: 881-884.
90. Miranda KM, Espey MG, Wink DA, A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite, *Nitric Oxide.* 2001; 5(1): 62-71.
91. Kurtel H, Granger D, Tso A, Grisham MB, Vulnerability of intestinal fluid the oxidant stres, *Am j Physiol.* 1992; 263: G573-G578.
92. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M, Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood, *Am J Obstet Gynecol.* 1979; 135(3): 372-376.
93. Spetzler RF, Graham TAV, Nehls DG: Overview of cerebral ischemia: ationale for cerebral protection. in: Suzuki J. *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke.* Sendai, Springer-Verlag Press, pp. 231-5 1987
94. Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke.* 1996;27:1124-9

95. Tetik Ö, Gürbüz A. Spinal Kord Korunması. *Journal of Turkish Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2000;8:587-92
96. Gelman S. The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping. *Anesthesiology* 1995;82:1026-60
97. Stys PK. White matter injury mechanisms. *Curr Mol Med* 2004;4:113–30
98. Ouardouz M, Nikolaeva MA, Coderre E, et al. Depolarization-induced Ca^{2+} release in ischemic spinal cord white matter involves Ltype Ca^{2+} channel activation of ryanodine receptors. *Neuron* 2003;40:53–63
99. Tomes DJ, Agrawal SK. Role of Na^{+} – Ca^{2+} exchanger after traumatic or hypoxic/ischemic injury to spinal cord white matter. *Spine J* 2002;2:35–40
100. Caparrelli DJ, Cattaneo SM 2nd, Bethea BT, et al. Pharmacological preconditioning ameliorates neurological injury in a model of spinal cord ischemia. *Ann Thorac Surg* 2002;74:838–44
101. Roseborough G, Gao D, Chen L, et al. The mitochondrial K–ATP channel opener, diazoxide, prevents ischemia–reperfusion injury in the rabbit spinal cord. *Am J Pathol* 2006;168:1443–51
102. Lee CJ, Kim KW, Lee HM, et al. The effect of thalidomide on spinal cord ischemia/reperfusion injury in a rabbit model. *Spinal Cord* 2007;45:149
103. Kawanishi Y, Okada K, Tanaka H, et al. The adverse effect of back-bleeding from lumbar arteries on spinal cord pathophysiology in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133:1553–8

104. Shi E, Kazui T, Jiang X, et al: NS-7, a novel Na⁺/Ca²⁺ channel blocker, prevents neurologic injury after spinal cord ischemia in rabbits. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:364–71
105. Shi E, Jiang X, Kazui T, et al: Controlled lowpressure perfusion at the beginning of reperfusion attenuates neurologic injury after spinal cord ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133:942–8
106. Crawford E.S, Coselli J.S, Hazim J. S: Thoracoabdominal aortic aneurysm. In: Rutherford R.B, eds. *Vascular Surgery* third ed. U.S.A: Saunders Company. 927-42, 1989.
107. Scott D. Ross, John A. Kern, James J. Gangemi et al. Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cools the spinal cord and reduces the risk of paraplegia after thoracic aortic clamping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2000;119:588-9,
108. Rhee RY, Gloviczki P, Cambria RA, et al. The effects of nimodipine on ischemic injury of the spinal cord during thoracic aortic crossclamping. *Int Angiol* 1996;15:153–161
109. Burns LH, Jin Z, Bowersox SS. The neuroprotective effects of intrathecal administration of the selective N-type calcium channel blocker ziconotide in a rat model of spinal ischemia. *J Vasc Surg* 1999;30:334–43
110. Matsushita K, Wu Y, Qiu J, et al: Fas receptor and neuronal cell death after spinal cord ischemia. *J Neurosci* 2000;20:6879–87
111. Marsala M, Sorkin LS, Yaksh TL. Transient spinal ischemia in rat: characterization of spinal cord blood flow, extracellular amino acid release,

- and concurrent histopathological damage. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994;14:604–14
- 112.Hirose K, Okajima K, Taoka Y, et al. Activated protein C reduces the ischemia/reperfusion induced spinal cord injury in rats by inhibiting neutrophil activation. *Ann Surg* 2000;232:72–280
- 113.Danielisová V, Chavko M. Comparative effects of the N-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 and the calcium channel blocker KB-2796 on neurologic and metabolic recovery after spinal cord ischemia. *Exp Neurol* 1998;149: 203–8
- 114.Schittek A, Bennink GB, Cooley DA, et al. Spinal cord protection with intravenous nimodipine. A functional and morphologic evaluation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:1100–05
- 115.Toumpoulis IK, Papakostas JC, Matsagas MI, et al. Superiority of early relative to late ischemic preconditioning in spinal cord protection after descending thoracic aortic occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;128:724–30
- 116.Cassada DC, Tribble CG, Long SM, et al: Adenosine A2A agonist reduces paralysis after spinal cord ischemia: correlation with A2A receptor expression on motor neurons. *Ann Thorac Surg* 2002;74:846–9
- 117.Bernasconi R, Klein M, Martin P, et al. Gamma-vinyl GABA: Comparison of neurochemical and anticonvulsant effects in mice. *J NeuralTransm* 1988;72:213–33

- 118.Platt SR, *The role of glutamate in central nervous system health and disease – A review*, *The Veterinary Journal* 2007; 173:278–86
- 119.Hassel B, Dingledine R. *Glutamate* In. Albers RW, Brady ST, Price DL eds. *Basic neurochemistry*. 7th edition. Canada :Elsevier, 2006; 267–90
- 120.Schwartz-Bloom RD, Sah R. *gamma-Aminobutyric acid (A) neurotransmission and cerebral ischemia*. *J Neurochem*. 2001;77:353–71
- 121.Calabresi P, Cupini LM, Centonze D, Pisani F, Bernardi G. *Antiepileptic drugs as possible neuroprotective strategy in brain ischemia*. *Ann Neurol*. 2003;53:693–702
- 122.Green AR, Hainsworth AH, Jackson DM. *GABA potentiation: a logical pharmacological approach for the treatment of acute ischaemic stroke*. *Neuropharmacology* 2000;39:1483–94
- 123.Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G. *On the mechanisms underlying hypoxia-induced membrane depolarization in striatal neurons*. *Brain* 1995;118:1027–38
- 124.Kim DS, Kwak SE, Kim JE, Won MH, Kang TC. *The co-treatments of VGB and P2X receptor antagonists protect ischemic neuronal cell death in the gerbil hippocampus* *Brain Research* 2006;151-60
- 125.Costa et al. *Coactivation of GABAA and GABAB Receptor Results in Neuroprotection During In Vitro Ischemia Stroke* 2004;35;596-600

- 126.Madden K, Clark W, Lessov N. Failure of Ischemic Neuroprotection by Potentiators of Gamma-aminobutyric Acid*Clinical Medicine & Research* 2003;1(2): 119-24
- 127.Kubova H, Mares P. Hypoxia-induced changes of seizure susceptibility in immature rats are modified by VGB, *Epileptic Disord* 2007; 9: 36-43
- 128.Leker RR, Neufeld MY. Anti-epileptic drugs as possible neuroprotectants in cerebral ischemia, *Brain Research Reviews* 2003;187–203
- 129.Sidhu SR, Del Bigio MR, Tuor UI, Seshia SS. Low-Dose VGB (g-Vinyl GABA)-Induced Damage in the Immature Rat Brain. *EExperimental Neurology* 1997;44: 400–5
- 130.Ander V, Ferrandon A, Marescaux C, Nehlig A. VGB protects against hippocampal damage but is not antiepileptogenic in the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research* 2001; 47:99–117
- 131.Shuaib A., Waqaar T., Ijaz M.S., Kanthan R., Wishart T., Howlett W. Neuroprotection with felbamate: a 7- and 28-day study in transient forebrain ischemia in gerbils. *Brain Res* 1996; 727: 65–70
- 132.Frenkel K. Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. *Pharmac Ther* 1992;53:127-66
- 133.Harris C. Individual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis* 1989;10:1563-66
- 134.Wu G., Fang Y.Z., Yang S. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 2004;134(3), 489-92

- 135.Basu, A.K. Marnett, L.J. Unequivocal Demonstration that Malondialdehyde is A Mutagen. *Carcinogenesis* 1983;4(3): 331-3
- 136.Shimizu T. Kondo K. Hayaishi O. Role of Prostaglandin Endoperoxides in The Serum Thiobarbituric Acid Reaction. *Arch Biochem Biophys* 1981;206(2):271-376
- 137.Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashok S, Husain SA. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2000;59:163–70
- 138.Gonenc A, Ozkan Y, Torun M, Simsek B. Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *J Clin Pharm Ther* 2001;26:141–44
- 139.Alderman CJ, Shah S, Foreman JC, Chain BM, Katz DR. The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radic Biol Med* 2002;325:377-85,
- 140.Friedlander MA, Witko-Sarsat V, Nguyen AT, Wu YC, Labrunte M, Verger C et al. The advanced glycation endproduct pentosidine and monocyte activation in uremia. *Clin Nephrol* 1996;45 6 :379-82
- 141.Tamir S,Tannenbaum SR: The role of nitric oxid (NO) in the carcinogenic process. *Biochim Biophys Acta* 1996;1288:F31-6
- 142.Türktaş H. Astma Patogenezi, Bozkır Matbaacılık, S. 1996.
- 143.Erbaş D. Nitric Okside, *Gazi Medical Journal*, 1998;9 (1):1-11,
- 144.Salvemini D, Masini E, Anggard E, Mannaioni PF, Vane J. Synthesis of a nitric oxide factor from L-arginine by rat serosal mast cells: stimulation of

guanylate cyclase and inhibition of platelet aggregation. Biochem Biophys Commun 1990;169:596-601

145.Simpson JL, Eide TR, Scnff GA, et al. *Effect of nitroglycerin on spinal cord ischemia after thoracic aortic cross-clamping. Annals of Thoracic Surgery 1996;61:113-7,*

ÖZGEÇMİŞ

ADI VE SOYADI : EMRE DURDAĞ

DOĞUM YERİ / TARİHİ : İZMİT 15/07/1980

MEDENİ HALİ : Evli

MESLEK : Tıp doktoru

BRANŞ : Beyin ve Sinir Cerrahisi

YABANCI DİLİ : İngilizce

EV ADRESİ : 16,SOKAK ATA APT. 22/3

BAHÇELİEVLER/ANKARA

TELEFON (EV) : 0 312 2211980

CEP TEL : 0 505 7725768

e-mail : emredurdag@yahoo.com

AİLE BİLGİLERİ : Anne adı:Serpil Durdağ, 61, Felsefe ve Rehberlik
öğretmeni

Baba adı: Ali Durdağ (vefat),Makine Mühendisi

EĞİTİM:

1986 -1991 / İlk öğrenim = Gazi Paşa İlkokulu, Mersin

1991 -1995 / Orta öğrenim = Özel Arı Ortaokulu, Ankara(Burslu)

1995 -1998 / Lise öğrenim = Arı Fen Özel Lisesi, Ankara (Burslu)

1998 -2004 / Üniversite = Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

2004 - / İhtisas = Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi A.D

Uluslararası yayınlar:

1. **Radiological and histopathological comparison of microporous polysaccharide hemospheres and oxidized regenerated cellulose in the rabbit brain: a study of efficacy and safety.**Emmez H, Tonge M, Tokgoz N, Durdag E, Gonul I, Ceviker N. Turk Neurosurg. 2010 Oct;20(4):485-91. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.3300-10.2.
2. **Neuroprotective effects of gabapentin in experimental spinal cord injury.** Emmez H, Börcek AÖ, Kaymaz M, Kaymaz F, Durdağ E, Civi S, Gülbahar O, Aykol S, Paşaoğlu A.World Neurosurg. 2010 Jun;73(6):729-34.
3. **Immunomodulatory effectiveness of azithromycin in prevention of postlaminectomy epidural fibrosis.** Emmez H, Börcek A, Durdağ E, Uyar PG, Kaymaz M, Aykol S.Neurol Res. 2010 Aug 31. [Epub ahead of print]
4. **Anti-apoptotic and neuroprotective effects of alpha-lipoic acid on spinal cord ischemia-reperfusion injury in rabbits.** Emmez H, Yildirim Z, Kale A, Töngge M, Durdağ E, Börcek AO, Uçankuş LN, Doğulu F, Kiliç N, Baykaner MK.Acta Neurochir (Wien). 2010 Sep;152(9):1591-600; discussion 1600-1. Epub 2010 Jun 10.
5. **Successful surgical treatment of medically refractory epilepsy after chemotherapy in a child with leukemia: a case report.**Arhan E, Kaya Z, Serdaroglu A, Ozcelik AA, Bilir E, Durdağ E, Kurt G, Albayrak M.Neurologist. 2010 Jan;16(1):41-3.
6. **The efficacy of vagal nerve stimulation in children with pharmacoresistant epilepsy: practical experience at a Turkish tertiary referral center.** Arhan E, Serdaroglu A, Kurt G, Bilir E, Durdağ E, Erdem A, Aksakal FN, Ozcelik A, Baykaner K. Eur J Paediatr Neurol. 2010 Jul;14(4):334-9. Epub 2009 Oct 21.

7. **The role of FloSeal in reducing epidural fibrosis in a rat laminectomy model.** Dogulu F, Durdag E, Cemil B, Kurt G, Ozgun G. *Neurol Neurochir Pol.* 2009 Jul-Aug;43(4):346-51.
8. **Intracerebral tension pneumocephalus complicating endoscopic sinus surgery:** case report. Emmez H, Durdag E, Uslu S, Pasaoglu A, Ceviker N. *Acta Neurochir (Wien).* 2009 Aug;151(8):1001-2. Epub 2009 Jun 10.

Ulusal Yayınlar:

1. **Pediatric Kafa Travmaları: Kafatası Kırıkları ve Büyüyen Kafatası Kırığı,** Dr. Emre DURDAĞ, Dr. M. Kemali BAYKANER, *Türkiye Klinikleri Pediatric Bilimler Dergisi* 2007, 3(1):8-16
2. **Yenidoğan Kafa Travmaları,** Dr. Emre DURDAĞ, Dr. Gökhan KURT, Dr. M. Kemali BAYKANER, *Türkiye Klinikleri Nöroşirurji özek Dergisi* 2008;1(1):63-71
3. **Citrobacter Freundii Abscess Mimicking Metastatic Brain Tumor In An Adult:** Case Report, Soner ÇİVİ, Emre DURDAĞ, Alp BORCEK, Ozgen AYDINCAK, Memduh KAYMAZ, *Gazi Medical Journal*, 21(2): 89-91, 2010