

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

**DENEYSEL SPİNAL KORD İSKEMİ-REPERFÜZYON
YARALANMASINDA İNFİLİKSİMABIN
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Çağatay GÜVEN

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Necdet ÇEVİKER**

ANKARA-2008

TEŞEKKÜR

Beyin ve Sinir Cerrahisi uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana desteğini esirgemeyen, çalışmalarımızı daha sağlıklı bir ortamda yapabilmemiz için mikrocerrahi araştırma laboratuvarını kliniğimize kazandıran tez danışmanım Prof. Dr. Necdet ÇEVİKER başta olmak üzere Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli hocalarım Prof. Dr. Aydın PAŞAOĞLU, Prof. Dr. Kemali BAYKANER, Prof. Dr. Şükrü AYKOL Prof. Dr. Toygun ORBAY, Doç. Dr. Fikret DOĞULU Doç. Dr. Memduh KAYMAZ, Yrd. Doç. Dr. Gökhan KURT Yrd. Doç. Dr. Hakan EMMEZ'e Histopatolojik incelemeleri yapan Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Neşe LORTLAR'a Biyokimyasal analizleri yapan Biyokimya Ana Bilim Dalı üyesi Dr. Zuhale Yıldırım ve asistanlık eğitimim boyunca çalıştığım Beyin ve Sinir Cerrahisindeki tüm hekim ve hemşire arkadaşlarıma saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Çağatay GÜVEN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİL RESİM VE GRAFİK DİZİNİ	viii
1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 İNSAN SPİNAL ANATOMİSİ	3
2.2 SPİNAL KORD KAN DOLAŞIMI.....	5
2.3 SANTRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYONUN FİZYOPATOLOJİSİ	8
2.3.1. İskemide Enerji Eksikliği Sonrası Gelişen Olaylar	9
2.3.1.1. Asidoz.....	10
2.3.1.2. Makromolekül Sentezinin Durması.....	10
2.3.1.3. İyon Dengesinin Bozulması	11
2.3.1.4. ATP Yıkım Ürünlerinin Birikimi	18
2.3.2. Reperfüzyonda Serbest Radikal Üreten Kaynaklar	18
2.3.2.1.Mitokondrial Elektron Transport Zincirinden Oksijen Kaçaklarının Artması.....	19
2.3.2.2. Vasküler Endotel Kaynaklı Ksantin Oksidaz Reaksiyon	19
2.3.2.3. Lökosit Aktivasyonu	20
2.3.2.4. Plazma Ve Organel Membranlarından Kaynaklanan Araşidonik Asid Kaskatı.....	21
2.3.2.5. Nitrik Oksid Sentaz Aracılı Serbest Radikal Oluşumu	21
2.4 AORTİK KROS KLEMPLEMENİN SPİNAL KORD ÜZERİNE ETKİLERİ	22
2.5 SPİNAL KORDU İSKEMİDEN KORUMA YÖNTEMLERİ	24
2.5.1. Spinal Kord Kan Akımının Sürdürülmesi	25
2.5.2. Spinal Kordun İskemiye Toleransının Artırılması	29
2.5.3. Reperfüzyon Hasarının Azaltılması.....	30

2.6 İNFİLİKSİMAB	31
3. GEREÇLER VE YÖNTEM	43
3.1 DENEY GRUBU	43
3.2 ANESTEZİ VE MONİTORİZASYON	43
3.3 İSTATİKSEL ANALİZ	44
3.4 CERRAHİ TEKNİK	44
3.5 FİZYOLOJİK PARAMETRELER	47
3.6 DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI	47
3.7 HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	49
3.8 BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ	50
4- BULGULAR	57
4.1. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI	57
4.2. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI	65
4.2.1. MDA Doku	65
4.2.2. SOD Doku	66
4.2.3. AOPP Doku	67
4.2.4. GSH Doku	68
4.3. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME (TARLOV SKALASI)	69
5- TARTIŞMA VE SONUÇ	71
6- ÖZET	77
7- KAYNAKLAR	78

KISALTMALAR

► ADP	:	Adenozin difosfat
► A-M	:	Astrosit mikrogial hücre
► AMPA	:	Amino3-hidroksi-metil-4-izoazopropiyonik asid
► APC	:	Antijen sunan hücreler
► ASA	:	Anterior spinal arter
► ATP	:	Adenozin trifosfat
► AOPP	:	İleri oksidasyon protein ürünleri
► C	:	Komplemen
► Ca	:	Kalsiyum
► cNOs	:	Nitrik oksit sentaz
► CYP	:	Sitokrom
► DAG	:	Diaçilgliserol
► EEG	:	Elektroensefologram
► eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
► GMP	:	Granüle membran protein
► GSH	:	Redükte glutasyon
► H2O2	:	Hidrojen peroksid
► HDL	:	Yüksek dansiteli lipoprotein
► HMG-CoA	:	3-Hidroksi-3-metil-koenzimA
► İ/R	:	İskemi reperfüzyon
► IL	:	İnterlökin
► L	:	Lökotrien
► LDH	:	Laktad dehidrogenaz
► LDL	:	Düşük dansiteli lipoprotein
► MBP	:	Myelin temel protein
► MMP	:	Matriks metalloproitenaz
► NA	:	Sodyum
► MDA	:	Metil –D- aspartat
► NO	:	Nitrik oksit

- ▶ **PAF** : Trombosit aktive edici faktör
- ▶ **PG** : Prostaglandin
- ▶ **PLC** : Fosfolipaz
- ▶ **SOD** : Süperoksit dismutaz
- ▶ **T** : Tedavi grubu
- ▶ **XO** : Ksantin oksidaz

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 2.1. Doku MDA analiz sonuçları.....	65
Tablo 2.2. Doku SOD analiz sonuçları	66
Tablo 3. Doku AOPP analiz sonuçları.....	67
Tablo 4: Doku GSH analiz sonuçları	68
Tablo 5: 6,12,24 saatlerde tarlov skalasına göre toplam denek sayılarının gruplara göre dağılımı.....	69

ŞEKİL RESİM VE GRAFİK DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil-1 Vertabranın yapısı.....	4
Şekil-2 Medulla spinalis ön ve arka kökler	5
Şekil 3: Spinal kordun kanlanması.....	6

RESİMLER

Resim 1: Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonda steril sahada operasyona alındı.....	44
Resim 2: Batın traş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfekte edildi.....	45
Resim 3: Batında uygulanan cilt insizyonu	45
Resim 4: Cerrahi mikroskop altında sol renal arter çıkışı altından aortaya abdominal klipaj uygulanması.....	46
Resim 5: Postmortem denekte aortun sol renal arter çıkışı altından ve bifurkasyon öncesinde klipajının abdominal aortanın diseksiyonu sonrasında görünüşü.....	46
Resim 6: Prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral geniş orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adelelerin laterallere sıyrılıp torakolomber bileşkeden itibaren sakral segmente kadar total laminektomi ile birlikte tüm posteriyor vertebral elemanlar çıkarıldıktan sonraki görünüm.....	48
Resim 7: Kordun lumbosakral segmentinin jilet kullanılarak çıkarılmış görünümü.....	48

- Resim 8:** Kontrol grubuna ait medulla spinalis izleniyor. Gri cevher (GC), beyaz cevher (BC), normal yapıda nöron gövdeleri (↑), kanalis santralis (*), çevresinde epandim hücreleri (▼) normal yapıda izleniyor (Bar: 10µm, Hematoksilen-Eozin). 59
- Resim 9:** Kontrol grubuna ait medulla spinalis gri cevheri izleniyor. Gri cevher, kanalis santralis, epandim hücreleri (▼), nöronlar (↑), Nissl cisimcikler (*), nöroglia hücreleri (↑↑) normal yapıda izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin) 59
- Resim 10:** Kontrol grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Aksonlar ve gliyal hücreler (↑) normal yapıda izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin)..... 60
- Resim 11:** İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis izleniyor. Multipolar özelliğini, çekirdeğini ve Nissl cisimciklerini yitirmiş, eozinofilik nöronlar (↑), genişlemiş ve şişmiş aksonal yapılar (*) dikkati çekiyor (Bar: 5 µm, Hematoksilen-Eozin). 60
- Resim 12:** İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis gri cevheri izleniyor. Nissl cisimciklerini yitirmiş nöronlar (*), morfolojisi bozulmuş nöronlar (▼), artmış nöroglia hücreleri (↑) dikkati çekiyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin). 61
- Resim 13:** İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Genişlemiş ve şişmiş aksonal yapılar (*) dikkati çekiyor (Bar: 5 µm, Hematoksilen-Eozin). 61
- Resim 14:** İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Artmış nöroglia hücreleri (↑) dikkati çekiyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin). 62
- Resim 15:** Tedavi grubuna ait medulla spinalis beyaz (BC) ve gri cevheri (GC), kanalis santralis (*) ve nöronları (↑) izleniyor (Bar: 10 µm, Hematoksilen-Eozin)..... 62

Resim 16: Tedavi grubuna ait medulla spinalis gri cevheri izleniyor. Normal yapıda nöronlar ve Nissl cisimcikleri (*), nöroglia hücreleri (↑) izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin).	63
Resim 17: Tedavi grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Normal yapıda aksonlar (*) ve nöroglia dokusu izleniyor (Bar: 10 µm, Hematoksilen-Eozin).	63
Resim 18: Tedavi grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Normal yapıda aksonlar ve nöroglia hücreleri (↑) izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin)	64

GRAFİKLER

Grafik 1: Ortalama doku MDA degerleri	65
Grafik 2: Ortalama doku SOD değerleri	66
Grafik 3: Ortalama doku AOPP değerleri	67
Grafik 4: Ortalama doku AOPP degerleri	68
Grafik 5: Ortalama tarlov skalası değerleri	69

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Spinal kord merkezi sinir sisteminin serebrum ve serebellumla birlikte diğer önemli bileşeni olup kranial merkezlerle periferik sinirleri organları birbirine bağlayan önemli yolları barındıran bir köprü gibi konumlanmıştır. Evrim süreci içerisinde önemini gereğini vurgularcasına kendini kemik bir yapı içerisinde korumaya almıştır. Buna rağmen gelişen dünya şartlarında daha sık karşılaşılan travmalar ve gelişen cerrahi tekniklerle birlikte daha komplike olgulara müdahale edilebilmesi nedeniyle spinal kord yaralanma riski hızla artmaktadır.

Kazalar sonrası gelişen spinal yaralanma ciddi mortalite ve morbidite ile seyreder. Omurilik yaralanmaları nedenleri arasında ilk sırayı motorlu araç kazaları (%46) ve sırasıyla ev ve iş kazaları (%22-27) spor kazaları (%7-23) ateşli silah ve kesici alet yaralanmaları ve diğerleri (%6-12) izlenmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir araştırmada her yıl yaklaşık 100.000 spinal kord vakasıyla karşılaşıldığı ve bir hastanın yaşamı boyunca ideal bakımı ve eğitiminin yaklaşık 1.5 milyon dolar masraf gerektirdiği ve tüm hastalar göz önüne alındığında 300-400 milyon dolar ekonomik gidere ulaştığı saptanmıştır.

Spinal kordda iskemiye neden olan en önde gelen cerrahiler kalp ve damar cerrahisinin torakal ve abdominal aortaya yönelik girişimleri, spinal arteriovenöz malformasyonlar ve spinal tümör cerrahisi oluşturmaktadır.

Spinal kordda oluşacak hasarı anlamak ve onunla mücadele etmek için anatomisini, fizyolojisini ve hasarlanma olaylarındaki patofizyolojiyi çok iyi bilmek gerektiği açıktır. Spinal kord travmasında primer ve sekonder hasarlanma mekanizmaları devreye girmektedir. Akut travmada kordda oluşan destrüksiyon ve primer hasarlanmayla mücadele etmek adına hala fazla bir tedavi seçeneği yoktur. Bu amaçla kalsiyum kanal blokörleri, opiat antagonistleri, sistemik glukokortikoidler, sistemik kan basıncının artırılması, antioksidanlar, yüksek doz metil prednizolon ve immobilizasyondan başka kendine yer edinmiş bir tedavi seçeneği yoktur.

Spinal kordun primer hasara uğradığı durumlarda yapabilecekler son derece sınırlıyken çaba daha çok nörolojik ve fonksiyonel iyileşmeyi en iyi şekilde sağlamak amacıyla sekonder hasarı önlemeye yönelik olmalıdır. İster dolaşımsal problemlere ister cerrahi girişimlere isterse taravmaya bağlı olsun iskemi, ilgili alanda doku hasarına yol açan bir olaydır. Dokunun iskemiye duyarlılığı ölçüsünde hasarın şiddetide değişir. Sinir dokusunda iskemiye dayanma süresi anaerobik kapasitelerindeki yetersizlikten dolayı diğer dokulara göre daha azdır. Reperfüzyon ise biyokimyasal mekanizmaların aracılık ettiği sekonder hasara neden olan bir olaydır. Tüm bu nedenlerden dolayı spinal kord ve aort cerrahisi sonrasında hasara engel olmak için iskemi süresi kısa tutulmalı, hızla kan akımı tekrar sağlanmalı ve reperfüzyonun yol açacağı istenmeyen reaksiyonlara engel olunmalıdır.

TNF, üzerinde en çok çalışılan sitokin ailesidir. TNF alfa ve TNF beta bu ailenin ilk üyeleridir. TNF doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regülasyonu, farklılaşma ve apoptoz süreçlerinde önemli rollere sahiptir. Endotel hücrelerinin bazı adezyon moleküllerini üretmesini arttırarak inflamatuvar hücrelerin damar adezyonunu sağlar. İnfiliksimab TNF alfaya yüksek afinite ile bağlanan bir kimerik insan monoklonal antikordur. Güçlü bir antienflamatuvar ajandır.

Çalışmamızda spinal iskemi ve reperfüzyon modelinde infiliksimab kullanılarak inflamatuvar hücrelerin vasküler endotele adezyonunu ve bunun sonucunda iskemi ve reperfüzyon hasarını önlemeyi amaçladık.

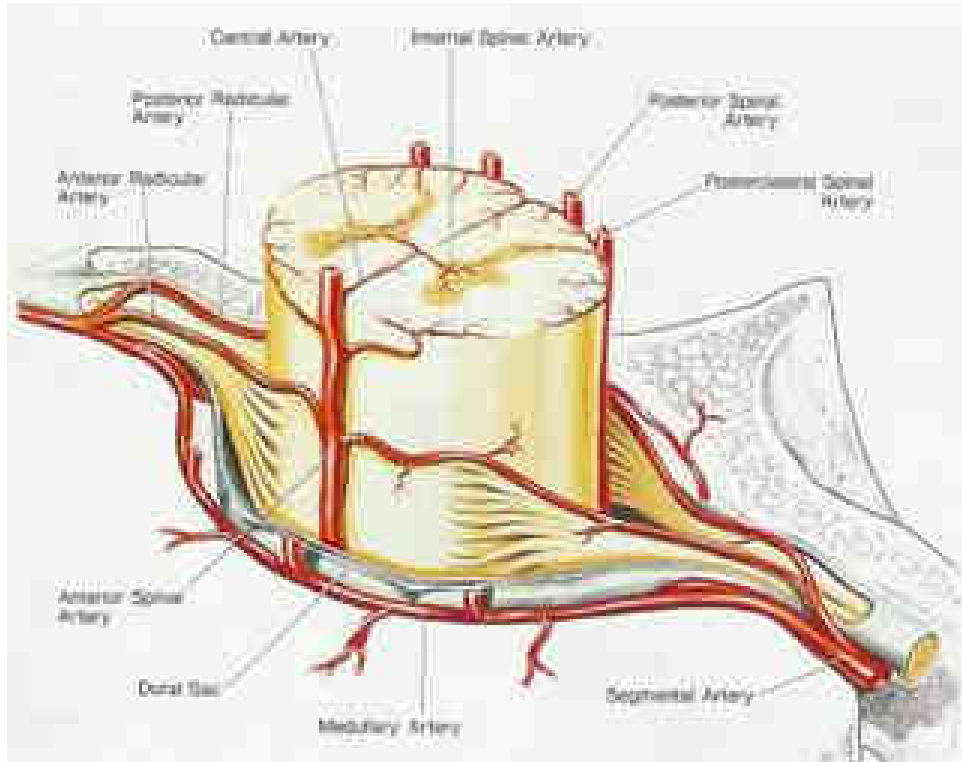
2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNSAN SPİNAL ANATOMİSİ

Spinal anatomiye çok iyi bilmenin, spinal travma ve iskemiye iyi anlamak ve onunla mücadele etmek için şart olduğu açıktır. Spinal kanal kemik vertebra cisimleri ve arkuslar tarafından oluşturulur. Spinal kanal, spinal kordu ve sinir köklerini, bunları besleyen damarları, spinal kordu saran zarları, yağ ve destek dokusunu çevreleyerek korur. Bu yapılar birbiri ile yakın ilişkide olup herhangi birinin cerrahi girişiminde diğeri de etkilenir.

Vertebral kolon boyun, sırt ve bel bölgesi iskeletini oluşturan üst üste yerleşmiş 33 adet omurun oluşturduğu bir yapı olarak ortasında oluşturduğu spinal kanal ile medulla spinalise , çıkan sinirlere, bunların besleyen damarlar ve saran meninkslere bir koruyucu kafes gibi fonksiyon görür. Erişkinde yaklaşık 72-75 cm uzunluğa sahiptir. Her bir vertebra önde yoğun bir kemik yapıya sahip olan gövde (korpus) arkada pediküller, laminalar ve spinoz çıkıntıların oluşturduğu kemerden (arkus) oluşmuştur. Korpusun arka yüzü ile arkus ortada vertebral kanalı oluştururlar. Pediküllerin üst ve altlarındaki oluklar olan insisura vertebralis superior ve inferiorlar birleşerek de intervertebral foramenleri oluştururlar ki bu foramenlerden spinal sinir kökleri ve eşlik eden vasküler yapılar geçer. (şekil-1)

kan akımı oksijen ve karbondioksit parsiyel basınçlarındaki değişmelerden serebral kan akımına benzer şekilde etkilenir. Kan akımı hipokapnide azalırken, hipoksidede vazodilatasyon sonucu artar. Otoregölasyon ve kimyasal regölasyon yönünden spinal kord kan akımının düzenlenmesi serebral kan akımına benzerlik gösterir. Spinal kord, vertebral kolon boyunca uzanan bir anterior ve iki posterolateral arter ile vertebral foromenlerden sinir kökleri ile birlikte spinal korda ulaşan segmental arterler tarafından beslenir. (şekil-1) Anterior spinal arter (ASA) spinal korda seğmental düzeyde bir kan akımı sağlar. Anterior spinal artere sol vertebral arterden, tiroservikal trunkustan, interkostal arterlerden ve sakral arterden segmental kan akımı sağlanır (2).



şekil 2.3. Spinal kordun kanlanması

Spinal kord kan akımı ekstrinsik ve intrinsik dolaşım ile sağlanır. Anterior spinal arter ve posterior spinal arterler intrinsik dolaşımı oluştururlar. Ekstrinsik dolaşımda, servikal ve üst torasik bölge vertebral arter, orta torasik ve torakolomber bölge interkostal ve lomber arterler, konus seviyesinde ise hipogastrik arterin dalı olan lateral sakral arter tarafından sağlanır.

ASA, her iki vertebral arterden çıkan birer yan dalın birleşmesi ile oluşur. Spinal kord boyunca anterior median sulkusta kaudale doğru seyreder. Spinal kordun yaklaşık % 80'ini besler. ASA anterior ve lateral beyaz kolonun tamamı ile gri kolonun posteroru dışında büyük kısmını besler.

Posterior spinal arterler iki adet olup, vertebral arterden köken alırlar. Medulla oblangata düzeyinden başlayarak kaudale doğru spinal kord posteriorunda konus medullarise kadar uzanırlar. Posterior beyaz kolonların tamamı ve posterior gri kolonların büyük kısmını besler. Bu iki arter arasında yaygın bir kolleteral bağlantı vardır.

Radikulomedüller arterler ekstrinsik dolaşımın komponenti olup her bir segmental seviyede spinal kord kan dolaşımına katkıda bulunur. Servikal ve üst torasik kord seğmentleri, radikulomedüller arterler arcılığı ile yoğun bir şekilde kanlandırılırken, yaklaşık 4 adet radikulomedüller arter bu bölgede katkıda bulunur. Torokolomber segmenti besleyen arter en gelişmiş radikulomedüller arter olup arteria radikularis manga veya adamkiewicz arteri olarak isimlendirilir.

Olguların büyük kısmında tekdir ve sol taraftan köken alır. Koshino ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada adamkiewicz arterinin %91 vakada T8-L1 seviyesi arasından, % 70'den fazla vakada sol tarafta bulunduğunu, %26 vakada iki adet olduğunu, 510 vakada bilateral olduklarını göstermişlerdir (3).

Torasik aorta cerrahisi sonrasında, iskemik spinal kord hasarına sekonder görülen parapleji veya paraparezi, yüzeysel duyu kaybı, sfinkter tonus kaybı semptomlarına anterior spinal arter sendromu denir (4).

Aortik kros klempleme esnasında spinal kord kan akımının büyük kısmı ekstrinsik dolaşım aracılığı ile sağlanır. Bu nedenle kros klempleme esnasında kolleteral dolaşımın artırılması, iskemik spinal kord hasarını azaltacaktır.

2.3. SANTRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON FİZYOPATOLOJİSİ

Medulla spinalisin metabolik ihtiyaçları ve bunun için gerekli kan akımı arasında hassas bir denge vardır. Bazal şartlarda spinal kordun total kan akımı 30-35 ml./100 gr. doku/ dk.'dır (5). Enerji üretimi için gerekli olan oksijen ve diğer substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otonöregülasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Spinal kord kan akımı 50-135 mmHg. ortalama sistemik arter basıncında yine intrinsek kontrol mekanizmalarıyla güvenli bir şekilde sürdürülmektedir (5,6).

İskemi gelişmesi için kan akımının, hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altında olması gereklidir. Aerobik koşullarda biyolojik organizmaların çoğu temel yaşam kaynakları olan oksijen ve metabolik substratlar ortamda bulunmadığında bile canlılıklarını belirli bir süre devam ettirebilmektedirler. Santral sinir sistemi ise, anaerobik metabolizma ve glikojen depolarının kısıtlı olmasından dolayı iskekiye en duyarlı dokulardan biridir. İskemi sırasında hücresel enerji depolarının tükenmesi iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini başlatmaktadır. Enerji eksikliği ile devreye giren iskemik kaskat bir dizi sekonder olayı tetiklerse de iskeminin gidişini etkileyen pek çok faktör nedeniyle hücre ölümü kaçınılmaz sonuç değildir. İskemi sonucunu belirleyen en önemli iki faktör; İskeminin derinliği ve süresidir (32). İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iskei sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan ani ve fazla miktarda oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları iskemik hasara uğramış dokularda özellikle serbest oksijen radikallerinin oluşması yolu ile ileri hasara yol açmaktadır (7,8,9).

2.3.1. İSKEMİDE ENERJİ EKSİKLİĞİ SONUCU GELİŞEN OLAYLAR

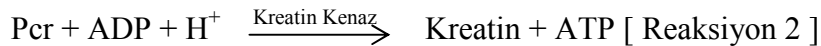
Hücrel enerji eksikliği iskemik hasarın gelişmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Beyin aerobik glikoz ile ATP elde etmektedir. Anaerobik glikoz mekanizması çok az bir oranda işlemektedir. Biyokimyasal ve ultrastrüktürel gözlemler beyinde astrositlerde daha fazla olmak üzere küçük bir miktar glikojen bulunduğunu ortaya koymaktadır (10).

Aerobik koşullarda bir mol glikoz, glikoliz ile iki mol piruvata dönüşürken iki mol ATP elde edilmektedir. Oksijen varlığında iki mol piruvat, piruvat dehidrogenaz (PHD) enzimi ile asetil-KoA'ya metabolize edildikten sonra, Krebs Döngüsü ve ardından indirgen eş değerlerin mitokondriyal elektron transport zincirinde, moleküler oksijenin suya indirgemesi sırasında 36 mol ATP elde edilmektedir (11).

İskemi sırasında oksijen yokluğuna bağlı olarak mitokondriyal elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalmaktadır (12). Beyinde ATP sentezi durmasına karşın ATP kullanımı sürmekte ve ATP hidrolizi sonucunda adenozin difosfat (ADP) konsantrasyonu artmaktadır [Reaksiyon 1] .



Fosfokreatin (Pcr) depoları tükeninceye kadar kreatin kinaz reaksiyonu ile ATP yapım bir süre daha devam etmektedir [Reaksiyon 2] .



Daha sonra ATP tamamen tükenmektedir (14).

İskemide enerji eksikliği sonucu gelişen olaylar aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- A) Asidoz
- B) Makromolekül sentezinin durması
- C) İyon dengesinin bozulması
- D) ATP yıkım ürünlerinin birikmesi

2.3.1.1. Asidoz

Kısmi iskemide veya iskemi öncesi hiperglisemi durumlarında oksijen yokluğunda glikoz varlığına bağlı olarak kısa bir süre için anaerobik glikoz devreye girmektedir. Glikoliz sonucu oluşan piruvat, laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi ile laktat indirgenir. anaerobik glikoliz ile elde edilen ATP de tükenince hücrede tam olarak bir enerji yokluğu ortaya çıkmaktadır. Anaerobik glikolizin bir istenmeyen sonucu da laktat ve H⁺ birikimi ile hücre içi ve dışı asidozunun gelişmesidir. (11)

Deneysel çalışmalarda, uygulanan iskemi modeline ve iskeminin derinliğine göre hücre içi pH değerleri 6.08-6.64 arasında değişmektedir (11,13). Laktik asid ve düşük pH değerlerinin protein denatürasyonu, enzim fonksiyon kaybı, glial ödem, NADH rejenerasyonunun engellenmesi ve serbest radikallerin oluşumu gibi iskemik hasarı oluşturan etkenlerin gelişmesinde katkısı olduğu gösterilmiştir (14).

2.3.1.2. Makromolekül Sentezin Durması

ATP konsantrasyonunun azalması ile hücrenin temel enerji gerektiren makromolekül sentez işlemi giderek yavaşlamaktadır. Fosfolipid, polisakkarid, protein, nükleik asitlerin spontan veya enzim-katalizli deprestasyonlarının ardından bu yapı taşlarının yeniden sentezlenememesi nedeniyle hücre bütünlüğü bozulmaya başlamıştır. Yaklaşık aynı zamanlarda başlayan intraselüler kalsiyum artışı da fosforilaz, lipaz, proteaz ve endonükleaz enzimlerini aktive ederek bu degradasyona katkıda bulunmaktadır (11,14).

Enerji eksikliği sonucu protein sentezindeki bozukluklar önceleri üzerinde pek fazla durulmayan bir konu olmasına rağmen son yıllarda iskemik hasara önemli katkısı ve geri dönüşümlü olmasının nöron canlılığı ile paralelliği üzerinde çalışmalar yoğunluk kazanmaktadır (15). Thilmann (16) ve Heiss (17) ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda iskemi sırasında protein sentezinin azaldığını bu azalmanın iskemik ataktan sonra hasarsız düzelen hücrelerde geçici olmasına karşın uzun dönemde nekroza uğrayacak hücrelerde süreklilik kazandığını göstermişlerdir.

2.3.1.3. 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 (11,18).

Hücre membranında bulunan Na^+/K^+ ATPaz pompası, ATPaz pompası, ATP hidrolizi ile üç sodyum atomunu (Na^+) iki potasyum (K^+) atomu karşılığında hücre dışına çıkarırken kalsiyum pompası olan Ca^+ ATPaz ise iki hidrojen iyonuna (H^+) karşılık bir kalsiyum (Ca) iyonunu hücre dışına çıkarmaktadır. Böylece ekstrasellüler Na^+ ve Ca konsantrasyonları hücre içine göre sırasıyla 10 ve 10,000 kat daha fazla olmaktadır. Hücre içi K^+ konsantrasyonu ise hücre dışına oranla 40 kat fazla bulunmaktadır. Primer aktif transport ile sağlanan sodyum gradienti, $3\text{Na}^+/\text{Ca}^+$ ve Na^+/H^+ antiporterleri için enerji kaynağı oluşturmaktadır. Bu sekonder aktif transport antiporterleri ile kalsiyum ve hidrojen iyonlarının hücre dışına çıkması sağlanmaktadır. Hücre membranının potasyuma olan geçirgenliği nedeniyle potasyum dağılımı temelde konsantrasyon gradyenti ile oluşmaktadır.

Hücreye enerji sağladığı sürece aktif ve pasif transport sistemleri uyum içinde çalışarak iyon dengesini sağlamaktadır. İyon dengesi, hücre içi metabolizma ve sinyal iletimi gibi temel fonksiyonlar ile elektrofizyolojik anlamda sinir hücresinde uyarı iletim fonksiyonu için gerekli olan membran potansiyelinin oluşturulmasında birinci derecede önem taşımaktadır. Sağlıklı polarize bir sinir hücresinde sözü edilen aktif ve pasif transport sistemleri ile sağlanan ve iyonların membranın iki yüzünde eşit olmayan dağılımı ile oluşturulan 60 mV luk bir membran potansiyeli bulunmaktadır. Sinirsel uyarı iletimi membranın ardışık olarak depolarizasyon-repolarizasyon ile gerçekleşmektedir. Sinir

hücresinin bu elektriksel aktivitesi de elektroansefalogram (EEG) dalgaları ve somatosensoriel uyarılmış potansiyeller (SEP) ile gösterilmektedir (11, 19).

Sinir hücresinde iyon dengesi üç aşamada bozulmaktadır. Temel enerji eksikliğinin henüz başlamadığı ilk dönemde; Ekstrasellüler potasyum konsantrasyonu yavaş yavaş yükselmektedir. Aynı dönemde hidrojen iyonunun bir membran katyon kanalından kısmen hücre dışına çıkması, hücre içinde birikmeye başlayan laktik asidin noniyonik difüzyon ile kısmen hücreyi terk etmesi ve karbondioksit birikimine bağlı olarak hücre dışı pH'sı düşmektedir. Bu dönemde ekstrasellüler kalsiyum henüz azalmaya başlamamıştır. İyon dağılımının bozulmasına bağlı olarak EEG traselerinde dalga yüksekliklerinin kaybolması ve uyarılmış potansiyellerde yanıt alınamaması şeklinde ortaya çıkan bir elektriksel sessizlik vardır (11).

İskemi-reperfüzyon hasarının gelişmesinde son derece önemli olan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artışı başlıca üç yoldan gerçekleşmektedir:

- I. Hücre dışından kalsiyum girişi
- II. Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınımı
- III. Hücre içi kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması

a. Hücre dışından kalsiyum girişi

Kalsiyum girişi nöronda presinaptik uçtan ile başlamaktadır. Hücrenin temel enerji kaynağı ATP'nin tükenmesi sonucunda aktif sodyum transport pompaları (Na^+/K^+ ATPaz, $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter ve Na^+/H^+ antiporter) bozulmaktadır. Buna bağlı olarak sodyum konsantrasyonunun hücre içinde artması ile başlayan presinaptik depolarizasyon sinir ucuna ulaşır. Bu uyarı ile presinaptik uçta bulunan voltaja duyarlı kalsiyum kanalları (VSCC-N tipi) açılarak hücre içine kalsiyum girmektedir. Ardından da başta glutamat olmak üzere uyarıcı aminoasitlerin presinaptik uçtan sinaps aralığına salınması gerçekleşmektedir (11).

Değişik hayvan modellerinde iskeminin ilk dakikalarında monoaminerjik nörotransmitter (dopamin, 5 hidroksitriptamin), asetilkolin, uyarıcı aminoasitler (glutamat, aspartat) ve inhibitör aminoasitlerin (glisin, gamma-aminobitürik asitler) salındıkları gösterilmiştir (19,20). nörotransmitter salınma miktarı, iskeminin derinliğine ve tipine, ayrıca beynin hangi bölgesini ilgilendirdiğine bağlıdır. Beynin iskemiye özellikle duyarlı bölgelerinde glutamat reseptörlerinin fazlalığının duyarlılığın bir nedeni olabileceği düşünülmektedir (21).

Normal koşullarda uyarıcı aminoasitlerin sinaps aralığından geri alınımı sodyum gradiyenti ve membran potansiyeli ile çalışan $2Na^{+}$ /glutamat kotransporterleri ile gerçekleşmektedir. İskemide uyarıcı aminoasitler için kalsiyum konsantrasyonunun hücre içinde artışı ile presinaptik veziküllerden gerçekleşen salınmanın yanı sıra $2Na^{+}$ /glutamat kotransporterleri yönünden değişmesi sonucu geri alım bozukluğu ile meydana gelen salınım söz konusudur. Değişik çalışmalar iskemide ikinci yolun daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Böylece iskemide sinaptik aralıkta yüksek konsantrasyonda biriken uyarıcı aminoasitler ileri hasardan kısmen sorumlu olan uyarıcı toksisitesine neden olmaktadır (11).

Nöronda postsinaptik uçtan kalsiyum girişi üç şekilde gerçekleşmekle birlikte en önemli yol glutamat reseptörlerinin bulunduğu agonist ile aktive olan iyon kanallarıdır (22).

Bu kanallar, reseptörlerinde maksimum aktivasyonu oluşturan agoniste bağımlı olarak beş sınıfa ayrılmaktadır.

- Yüksek afiniteli kainat reseptörü (K)
- Düşük afiniteli kainat reseptörü (K)
- Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoazopropiyonik asit (AMPA) reseptörü
- N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü
- Kuiskalat reseptörü (Q)

Bunlar içerisinde AMPA ve NMDA reseptörleri iyon taşınımında en önemli rolleri üstlenmektedir. Karışık bir agonist olan glutamat presinaptik uçtan salınınca postsinaptik

uçta bulunan hem AMPA hem de NMDA reseptörlerini aktive etmektedir. AMPA reseptörü Na^+ , K^+ ve muhtemelen H^+ gibi monovalan katyonların taşınması ile ilişkilidir. AMPA reseptörü bulunan iyon kanallarından sodyum girişi ile depolarizasyon postsinaptik uca iletilmiş olur. NMDA tipi glutamat reseptörlü iyon kanalları hem monovalan katyonların hem de kalsiyumun girişini sağlamaktadır. Postsinaptik uçtan kalsiyum girişinde 2. yol depolarizasyon, normal koşullarda kalsiyumun hücre dışına çıkarılmasında görevli olan $3\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ antiporterinin yönünü ters çevirerek hücre içinde kalsiyum artışına neden olmaktadır (14). Lazdunski (23) $3\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ antiporter fonksiyonunun bozulmasında Na^+ / H^+ antiporterini stimüle eden hücre içi asidozunun rol oynadığını ileri sürmektedir.

b. Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınımı

Diğer hücrelerde olduğu gibi, sinir hücrelerinde de belli uyarılara yanıt olarak hücre içi depolardan hücre membranı reseptörü aracılı kalsiyum salınımı gerçekleşmektedir. Asetilkolin ve bazı peptidler hücre membranında bulunan spesifik reseptörler için uyarıcı eşlenmiş olarak bulunan reseptöre bağlanması, fosfotidil inozitol bifosfat (PIP2) 'ın diaçilgliserol (DAG) ve inozitol trifosfat (IP3) 'a ayrılmasına neden olmaktadır. IP3, endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımını gerçekleştirmektedir (11). Bazı hücrelerde ise glutamat, kuiskalat tipi reseptörlere etki ederek hücre içi depolardan kalsiyum salımına neden olabilmektedir. Ayrıca hücre içi artmış kalsiyum düzeyi de DAG ile birlikte protein kinaz C yi (PKC) aktive ederek reseptörlerin agonist uyarısına yanıtını artırması yoluyla kalsiyum salınması için bir uyarı oluşturmaktadır (11, 24). Bazı görüşlere göre, iskemide kalsiyum hücre dışından hücre içine girmeden önce hücre depolarından salınmaya başlamaktadır. (25). Bu nedenle hücre içi depolardan kalsiyum salınması ile hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artışı, iyon dengesizliğinde önemli rolü olan membran geçirgenliğinin artmasına zemin oluşturmaktadır (11).

c. İntrasellüler kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması

Normal koşullarda VSCC ve resaptör agonisti ile işleyen kalsiyum kanalları ile hücre içine giren veya intrasellüler olarak salgılanan kalsiyum iki şekilde tamponlanmaktadır. Bunlardan birincisi kalmodilin gibi efektör bir proteine veya kalsibindin gibi özel bağlayıcı proteine bağlanarak gerçekleşmektedir. Kalsiyumun negatif

gruplara bağlanarak tamponlanması, hidrojen iyonunun tamponlanması ile benzerlik gösterdiğinden, Ca^{2+} ve H^+ aynı tampon bölgeleri için yarışa girerler. Bu nedenle, iskemi sonucu gelişen Asidoz da kalsiyum, bu bağlanma bölgelerinden salınmaktadır. Hücre içi kalsiyumun bir diğer tamponlanma şeklide hücre içi organeller tarafından tutulma yoluyla. Kalsiyumun endoplazmik retikulum, mitokondri gibi organellerce tutulması enerji gerektiren bir olaydır. Normal koşullarda, mitokondrinin tutulma katkısı çok azdır. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu hızla artınca mitokondri büyük miktarlarda Ca^{2+} u tutar. bunun için mitokondri iç membranının elektirksel potansiyeli gerekmektedir. Bu potansiyelde sadece O_2 ve ATP varlığında oluşabilmektedir. Mitokondrinin patolojik miktarda Ca^{2+} tutması ileride sözü edilecek olan’’mitokondriyal hasarı’’oluşturan en önemli nedenler arasındadır (11).

İskemide hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonu artışı erken dönemde fosfolipaz, lipaz, lizozomal enzimlerinin de dahil olduğu proteazlar ve endonükleaz gibi degrade edici enzim gruplarının aktivasyonuna neden olmaktadır (26).

İskemide hücre içinde serbest kalsiyum artışı ile birlikte başlıca;

* Lipoliz

** Proteoliz

*** DNA hasarı

**** Mitokondriyal Elektron Tranport Zinciri Hasarı (METZ) görülmektedir.

* **Lipoliz**

Fosfolipazlar sitozol, plazma ve mitokondri membranlarında bulunan enzim ailesidir. fosfolipidlerden fonksiyonel grupları hidrolize ederler. Böylece, membran fosfolipidlerinin lipolizi ile ortamda serbest yağ asitleri (SYA) artmaktadır. Ca^{2+} ile aktive olan fosfolipaz A2 (PLA2) enziminin, fosfolipidlerin beta pozisyonundan kopardığı araşidonik asit birikimi, bu yağ asidinin reperfüzyon döneminde prostogladin ve lökotrienler metabolizmaları sırasında oluşturdukları serbest radikaller nedeni ile iskemik

hasarın ilerlemesindeki temel etiyolojik faktörlerdendir. Siesjo'a (14) göre fosfolipazın Ca^{2+} ile aktivasyonu muhtemelen PLC nin agonist ile aktivasyonuna sekonder olarak gelişmektedir. Normal koşullarda membran fosfolipidleri bir dizi enerji bağımlı reaksiyon ile yenilenmektedir. Bu nedenle intrasellüler SYA konsantrasyonu düşük düzeylerde tutulmaktadır. İskimide yukarıda sözü edildiği gibi enerji depolarının tükenmesi nedeni ile bu yenilenme gerçekleşmemektedir. Kalsiyum tetikli membran fosfolipid kaybı büyük olasılıkla membran protein/lipid oranlarının bozulmasına bağlı geçirgenlik artışına neden olarak, iskemik hücreye Ca^{2+} girişini daha da hızlandırmaktadır. Bu oranın intrasellüler organellerde de bozulması birçok hücre fonksiyonuna zarar vermekle birlikte, lipoliz ile artan serbest yağ asitlerinin asıl zararlı etkisi, reperfüzyon kısmında söz edileceği gibi zararlı metabolitlerin özellikle, iskemi reperfüzyon hasarının en önemli nedeni olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmasıdır (27,28,29,30,31,32,33,34).

Değişik yazarlara göre SYA reperfüzyonda serbest radikal kaynağı olmalarının yanı sıra iskemi döneminden de serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır (33, 35). Katsura ve ark. (36) a göre, derin iskemide SYA konsantrasyonunu artıracak kadar ileri düzeydeki fosfolipid hidrolizi, yaklaşık olarak enerji eksikliğinin membran depolarizasyonunu tetiklediği zamana rastlamaktadır.

**** Proteoliz**

Hücre içi kalsiyum düzeyi artışının hücre hasarına yönelik bir diğer önemli sonucu da proteaz aktivasyonudur. Proteaz aktivasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan değişiklikler şunlardır:

A. Ksantin oksidaz (XO) oluşumu:

Reperfüzyon döneminde en önemli radikal kaynağı olan XO oluşumu, ksantin dehidrogenazın (XDH) Ca^{2+} ile aktive olan proteazlarca XO'a dönüştürülmesi ile gerçekleşmektedir. XDH-XO dönüşümünün iskemik dokuda gerçekleştiği değişik çalışmalarda gösterilmiştir (12, 27, 37, 38, 39). Ancak beyinde ksantin oksidaz miktarının oldukça düşük olması nedeniyle bu yolla proteoliz diğer yollara göre daha sınırlıdır.

Özellikle mikrovasküler endotelde ve az miktarda da nöron mitokondrisinde bulunmaktadır (38, 39, 40).

B. Nötral proteazların aktivasyonu:

Kalsiyuma bağımlı nötral proteazlar nöroflamanların ve hücre iskeletinin diğer protein içeren bileşenlerinin yıkılımından, dolayısıyla tübülün bütünlüğünden sorumludur (26). Marimato ve ark. (41) gerbiller üzerine yaptıkları çalışmalarda, 3 saatlik uzun ve 30 dakikalık kısa iskemi sonunda nötral proteaz aşırı aktivasyonu nedeni ile poliribozomların disagregasyonunu, dolayısıyla polipeptid sentezinin durduğu gözlemlemişlerdir. Poliribozomlar kısa süreli iskekiye maruz kalan hayvanlarda normale dönerken, üç saatlik iskemi dönüşümsüz poliribozom disagregasyonunununa neden olmuştur.

C. Lizozomal proteaz aktivasyonu:

Lizozomal proteazlar olarak adlandırılan katepsinlerin aktivasyonu ile artan proteolizin özellikle derin ve uzun süreli iskemi ve ardından gelen reperfüzyon sırasında süregelen hücre hasarını hızlandırarak, dönüşümsüz hasar oluşumunda rol oynadığı savunulmaktadır. İşlekel ve ark. (42) sıçan beyinde kısa süreli derin iskemi reperfüzyon sonrasında katepsin L aktivitelerini, penumbral iskemi reperfüzyon ve kontrol gruplarına göre yükselmiş olarak bildirmişlerdir. Seyfried ve ark. (43) iki saatlik a. cerebri media tıkanması ve reperfüzyonu sonucunda katepsin B aktivitesinin ve ekspresyonunun arttığını gözlemlemişler, bunun da nöronal ölüme neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

***** DNA Hasarı**

Endonükleazların aktivasyonu ile gelişen DNA fragmentasyonu, apoptotik hücre ölümüne benzer bir durum olabileceği, bunun da sadece beyin iskemisine özgü olan gecikmiş nöron ölümünden sorumlu olabileceği öne sürülmektedir (44, 45, 46).

****** Mitochondrial Transport Zinciri Hasarı**

İntrasellüler Ca^{2+} artışını tamponlayan mekanizmalar arasında bulunan mitokondride kalsiyum tutuşu, iskemi sırasında mitokondrinin Ca^{2+} ile aşırı yüklenmesine

neden olmaktadır. İskeminin ilk dakikalarında oksijen konsantrasyonu düşüklüğüne bağlı olarak durma noktasına gelen hücrenin solunum fonksiyonları ve ATP sentezi mitokondrideki bu Ca^{2+} birikimi ile daha hızlı bozulmaktadır. Böylece hücrede ATP eksikliği ile başlayan iskemik kaskatın gelişiminde, intrasellüler Ca^{2+} artışının bir sonucu olarak ATP sentezi giderek azalmakta ve olaylar kısır bir döngü içine girmektedir (11).

D-) ATP Yıkım Ürünlerinin Birikimi

İskemide enerji eksikliği sonucu gelişen olayların bir diğer sonucu da ATP yıkım ürünlerinin birikmesidir. İskemi sırasında ATP rejenerasyonunun bozulmasına karşın, mevcut ATP nin hidrolizi sürmektedir. ATP hidrolizi ile hipoksantin, ksantin gibi pürin metabolitlerinin hücre içinde birikmektedir. Bu metabolitlerin reperfüzyon sırasında ksantin ile reaksiyonları, iskemi – reperfüzyon hasarından dokuya göre değişen derecelerde sorumlu tutulan serbest radikallerin en önemli kaynağını oluşturmaktadır (38).

2.3.2. Reperfüzyonda Serbest Radikal Üreten Kaynaklar

İskemide gelişen olaylar, temelde reperfüzyonda oksijen ve kan ürünlerinin yeniden dokuya gelmesiyle oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu için zemin hazırlamaktadır (38). Reperfüzyonda çok çeşitli hücre, organel ve enzimler serbest radikal kaynağını oluşturmaktadır. Bu kaynakları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

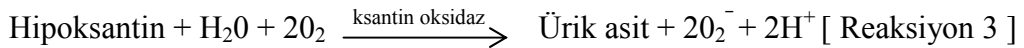
1. Mitokondrial elektron transport zinciri (METZ)
2. Vasküler endotel
3. Kan hücreleri
4. Plazma ve organel membranları
5. Nitrik oksit sentaz (NOS) aktivasyonu

1. Mitokondrial elektron transport zincirinden oksijen kaçaklarının artması

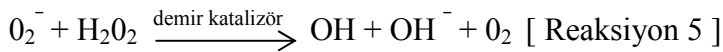
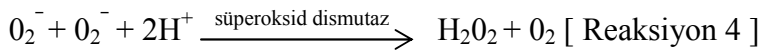
Normal koşullarda METZ'de indirgenen oksijen %1-5'lik kısmının kısmi indirgeme sonucu serbest radikalleri belirtilmiştir. Reperfüzyonda gelen ani ve yüksek konsantrasyondaki moleküler oksijenin, iskemi sırasında birikmiş indirgen eşdeğerler (NADH, FADH₂) ile kısmi indirgenmesi sonucunda, serbest radikal üretimi ve oksijen kaçağındaki fizyolojik oran artmaktadır (46, 47, 48).

2. Vasküler endotel kaynaklı ksantin oksidaz (XO) reaksiyon

Beyinde XO'ın önemli bir kısmı mikrovasküler endotel hücresi içinde bulunmakla birlikte sinir hücresinde de (özellikle mitokondride) az miktarda bulunduğu savunulmaktadır (38, 39, 40). İskemi döneminde Ca²⁺ bağımlı proteazlarca veya sülfidril gruplarının oksidasyonu ile ksantin dehidrogenazın, ksantin oksidaza dönüşmesi sonucunda dokuda ksantin oksidaz oranı %10 luk fizyolojik oranının üzerine çıkmaktadır. Yine iskemide ATP'nin hidrolizi ile ortaya çıkan pürin metabolitlerinden hipoksantin ve ksantin, XO için substrat oluşturmaktadır. Reperfüzyon ile moleküler oksijenin ani ve fazla miktarda dokuya girmesi sonucu ksantin oksidaz reaksiyonu ile ürik asit, yan ürün olarak da süperoksit anyon radikali (O₂⁻) oluşturmaktadır [Reaksiyon 3].



Oluşan süperoksit radikali H₂O₂ ve OH⁻i oluşturmaktadır [Reaksiyon 4, Reaksiyon 5] (52, 53, 54,13)



3. Lökosit (nötrofil, lenfosit, monosit) aktivasyonu

Reperfüzyon hasarının önemli bir nedeni de, iskemik bölgeye lökositlerin, öncelikle de polimorfonükleer lökositler (PNL) olan nötrofillerin infiltrasyonudur. Bilindiği gibi nötrofiller fagositoz olayı ile canlıyı enfeksiyöz ajanlardan koruyan kan hücreleridir (28). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, beyinde iskemik hücrelerin nötrofil ve trombositlerin vasküler endotele adhezyonuna dolayısıyla yanıtı yol açan, kemoatraktan maddeleri ve adezyon molekül aktivatörlerini salgıladıkları gösterilmiştir. Nötrofil kemotaksisine neden olan en önemli etken, XO reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalleridir (26). Reoksijenasyon ile aktive olan ve lökosit akümülyasyonunda görev üstlenen diğer ajanlar ise, kompleman 5a (C5a) kompleman 3a (C3a), araşidonik asit metabolitleri, özellikle lökotrien B4 (LB4), nitroz oksid (NO), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1,6,8 (IL-1,6,8), g interferon ve tümör nekroz faktörü a (TNF-a) gibi sitokinlerdir (49,26). Kemotaktik faktörlerin sentezi ve salınması ile birlikte, hem nötrofil hem de endotel hücresinde lokalize olan adezyon moleküllerinin upregülyasyonu da başlamaktadır. Nötrofil-endotel etkileşimini sağlayan adhezyon molekülleri, glikoprotein yapısındadırlar. Nötrofiller üzerinde bulunan bazı adhezyon molekülleri; lökosit β 2 integrinler (CD11/CD18) ve lökosit adhezyon molekülü (LAM-1 veya L-selektin) dır. Endotel hücresi üzerinde bulunanlar ise; intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü 1 (ELAM-1 veya E-selektin) ve granüle membran protein-140 (GMP-14 veya p-selektin) dır (50).

Nötrofiller, adhezyon molekülleri aracılığı ile etkileşime girdikleri endotel hücreleri arasında ilerleyerek (diapedez olayı) ekstravasküler dokuya doğru göç ederler. Aktive olmuş nötrofiller, antimikrobiyal savunma sisteminde kullandıkları mekanizma olan NADPH oksidaz enzimi aktivasyonu ile reperfüzyonda gelen moleküler oksijenden seri reaksiyonlar sonucunda süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hipoklorik asit ($HOC1$) ve kloramini ($R'RNC1$) oluşturarak, ileri doku hasarına neden olurlar (51,28).

4. Plazma ve organel membranlarından kaynaklanan araşidonik asit kaskadı

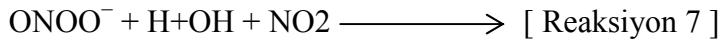
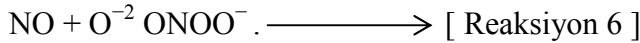
İskemi sırasında membran fosfolipidlerinin artmış lipolizi ile biriken araşidonik asidin reperfüzyonda hızlanmış metabolizması sonucu hidroperoksid prostaglandin G2 (PGG2), hidroperoksieikozotetraenoik asit (HPETE) ve prostaglandin H2 (PGH2) oluşum basamaklarında süperoksid anyon radikali oluşturmaktadır (52,53,54).

Lipoliz, iskeminin derinliği ve süresiyle ilişkili olarak hem plazma hem de organellerin membranlarında gerçekleşmektedir. İşlekel ve ark. (65) sıçan beyinde derin iskemide lizozomal membranlarda lipoliz ve serbest radikal oluşumu nedeni ile, lizozomal enzimlerden asit fosfotaz ve katepsinin sitoplazmaya sızdıklarını göstermişlerdir.

Süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi hücre içi antioksidanların aktivitelerindeki azalmanın, reperfüzyon ile organel membranlarından ayrılan araşidonik asidin metabolizma ürünleri olan serbest radikallerin hücre içindeki artışına neden olduğu öne sürülmektedir (56,57).

5. Nitrik oksidin sentaz (NOS) aracılı serbest radikal oluşumu

Reperfüzyonda “inducible” NOS aktivasyonu ile nitrik oksid (NO.) yapımı artmaktadır. NO. in O^{-2} ile reaksiyona girerek oluşturduğu peroksinitritin ($ONOO^{-}$) parçalanması ile ortaya hidroksil radikali ($.OH$) çıkmaktadır. [Reaksiyon 6, 7] (50,51, 58, 26).



İskemide sonuç

Spinal kordaki iskemi sırasında hücre düzeyinde giderek ortaya çıkan enerji eksikliği, asidoza, fosfolipid, polisakkarid, protein, nükleik asit gibi makromoleküllerin sentezinin durmasına hücre membranındaki iyon pompalarının çalışmaması sonucu hücre

içi ve dışı iyon dengesinin bozulmasına ve hipoksantin, ksantin gibi ATP yıkım ürünlerinin birikmesine neden olmaktadır. 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 kümülâtif etkileri ile ortaya çıkan iskemi- reperfüzyon hasarına uğramaktadır.

2.4. AORTİK KROS KLEMPLEMENİN SPİNAL KORD ÜZERİNE ETKİLERİ

Aortik kros klemplemenin, normal hemodinamikler ve duyarlı dokularda son organ iskemisi üzerine önemli etkileri vardır, inen torasik aortanın klemplenmesi ile birkaç hemodinamik değişiklik ortaya çıkar. Aortik kros klemp proksimalindeki kan basıncı ani olarak yükselir, distalinde ise düşer. Kalp ard yükündeki ani artışla birlikte, sol ventrikül iş yükü ve ön yük artar, ön yük artışının yansıması olarak, santral venöz basınç ve sağ kalp basınçları artar. Santral venöz basınç yükselmesi, geriye doğru yansiyarak sistemik venlerdeki basıncın ve serebrospinal sıvı basıncının yükselmesine neden olur. Ayrıca aortik kros klemplemenin direkt etkisiyle, klemp altındaki organlarda kan akımı kesintiye uğrar.

Spinal korda mevcut kan akımı ve metabolik ihtiyaçlar arasında bir denge söz konusudur. Spinal kord kan akımı, oksijen (O₂) ve enerji üretimi için gerekli substrat ihtiyacını temin eder ve zararlı ürünlerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Normal şartlarda, perfüzyon basıncı 60-160 mmHg arasında iken spinal korda otoregülasyon mevcuttur. Perfüzyon basıncı 60 mmHg'nın altına düşerse kan akımı azalır. Perfüzyon basıncı 160 mmHg'nın üzerine çıkacak olursa, artmış hidrostatik basınç nedeniyle kan-beyin bariyeri zarar görür (59). Spinal korda normal fonksiyonların korunması, feedback mekanizmalarının karşılıklı etkileşmesine bağlıdır. Aortik klempleme esnasında, bu feedback mekanizmalarından bir kısmının fonksiyonlarını kaybetmesi sonucu, spinal kord

hipoksisi veya iskemisi oluşur. Bu da, iyon dengesinin bozulması ve sitotoksiste ile sonuçlanır.

Radyoaktif hücreler kullanılarak, aortik kros klempleme esnasında spinal kord kan akımı incelenen bir hayvan modelinde, kan akımının spinal kord boyunca aşağı doğru progresif olarak azaldığı gösterilmiştir (60). Dolayısıyla, kros klempleme sırasında iskemiye en fazla maruz kalan bölge distal lomber bölgedir. Sonraki çalışmada ise, spinal korda O₂ sensörleri ile ölçüm yapılarak, azalmış kan akımının artmış deoksijen ile bağlantılı olduğu da gösterilmiştir (61).

Cerrahi sırasındaki hücre hasarının üç potansiyel kaynağı vardır. İskemi, iskemi-reperfüzyon hasarı ve mikrosirkülasyon akım disfonksiyonu.

Sinir dokusu iskemiye oldukça duyarlıdır ve sadece birkaç dakikalık hipoksi bile geri dönüşümsüz hasara neden olabilir. Spinal kordaki iskemiye en duyarlı hücreler ise anterior boynuz hücreleri olup, hasarlanmaları durumunda motor kayıp ortaya çıkar. Moore ve Hollier (62). Tavşanlarda, iki dakikalık aortik oklüzyonla tüm deneklerde paralizi geliştiğini, 16 dakika içinde kan akımı yeniden sağlandığında motor fonksiyonlardaki geriye dönüşün kesin olduğunu, 27 dakikalık oklüzyon sonrasında ise paralizinin kalıcı olduğunu göstermişlerdir.

Normalde santral sinir sistemi dokusunda sağlanan enerjinin yaklaşık 2/3'ü, hücre membranlarından iyon gradienti ve nörotransmitter sentezlenmesi gibi hücresel fonksiyonların sürdürülmesi için kullanılır. Geriye kalan 1/3'lük kısım ise, hücresel homeostazis için kullanılır (63). Kros klempleme sonucu yeterli kan akımı temin edilememesine bağlı oksijen ve metabolik madde ihtiyacı sağlanamaz ve zararlı ürünler uzaklaştırılamaz. Oluşan bu iskemik tablo spinal korda bir dizi patolojik değişikliğe neden olur. Perfüzyonla sağlanan O₂ ve glikoz miktarı metabolik ihtiyaçları karşılayamaz şekilde düştüğünde, enerji eksikliği sonucu membran gradienti hızla kaybolur. Sodyum ve kalsiyum hücre içerisinde birikirken, hücreden dışarıya potasyum kaybı olur. Bu da hücre ölümü ile sonuçlanır. Ayrıca, iskemik hücrelerin aspartat ve glutamat gibi eksitatör aminoasitleri aşırı miktarda salgıladıkları bilinmektedir (64). Bunlar kainate, quisqualate ve

spinal korda yaygın olduğu bilinen N-Methyi-D-Aspartate (NMDA) reseptörlerine bağlanırlar.

Reperfüzyon, kan akımının ve böylece de, iskemik kalmış doku oksijenasyonunun yeniden sağlanmasıdır. Reperfüzyonun, enerji-oksijen sağlanması ve hücrel homeostazisin geriye dönmesindeki olumlu etkileri açıktır. Bununla birlikte reperfüzyon, bu olumlu etkisinin aksine mevcut iskemiye ek bir hasara da yol açabilir. Bu fenomen iskemi- reperfüzyon hasarı olarak isimlendirilir. Bu istenmeyen etkiden özellikle serbest oksijen radikalleri sorumludur (65). Bir hayli toksik olan serbest oksijen radikalleri, muhtemelen kan akımının yeniden sağlandığı başlangıç dönemindeki tam olmayan oksijenasyon sırasında oluşurlar. Aortik klempin kaldırılmasından sonra spinal korda ulaşan O_2 , artmış ksantin oksidaz ve düşük enerjili fosfat bileşikler ile reaksiyona girerek serbest radikal üretimi oluşturulabilir (66). Bu toksik ürünler membran lipidleri başta olmak üzere, hücrel yapıları etkilerler. Serbest oksijen radikallerinin hücre hasarındaki temel mekanizması lipid peroksidasyonudur. Poliansatüre yağ asitleri ve fosfolipidlerden oluşan hücre membranı, lipid peroksidasyonu ile ayrıarak araşidonik asit metabolitlerinin salgılanmasına neden olurlar ve sitokin üretimi başlatır. Hücrel permeabilite artışı nedeniyle ödem oluştururlar (67). Endotelin ve tromboksan gibi maddeler aracılığı ile vazospazm görülür (68). Reperfüzyon hasarını takiben nötrofil aktivasyonu da artmıştır.

Mikrosikülatuar düzeyde bir blokaj sonucu reperfüzyon yetmezliğide görülebilir. Bu blokajın derecesi iskemi süresinin uzunluğu ile orantılıdır. Uzayan iskemik süreçte gelişen vazospazm, platelet agregasyonu ve prekapiller ödem ile bağıntılı olarak doku kanlanması sağlandığında mikrosirkülatuar düzeyde reperfüzyon yetmezliği oluşabilir.

2.5. SPİNAL KORDU İSKEMİDEN KORUMA YÖNTEMLERİ

A- Spinal kord kan akımının sürdürülmesi: Hızlı cerrahi, distal aortik perfüzyon (gott şantı, femoral ven-femoral arter bypass), intratekal vazodilatatör ajanlar, interkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu, serebrospinal sıvı basıncının azaltılması.

B- Spinal kordun iskekiye toleransının artırılması: Hipotermi, anestezi ajanlar, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokerleri, eksitatuvar aminoasit antagonistleri.

C- Reperfüzyon hasarının azaltılması: Serbest radikal gidericiler, immün sistem modülasyonu, adenozin (69,70).

2.5.1. SPİNAL KORD KAN AKIMININ SÜRDÜRÜLMESİ

Hızlı cerrahi

Hızlı ve becerikli cerrahi ve dolayısıyla kros-klemp zamanında ekibin deneyim eksikliğinden kaynaklanan uzamaların olmaması, iskemik komplikasyonların önlenmesinde beklide ilk adım olacaktır. Daha 1910’larda deneysel aort cerrahisinde kros-klemp zamanının 10-15 dk. Arasında olması halinde iskeminin güvenle sonuçlandırılabilceğini bildirmiş ve daha sonraki klinik uygulamalarda bu uyarı “clamp and go” tekniğı olarak toraksik ve torakoabdominal aort anevrizmaların onarımında kullanılan ilk yöntemin adı olmuştur (70).

Livesay ve arkadaşları (71) kros-klemp zamanının 30 dk.’yı aşmaması halinde parapleji riskinin %3’ten %11’e yükseldiğini göstermişlerdir. Svensson ve arkadaşları da (72) spinal kordun hasar görmesinde kros-klemp zamanının tek başına bir aktör olabildiğini bildirmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar kros-klemp ile spinal kord iskemik hasarı arasında mutlak ilişki kurulamayacağını, daha kısa kros-klemp zamanında bile parapleji görülebileceğini ya da tersine daha uzun iskemi periyodunda hasar oluşabileceğini ileri sürmektedirler. Örneğin Hollier ve arkadaşları (73) 20 dk.’dan daha az kros-klemp uygulamasında 5 olguda parapleji bildirmekte, tersine Najafi (74) 58 dakikalık ortalama kros-klemp zamanında hiç parapleji görülmediğini rapor etmektedir. Sonuçlar arasındaki bu zıtlık, muhtemelen bu çalışmalarda anevrizmanın lokalizasyonu ve Adamkiewicz arteri ile ilişkisinin tam olarak ifade edilememesinden kaynaklanmaktadır.

Katz ve arkadaşları (75), aortik oklüzyon süresiyle nörolojik defisit sıklığı arasında direkt ve çok önemli bir ilişki olduğunu açık bir şekilde göstermişlerdir. Buna göre 25-30 dk.'lık süre kritik kros-klemp zamanı olup bunun uzaması halinde alt ekstremitelerde nörolojik defisit olasılığı artmaktadır. Kuşkusuz her lezyonu bu kısa sürede onarmak mümkün olamayacağına göre spinal kordu korumak üzere yandaş tedbirlerin uygulanması zorunludur. Birçok olguda “clamp and go” tekniği başarıyla kullanılmıştır, ancak aortik kros-klemp zamanının güvenli bir şekilde 30 dk. Üzerine çıkarılması gereken durumlarda çeşitli koruyucu yöntemlere başvurulmaktadır (72, 76, 77, 78).

Distal aortik perfüzyon

Distal aortik kan basıncının 60-70 mmHg. Seviyesinde tutulması halinde medulla spinalisin etkin olarak korunduğu deneysel olarak gösterilmiştir (79). Distal aortik perfüzyon, kros-klemp süresince distal aortik perfüzyon basıncını yükselterek medulla spinalis kan akımını artırma amacı güder. Bu tekniklerin çoğunda distal aorta retrograd olarak perfüze edilmektedir. Roller pompa, pasif şantlar veya sentrifugal pompa aracılığıyla atrio-femoral, femoro-femoral bypass düzeneği veya gott şantı kullanarak kros-klempin distalinde kalan aort bölümünde proksimalden kan akımı sağlanmaktadır.

Özellikle atrio-femoral bypass yöntemi giderek daha sık kullanılmaktadır. Distal aortik perfüzyon yöntemiyle böbrek ve medulla spinalisin etkin şekilde korunduğu gösterilmiştir (72,80).

İntratekal vazodilatatörler

İntratekal vazodilatatörler hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. 100 yıldan fazla bir süredir çeşitli durumlarda kullanılan papaverin bu amaçla intratekal verildiğinde, longitudinal spinal arterleri özellikle de anterior spinal arteri antispazmodik etkisiyle dilate ederek spinal kord hasarının önlenmesinde katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu sayede omurilik boyunca antegrad kan akımı sağlanabilmekte ve Adamkiewicz arteri ile beslenen segment güvenli olmaktadır. Bu tarz bir koruma distal perfüzyonun etkin olup olmadığına veya Adamkiewicz arterinin orijin aldığı segmentin hangisi olduğuna bağlı değildir. Papaverinin arteriyel dilatasyon sağlamaktan başka etkileri de vardır. Protektif

etkisine katkıda bulunduğu düşünölen bu etkilerin arasında, kalsiyum kanal blokajı, oksidatif fosforilasyon esnasında elektron transferinin inhibisyonu, krebs siklusundaki substratların aerobik oksidasyonunun önlenmesi, süperoksit oluşumunun önlenmesi ve pürin siklik nükleotid parçalanmasının blokajı gibi etkiler bulunmaktadır (30, 81). Svensson ve arkadaşları (82), maymun modelinde, Sun ve arkadaşları (81) domuz modelinde intratekal olarak verilen papaverinin spinal kord kan akımını artırdığını ve 60 dk.'lık aort kros-klempi uygulamasından sonra hiç parapleji gelişmediğini rapor etmişlerdir. Maughan ve arkadaşları da (83), köpek modelinde vazodilatatör etkisi bilinen %20 Fluosol-DA ve oksijene perflüorokarbonu intratekal vererek spinal kord hasarını önlediklerini bildirmektedirler.

İnterkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu

Başta Adamkiewicz arteri olmak üzere, inen aortlardan çıkan ve spinal kordun kanlanmasına katkıda bulunan arterleri, desenden torasik ve torakoabdominal aort tamirinden sonra, grefte reimplante ederek parapleji komplikasyonunun önlenebileceği, spinal kord iskemisinin paraplejinin esas nedeni olarak kabul edildiği günümüzde, hiç değilse majör damarların reimplantasyonunun gerekli olduğu savunulmaktadır (80). Preoperatif dönemde bu arterlerin tespit edilmesi operasyon esnasında cerraha hem kolaylık sağlar hem de zaman kazandırır. Ancak klinik çalışmalar, preoperatif dönemde anjiyografik olarak bu arterleri tespit etmede teknik sorunlar yaşendiğini, bu arterlerin kronik tıkanıklığı yada stenozu nedeniyle sağlıklı olarak belirlenemeyeceğini göstermektedir. Bu nedenle çoğu zaman bu arterler cerrahın operasyon anındaki gözlemine göre körlenmesine reimplante edilmektedir (84). Svensson ve arkadaşları (85) T8-L1 arasındaki segmental arterleri, Hollier ve arkadaşları ise (86) tüm segmental arterleri reimplante etmeyi savunmaktadır. Svensson ve arkadaşları (80) domuz modelinde intraoperatif hidrojen testi ile spinal kordu besleyen arterleri tespit etmişler ve bu arterleri kestiklerinde büyük oranda prapleji veya paraparezi geliştiğini, fakat bu arterleri koruduklarında nörolojik defisit sıklığının önemli oranda düştüğünü göstermişlerdir. Bu nedenle, spinal kordu besleyen damarların izole perfüzyonu veya grefte reimplantasyonu spinal kord hasarı riskini düşürme açısından önemlidir.

Beyin-omurilik sıvısının (BOS) drenajı

Aortaya kros-klemp konunca, klempin proksimalinde intra-aortik basıncın yükseldiği, bunun sonucu kardiyak ard-yükün ve BOS basıncının arttığı bilinmektedir. Blaisdell ve Cooley (87), paraplejinin esas sebebinin kros-klemp konulmasını takiben proksimal aortada kan basıncının aniden yükselmesine paralel olarak intrakranial basıncın süratle artışı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu artış BOS'a yansımakta ve buda iki yolla medulla spinalisin beslenmesini bozmaktadır.

1. Spinal damarlara ve nöral dokuya kompresyon,
2. Spinal kord perfüzyon basıncında azalma-iskemi

BOS drenajı, spinal kord perfüzyon basıncını artırdığı gerekçesiyle kullanılmış ve köpek deneylerinde paraplejiyi azalttığı gösterilmiştir (69, 70). “Spinal kord perfüzyon basıncı = ortalama distal aortik basınç-BOS basıncı” formülüne göre, spinal kord perfüzyon basıncının sayısal değerini artırmak için ortalama distal aortik basıncın yükseltilmesi gerekmektedir. 50 mmHg.'lik perfüzyon basıncı, otoregülatuar sistemlerin normal spinal kord kan akımını devam ettirebileceği en alt sınırıdır. Bu basıncın 50 mmHg.'dan büyük tutulması gerekir. Bunun yapılmadığı durumlarda, efektif perfüzyon basıncını artırmak için venöz komponent yani santral ven basıncı düşürülmelidir. Torasik aortanın kros-klempi esnasında oluşan proksimal hipertansiyon kafa kaidesinde volüm artmasına ve dural boşluktaki venöz kapasitansta volüm değişikliklerine ve dolayısıyla intrakranial kompartımanlarda kan birikimine neden olup BOS basıncının artmasına neden olmaktadır. Bunun için belli miktarda BOS boşaltılmakta, böylece spinal kordun arteriyel beslenmesinin iyileştirilemediği hallerde daha iyi perfüzyon sağlanması amaçlanmaktadır.

Torasik aortun geçici olarak klempe edilmesi sırasında serebrospinal sıvı drenajı yapılarak spinal kord iskemisinin engellenmesi ilk olarak Miyamoto ve arkadaşları tarafından önerilmiştir (88). Günümüzde yüksek riskli distal aort patolojilerinin cerrahi tedavisinde BOS drenajı standart olarak önerilmektedir (89,90). Torasik aortanın klempe edilmesi sırasında BOS drenajı sadece perfüzyon basıncının devamı üzerinde etki göstermez. Kros-klemp sırasında BOS içinde nörotoksik maddelerin sekresyonu artar. BOS drenajı bu zararlı proteinlerin de beyin omurilik sıvısından uzaklaştırılmasını sağlar (89).

2.5.2. SPİNAL KORDUN İSKEMİYE TOLERANSININ ARTIRILMASI

Medulla spinalisin iskemiye toleransının artırılması amacıyla bölgesel veya sistemik hipotermi, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokeleri, eksitatuvar aminoasit antagonistleri ve anestezi maddeleri kullanılmaktadır.

Kortikosteroidler

Steroidlerin koruyucu etkileri, membran stabilize etme, immün sistem modülasyonu ve serbest radikal temizleyici etkileri ile ilgili olduğu düşünülüyor (70). Fowl ve arkadaşları (91), tavşanlarda 21-amino steroid olan U-74006F vererek spinal kord hasarını önlediklerini rapor etmişlerdir.

Kalsiyum Antagonistleri

Kalsiyum kanal blokelerinin serebral iskemiden sonra, beyin kan akımını artırdığı ve böylece nörolojik fonksiyonları olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Schitteck ve arkadaşları (92). Bir kalsiyum antagonisti olan nimodipinle spinal kord iskemisini de önlediğini deneysel olarak göstermişlerdir.

Eksitatuvar Aminoasit Antagonistleri

Eksitatuvar amino asit antagonistlerinde n-metil d-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti MK-801'in tavşan spinal kord iskemi modelinde koruyucu etkisinin olduğunu bildirmişti (69). Tobinaga (93) tavşan modelinde MK-801'i intra-aortik vererek postoperatif spinal kord hasarının önemli ölçüde azaldığını rapor etmiştir.

Anestezi Ajanlar

Vasküler düz kasları üzerinde gevşetici etkisi bulunan ve sinaptik iletiyi bloke eden tiopental gibi barbitüratların, membran iyon pompa ve kanallarını inhibe ederek hücre membran stabilizasyonunu sağlayan kokain türevi lokal anestezi ajanların hayvan deneylerinde nöroprotektif oldukları gösterilmiştir (70). Benzer olarak opiat reseptör antagonisti olan naloksanın, deney hayvanlarında nöroprotektif olduğu ve iskemik spinal kord hasarını önlemede yararlı olabileceği ileri sürülmektedir (69).

Hipotermi

Hipoterminin iskemik nöral doku ve spinal kord üzerindeki koruyucu etkisi deneysel ve klinik olarak bilinen bir özelliktir (94,95). Spinal kordun soğutulması, ya tüm vücudun soğutulması şeklinde yani sistemik hipotermi olarak ya da lokal soğutma şeklinde olabilir. Lokal hipotermi, epidural-intratekal soğutma veya intraaortik soğutma şeklinde uygulanabilir (96). Scott ve arkadaşları (97) domuz modelinde aksesör hemiazigoz veninden adenozin içeren hipotermik isotonik sodyum klorür solüsyonunu retrograd yolla paravertebral ve spinal venlere vererek spinal kordu lokal soğuttuklarını ve optimum koruma sağladıklarını gösterdiler. Hipotermi, soğutmanın derecesi oranında nöral dokunun O₂ tüketiminin %5 azaldığını göstermiştir (94). Hipoterminin koruyucu etkisi, ısı seviyesi ile ilişkili olarak hücre içi enzimatik reaksiyonları ve nöral dokunun metabolik ihtiyaçlarını azaltması temeline dayanır. Böylece oksijen ve kan ihtiyacı orantılı olarak azalır (98).

Nörotermide yüksek enerjili fosfalar hızlı bir şekilde tükenir. Bununla beraber Norwood ve arkadaşları (99) hipotermi ile iskemi esnasında ATP ve fosfokreatinin depolarının devam ettiğini ve reperfüzyon esnasında bu depoların hızla rejenere olduklarını gösterdiler. Yine aynı çalışmacılar hipoterminin reperfüzyon esnasında oluşan “no reflow” fenomeninin zararlı etkilerin de azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca hipotermi membran stabilizasyonunu sağlar eksitatuvar nörotransmitterlerin salımını azaltır (99). Total kardiopulmoner bypass ve derin hipotermik sirkülatuar arrest yönteminin, desenden torakal ve torakoabdominal aort anevrizmalarının tedavisinde spinal kordu korumak üzere kullanılması önerilmektedir (100). Ancak hemoraji, pulmoner sistem ve sinir sistemi komplikasyonları bu yöntemin yaygın kullanımını sınırlamaktadır (69).

2.5.3. REPERFÜZYON HASARININ AZALTILMASI

Reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla serbest radikal temizleyicileri, immün sistem düzenleyicileri ve adenozin gibi birçok ajan kullanılmıştır. Aortik kross-klemp uygulaması sırasında, spinal kord kan akımının azalması nedeniyle iskemi ve ardından post-iskemik resirkülasyon hasarının kaçınılmaz olduğu bilindiğine göre, bu hasarı en aza indirmek üzere primer sorumlu ajanların ortamdan uzaklaştırılması önem kazanmaktadır.

Serbest oksijen radikal giderici olarak süperoksit dismutaz gibi enzimler, allopurinol, E vitamini, koenzim q, sistein, glutatyon, albümin, serüloplasmin, transferin gibi çeşitli maddeler mevcuttur. Bu endojen ve eksojen radikal temizleyicisi ve inhibitörleri hakkında literatürde çok geniş bilgi mevcuttur (101, 102).

2. 6. İNFLİKSİMAB

İnfliksimab, tümör nekroz faktor alfa'nın hem çözünebilen, hemde trans membranöz formlarına yüksek afinite ile bağlanan, ama lenfotoksin alfa'ya (TNF-Beta) bağlanmayan bir kimerik insan-mürin monoklonal antikorudur. İn vivo olarak infliksimab, insan TNF alfa'sı ile stabil kompleksler oluşturur. Bu süreç TNF alfa'da biyoaktivite kaybıyla paralel gider.

İnfliksimab ile tedavi edilen hastaların periferik kanındaki mononüklüer hücreler, tedavi görmeyen hastalarinkine kıyasla uyararla azalmış yanıt vermiş.

İnfliksimab 100 mg Sodyum fosfat, monobazik, monohidrat 2.2 mg Sodyum fosfat, dibazik, dihidrat 6.1 mg Şeker 500 mg Polisorbat 80 0.5 mg Sodyum hidroksit/ hidroklorik asit pH ayarı için içerir.

2.6.1. Endikasyonları:

Romatoid artrit Metotreksat dahil hastalığı modifiye edici diğer ilaçlarla tedaviye karşın hastalığı aktif olan kişilerdeki fiziksel fonksiyonların geliştirilmesinde, bulgu ve semptomların azaltılmasında endikedir. Bu hasta popülasyonunda eklem hasarı gelişiminin azaldığı x-ışını ile yapılan ölçümlerle saptanmıştır. Etkinlik ve güvenilirlik sadece metotreksat ile kombinasyonda kanıtlanmıştır. Crohn hastalığı ve idame tedavisi kortikosteroid ve immünosupresan ilaçlarla konvansiyonel tedaviyi yeterli sürede ve tam olarak aldıkları halde yarar görmeyenler ya da bu tedavileri tolere etmeyen veya tedavilerin uygulanmasının kontrendike olduğu aktif ve şiddetli Crohn Hastalığı'nın tedavisinde,

uygun ve tam olarak uygulanan konvansiyonel tedaviye rağmen (antibiyotikler, drenaj, immünosupresan ilaçlar) yanıt alınamayan, fistül gelişimi olan aktif Crohn hastalarının tedavisinde endikedir. Ankilozan spondilit Konvansiyonel tedavilere yeterli cevap vermemiş, serolojik inflamatuvar aktivite belirteçleri yükselmiş ve şiddetli aksiyel semptomları olan hastaların tedavisinde endikedir.

2.6.2. Kontrendikasyonları:

Remicade tüberküloz ya da sepsis, apseler ve fırsatçı enfeksiyonlar gibi ciddi enfeksiyonları olan hastalarda Orta dereceli ya da ciddi kalp yetmezliğinde kontrendikedir. Remicade, infliksimab'a ilacın bileşenlerinden herhangi birine ya da mürin proteinlerine karşı bilinen bir aşırı duyarlılığı olan hastalara verilmemelidir

2.6.3. Uyarılar:

İnfüzyon reaksiyonları ve hipersensitivite Remicade tedavisinde, anafilaktik şok dahil akut infüzyon etkileri ve gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonları görülmüştür

İnfüzyon esnasında (birkaç saniye içinde) ve sonrasındaki birkaç saat içinde anafilaktik şok dahil akut infüzyon reaksiyonları gelişebilir ve bu reaksiyonlar büyük olasılıkla birinci ve ikinci infüzyonlarda görülmektedir. Eğer akut infüzyon reaksiyonları gelişirse, infüzyon derhal kesilmelidir. Bu etkilerin tedavisinde antihistaminikler, kortikosteroidler, adrenalin gibi ilaçlar ve hava yolunu açık tutmak için gereken diğer araçlar acil kullanım için hazır bulundurulmalıdır. Hafif ve geçici etkilerin engellenmesi amacıyla hastalara önceden antihistaminik, hidrokortizon ve/veya parasetamol verilebilir. İnfliksimaba karşı antikorlar gelişebilir ve bu durum infüzyon reaksiyonlarının sıklığında artma ile ilişkilendirilmiştir. Oluşan infüzyon reaksiyonları düşük oranda, ciddi alerjik reaksiyonlardır. Ayrıca Crohn hastalarında, infliksimaba karşı antikor gelişmesi ile azalmış cevap süresi arasında ilişki olduğu gözlenmiştir. İmmünomodülatörler ile birlikte kullanım ise infliksimaba karşı antikor gelişme insidansında ve infüzyon reaksiyonlarının sıklığında

azalma sağlamıştır. Birlikte uygulanan immünomodülatör tedavinin etkisi, idame tedavisi alan hastalara göre, epizodik tedavi gören hastalarda daha güçlüdür. İmmünosupresan ilaçları Remicade tedavisi öncesinde ya da tedavi sırasında bırakan hastalarda, bu antikörlerin gelişme riski daha fazladır. Bu antikörler serum örneklerinde her zaman belirlenemeyebilirler. Şiddetli reaksiyonların oluşması durumunda, semptomatik tedavi yapılmalı ve Remicade kesilmelidir. Remicade tedavisi yapılmaksızın geçen 2 ilâ 4 yıllık bir süreden sonra yeniden Remicade verilen Crohn hastalarının önemli bir oranında (%25), gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonları görülmüştür. Belirti ve semptomlar, tekrar tedaviyi takiben 12 gün içinde, ateş ve/veya döküntü ile seyreden miyalji ve/veya artraljidir. Bazı hastalarda aynı zamanda kaşıntı, yüzde, elde ve dilde ödem, disfaji, ürtiker, boğaz ağrısı ve/veya baş ağrısı da görülmüştür. Hastalara, herhangi bir gecikmiş advers etki gelişmesi durumunda, derhal doktora başvurmaları öğütlenmelidir. Eğer hastalar uzun bir aradan sonra tekrar tedavi edilirlse, gecikmiş aşırı duyarlılık bulgu ve semptomları yönüyle, yakından izlenmelidirler. Enfeksiyonlar Remicade tedavisi sırasında ve sonrasında hastalar tüberküloz da dahil olmak üzere enfeksiyonlar açısından yakından izlenmelidir. Remicade'in eliminasyonu altı aya kadar uzayabildiği için, hastaların bu dönemde yakından izlenmeleri önem taşımaktadır. Hastada ağır bir enfeksiyon ya da sepsis gelişmesi durumunda Remicade tedavisine son verilmelidir. TNFa, inflamasyon olayında bir aracı maddedir ve hücrel immün yanıtları modüle eder. Deneysel veriler TNFa'nın intraselüler enfeksiyonları gidermede yararlı olduğunu göstermektedir. Klinik çalışmalarda infliksimab ile tedavi edilen bazı hastalarda enfeksiyonlara karşı vücut direncinin azaldığı görülmüştür. TNFa'nın baskılanması aynı zamanda, ateş gibi enfeksiyon semptomlarını maskeleyebilir. İnfliksimab ile tedavi edilen hastalarda, bazıları fatal olmak üzere fırsatçı enfeksiyonlar ve sepsis dahil diğer enfeksiyonlar rapor edilmiştir. Remicade tedavisi gören hastaların bazılarında miliyer tüberküloz dahil olmak üzere aktif tüberküloz ve ekstrapulmoner yerleşimli tüberküloz vakaları rapor edilmiştir. Bu vakaların bazıları ölümle sonuçlanmıştır. Tedaviye başlanmadan önce hastalar aktif ve inaktif (latent) tüberküloz açısından değerlendirilmelidir. Bu değerlendirme, kişisel tüberküloz hikayesi veya daha önce tüberkülozla olası temas ve devam eden ve/veya daha önce görülmüş immünosupresif tedavi gibi ayrıntılı bir medikal hikayeyi içermelidir. Tüm hastalarda tüberkülin deri testi, göğüs röntgeni gibi uygun görüntüleme testleri yapılmalıdır. Test sonuçları Remicade Hasta Bilgi Kartı'na kaydedilmelidir. Özellikle şiddetli derecede hasta

ya da immünoşupresif olan hastalarda tüberkülin deri testi yalancı negatif çıkabileceğinden doktorlar bu konuda dikkatli olmalıdır. Aktif tüberküloz tanısı konulursa Remicade tedavisine başlanmamalıdır. İnaktif (latent) tüberküloz tanısı konulursa, Remicade tedavisine başlamadan önce yerel tedavi önerileri doğrultusunda profilaktik anti-tüberküloz tedavisi yapılmalıdır. Böyle bir durumda Remicade tedavisinin yarar/zarar oranı dikkatle değerlendirilmelidir. Akut süpüratif fistülleri olan fistülizan Crohn hastalarında, özellikle apse olmak üzere muhtemel bir enfeksiyon kaynağı ekarte edilmediği sürece Remicade tedavisine başlanmamalıdır. Tüm hastalar Remicade tedavisi sırasında ya da sonrasında tüberküloz belirti/semptomları görmeleri halinde (inatçı öksürük, kaşeksi/kilo kaybı, düşük derece ateş gibi) doktora başvurmaları konusunda bilgilendirilmelidir. Remicade'in TNFa inhibitörü ve anakinra ile birlikte kullanılması Remicade'in etanersept (TNFa'yı inhibe eden bir başka ajan) ve anakinra (interlökin-1 reseptör antagonistinin rekombinant, non-glikozile formu) ile birlikte uygulanması, şiddetli enfeksiyon ve nötropeni riskinde artış ile ilişkili bulunmuş; bu ilaçların tek başlarına sağladıkları yarardan fazla bir etki gözlenmemiştir. Remicade'in anakinra ile kombinasyonunun etkinliği ve güvenilirliği ortaya konmamıştır. Bu nedenle bu kombinasyon önerilmemektedir. Otoimmünite Anti-TNF tedavi sonucunda ortaya çıkan göreceli TNFa yetmezliği, otoimmün bir prosesin başlamasına neden olabilir. Eğer bir hastada Remicade tedavisini izleyerek lupus-benzeri sendromu andıran semptomlar gelişirse ve hastada çift-sarmallı DNA'ya karşı antikorlar pozitif ise, tedavi kesilmelidir (Bkz. Advers **Etkiler**; Anti-nükleer antikorlar (ANA) /Çift sarmallı DNA (dsDNA) antikorları). Nörolojik Bozukluklar Seyrek olarak görülen optik nevrit, nöbet, yeni klinik semptom gelişmesi veya klinik semptomların alevlenmesi ve/veya multipl skleroz dahil demiyelinize bozuklukların radyografik kanıtları, infliksimab ve TNFa'yı inhibe eden diğer ajanlar ile ilişkilendirilmiştir. Daha önceden ya da halen santral sinir sistemi demiyelinize bozukluğu olan hastalarda Remicade tedavisinin yarar/zarar oranı dikkatlice değerlendirilmelidir. Malignite ve Lenfoproliferatif Bozukluklar İnfliksimab kullanmanın bu bozuklukların oluşma riskini artırıp arttırmadığı bilinmemektedir. Kalp Yetmezliği Remicade hafif derecede kalp yetmezliğinde (NYHA-sınıf I/II) dikkatle kullanılmalıdır. Hastalar yakından takip edilmeli ve yeni kalp yetmezliği semptomları gelişmesi ya da semptomların kötüleşmesi durumunda Remicade kesilmelidir. Diğer İnfliksimabın fertilite ve genel reproduktif fonksiyon üzerine etkileri hakkındaki preklinik veriler yetersizdir. Remicade tedavisi görmüş hastalara cerrahi girişim

uygulanmasının güvenilirliği ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Cerrahi girişim planlanacağı zaman Remicade'in uzun yarılanma ömrü dikkate alınmalıdır. Remicade alan hastada cerrahi girişime ihtiyaç duyulduğunda, hasta enfeksiyonlar açısından yakından izlenmeli ve uygun önlemler alınmalıdır. Artroplasti uygulanan hastalarda Remicade kullanılması ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Yaşlılarda Kullanım: Remicade'in yaşlı hastalardaki farmakokinetiği incelenmemiştir. Karaciğer ya da böbrek hastalığı olan kişilerde çalışma yapılmamıştır (Bkz. Farmakokinetik Özellikler). Pediatrik Hastalar: Romatoid artrit ve Crohn'lu 0-17 yaş arasındaki çocukların Remicade ile tedavisi çalışılmamıştır. Güvenilirliği ve etkinliği belirlenene kadar, bu yaş grubunda Remicade ile tedaviden kaçınılmalıdır. Gebelik ve Laktasyonda Kullanım: Gebelik kategorisi B'dir. İnfliksımab kullanmış gebe kadınlar ile ilgili klinik veri bulunmamaktadır. TNFa'yı inhibe ettiği için, infliksımabın hamilelikte uygulanması, yenidoğandaki normal immün cevabı etkileyebilir. Hamilelik boyunca Remicade uygulanması önerilmemektedir. Gebe kalma olasılığı olan kadınların son Remicade tedavisinden sonraki en az altı ay boyunca uygun kontrasepsiyon yöntemlerini kullanmaları önerilmektedir. Remicade'in insan sütüne geçip geçmediği ya da bebek emdikten sonra sistemik olarak emilip emilmediği bilinmemektedir. İnsan immünoglobulinlerinin süte geçmesi nedeniyle, Remicade tedavisinden sonra en az altı ay süre ile emzirmeye ara verilmelidir. Araç ve Makine kullanımı üzerine etkisi ile ilgili çalışma yoktur

2.6.4. Yan etkiler:

İnfliksimab ile ilgili klinik çalışmalarda, infliksimab ile tedavi edilen hastaların %61'inde ve plasebo verilen hastaların %39'unda yan etkiler gözlenmiştir. Tedaviye bağlı olabileceği düşünülen advers ilaç reaksiyonları, Tablo 1'de sistem-organ sınıflarına ve rastlantı sıklığına (sık, 1/100 ile 1/10 arasında; nadir, 1/1000 ile 1/100 arasında çok nadir 1/10000 ile 1/1000 arasında) göre listelenmiştir. Frekans, plasebo verilen 227 ve Remicade verilen 1442 hastayı kapsayan klinik çalışmaların (esas olarak Crohn hastalığı ve romatoid artrit) verilerinde, advers ilaç reaksiyonlarının plaseboya göre insidans fazlalığı temelinde belirlenmiştir. En sık bildirilen advers ilaç reaksiyonları infüzyona bağlı reaksiyonlardır. Tedavinin bırakılmasını en sık gerektiren nedenler dispne, ürtiker ve başağrısı gibi infüzyona bağlı reaksiyonlardır. Klinik Çalışmalarda İstenmeyen Etkiler: Direnç mekanizması bozuklukları Sık: Viral enfeksiyon (örn. influenza, herpes enfeksiyonları), ateş Nadir: Abse, selülit, moniliyazis, sepsis, iyileşmede gecikmeler, bakteriyel enfeksiyon, fungal enfeksiyon, tüberküloz Çok Nadir: Granülomatöz lezyon İmmun bozukluklar Sık: Serum hastalığına benzer reaksiyonlar Nadir: Otoantikorlar, lupus benzeri sendrom, kompleman faktörü anormallikleri Kan tablosu değişiklikleri Nadir: Anemi, lökopeni, lenfadenopati, lenfositoz, lenfopeni, nötropeni, trombositopeni Psikiyatrik bozukluklar Nadir: Depresyon, konfüzyon, ajitasyon, amnezi, apati, sinirlilik, somnolans, uykusuzluk Santral ve periferik sinir sistemi hastalıkları Sık: Başağrısı, vertigo/sersemlik Nadir: Multipl skleroz düşündüren demiyelinize bozuklukta alevlenme Çok Nadir: Menenjit Görme ve işitme bozuklukları Nadir: Konjunktivit, endoftalmit, keratokonjunktivit Kardiyovasküler hastalıklar Sık: Yüzde kızarmalar Nadir: Ekimoz/hematom, hipertansiyon, hipotansiyon, senkop, peteşi, aritmi, tromboflebit, bradikardi, periferik iskemi, çarpıntı, vazospazm, siyanoz, kalp yetmezliğinde ilerleme Çok Nadir: Dolaşım bozukluğu, taşikardi Solunum sistemi hastalıkları Sık: Üst solunum yolu enfeksiyonu, alt solunum yolu enfeksiyonu (örn. bronşit, pnömoni), dispne, sinüzit Nadir: Epistaksis, bronkospazm, plörezi, solunum yolu alerjik reaksiyonları, pulmoner ödem Çok Nadir: Plöral efüzyon Gastrointestinal sistem hastalıkları Sık: Bulantı, diyare, karın ağrısı, dispepsi Nadir: Konstipasyon, gastroözofajiyal reflü, keilit, divertikülit Çok Nadir: İntestinal perforasyon, intestinal stenoz, gastrointestinal hemoraji Karaciğer ve safra bozuklukları Sık: Karaciğer transaminazlarında yükselme Nadir: Kolesistit, anormal

karaciğer fonksiyonları Çok Nadir: Hepatit Deri ve eklerinin hastalıkları Sık: Döküntüler, kaşıntı, ürtiker, terlemede artış, cilt kuruluğu Nadir: Fungal dermatit/onikomikoz, ekzema/sebore, arpacık, büllöz erüpsiyon, fronküloz, periorbital ödem, hiperkeratoz, rozasea, siğil, anormal deri pigmentasyonu/renklenme, alopesi Kas-iskelet sistemi hastalıkları Nadir: Miyalji, artralji, sırt ağrısı Üriner sistem bozuklukları Nadir: İdrar yolu enfeksiyonu, piyelonefrit Reprodüktif bozukluklar Nadir: Vajinit Vücut geneli – genel hastalıklar Sık: Bitkinlik, göğüs ağrısı, infüzyona bağlı reaksiyonlar Nadir: Ödem, sıcak basmaları, ağrı, titreme/ürperme, anafilaktik reaksiyonlar Uygulama yerinde bozukluklar Nadir: Enjeksiyon bölgesi reaksiyonları TABLO - 2 Pazarlama Sonrası Bildirilen İstenmeyen Etkiler: (sık > 1/100, < 1/10; nadir > 1/1000, < 1/100; çok nadir >1/10000, < 1/1000, çok çok nadir < 1/10000- izole raporlar dahil) Nörolojik bozukluklar Nadir: Demiyelinize bozukluk (multipl skleroz ve optik nevrit gibi), Guillain-Barré sendromu, nöropatiler, uyuşma, deride yanma hissi, nöbet Çok Çok Nadir: Transvers miyelit Kan tablosu değişiklikleri Nadir: Pansitopeni Çok Çok Nadir: Hemolitik anemi, idiyopatik trombositopenik purpura, trombotik trombositopenik purpura Karaciğer Safra Sistemi Nadir: Hepatit Çok Çok Nadir: Hepatoselüler hasar Vücut geneli –genel bozukluklar Sık: İnfüzyona bağlı reaksiyonlar Nadir: Anafilaktik reaksiyonlar Çok Nadir: Anafilaktik şok Direnç mekanizması bozuklukları Nadir: Fırsatçı enfeksiyonlar (Tüberküloz, atipik mikobakteri enfeksiyonu, pneumocystosis, histoplasmosis, coccidioidomycosis, cryptococcosis, aspergillosis, listeriosis ve candidiasis gibi) Çok Çok Nadir: Salmonellosis Solunum sistemi Çok Nadir: İnterstisyel pnömonit/fibrozis İnfüzyona bağlı etkiler: Klinik çalışmalarda infüzyona bağlı etkiler; infüzyon sırasında veya infüzyondan sonraki 1-2 saat içinde meydana gelen herhangi bir advers etki olarak tanımlanmıştır. Tüm klinik çalışmalarda, plasebo verilen hastalarda %9 olmak üzere; Remicade verilen tüm hastaların %20'sinde infüzyona bağlı reaksiyon meydana gelmiştir. İnfüzyonların yaklaşık %3'ünde, ateş ve titreme gibi spesifik olmayan semptomlar, <%1'inde kaşıntı ya da ürtiker, %1'inde kardiyopulmoner reaksiyonlar (esas olarak göğüste ağrı, hipotansiyon, hipertansiyon ya da dispne) ve %0.1'inde ise kombine halde kaşıntı/ürtiker ve kardiyopulmoner reaksiyonlar bildirilmiştir. Hastaların %2'sinde tedavinin durdurulmasına ihtiyaç duyulmuş ve bütün hastalar, tıbbi tedavi ile ya da tedavisiz, iyileşmişlerdir. Hastalardaki infüzyona bağlı etkiler daha çok ilk infüzyonda (%7) görülürken, daha sonraki infüzyonlarda sıklık azalmaktadır (ikinci, %6, üçüncü, %6 ve dördüncü %5vb.). Pazarlama sonrası

deneyimlerde, Remicade uygulanması ile ilişkili olarak; laringeal/ faringeal ödem ve ciddi bronkospazm gibi anafilaktik benzeri reaksiyonlar ve nöbet vakaları bildirilmiştir. Gecikmiş aşırı duyarlılık: Remicade tedavisi yapılmaksızın geçirilen 2 ilâ 4 yıllık aradan sonra yeniden Remicade ile tedavi edilen 41 hastanın incelendiği bir klinik çalışmada, infüzyonu takip eden 3 ilâ 12 gün arasında 10 hastada istenmeyen etkiler gelişti. Bu etkiler, hastaların 6'sında şiddetli olarak değerlendirildi. Buradaki bulgu ve semptomlar ateş ve /veya döküntü ile birlikte miyalji ve/veya artralji idi. Bazı hastalarda aynı zamanda kaşıntı, yüzde, elde ve dilde ödem, disfaji, ürtiker, boğaz ağrısı ve/veya başağrısı da görüldü. Toplam 771 hastaya esas olarak 14 hafta ya da daha kısa, ancak 1 ilâ 55 hafta arasında değişen aralar ile 4797 kez infüzyon uygulanan diğer klinik çalışmaların hiçbirinde, benzeri bir gecikmiş advers etki gözlenmemiştir. Halen devam etmekte olan çalışmalarda ve pazarlama sonrası bildirimlerde, bu etkiler enderdir ve 1 yıldan daha kısa aralarla oluşmuştur. Crohn hastalarına tekrarlayan infüzyonların uygulandığı bir yıl süren bir çalışmada (ACCENT I çalışması) serum hastalığına benzer reaksiyonların insidansı %2.4 bulunmuştur. İmmünojenite: İnfliksimab'a karşı antikor geliştiren hastalarda, antikor-negatif olan hastalara göre infüzyona bağlı reaksiyonların gelişme olasılığı daha fazlaydı (yaklaşık 2-3 kat). Birlikte immünosupresan ilaçların kullanımı ile infüzyona bağlı reaksiyon sıklığı azalmıştır. Klinik çalışmalarda, 1 ila 20 mg/kg'lık tek ve multipl infliksimab dozlarında, herhangi bir immünosupresif tedavi gören 980 hastanın 140'ında (%14) ve immünosupresif tedavi görmeyen 383 hastanın 92'sinde (%24) infliksimaba karşı antikor saptanmıştır. Romatoid artrit hastalarında, metotreksat ile birlikte önerilen tekrar tedavisi doz rejiminin uygulandığı 77 hastanın 6'sında (%8) infliksimaba karşı antikor saptanmıştır. İdame tedavisi alan Crohn hastalarının yaklaşık %6-13'ünde infliksimaba karşı antikor gelişmiştir. Epizodik tedavi gören hastalardaki antikor insidansı 2-3 kat fazladır. Analiz yöntemindeki sınırlamalar nedeniyle, sonuçların negatif çıkması infliksimaba karşı antikor gelişmediğini göstermez. İnfliksimaba yüksek oranda antikor gelişen hastalarda infliksimab etkinliği düşük bulunmuştur (Bkz.'İnfüzyon Reaksiyonları ve Hipersensitivite'). Enfeksiyonlar: Klinik çalışmalarda Remicade ile tedavi edilen hastaların %35'ine kıyasla, plasebo verilen hastaların %22'sinde enfeksiyonlar görülmüştür. Pnömoni gibi ağır enfeksiyonların oranı gerek Remicade gerekse plasebo hastalarında %5 dir (Bkz. Uyarılar/Önlemler). Pazarlama sonrası bildirilen spontan raporlarda en sık bildirilen ciddi advers etki enfeksiyon gelişmesidir. Bu vakalardan

bazıları ölümle sonuçlanmıştır. Bildirilen ölümlerin yaklaşık %50'si enfeksiyona bağlıdır. Bazıları fatal olmak üzere, miliyer tüberküloz ve ekstrapulmoner lokasyonlu tüberküloz dahil, tüberküloz vakaları bildirilmiştir (Bkz. Uyarılar/Önlemler). Malignite ve Lenfoproliferatif bozukluklar: İnfliksımab ile yapılan klinik çalışmalarda ve klinik çalışma sonrası 2914 hastada yapılan, üç yıl süren değerlendirmelerde, plasebo verilen 389 hastada 4 maligniteye karşılık infliksımab verilen hastalarda 6 lenfoma vakası ve 18 diğer tip malignite saptanmıştır. Elde edilen bu oranlar ve insidanslar, popülasyon çalışmalarında öngörülen değerler ile benzerlik göstermektedir. Ağustos 1998'den Ağustos 2002'ye kadar, 107'si Crohn hastalığı, 300'ü romatoid artrit ve 76'sı diğer hastalıklardan olmak üzere 483 şüphelenilen malignite vakası bildirilmiştir. Bu süre içerisinde yaklaşık olarak 340 000 hastanın infliksımab kullandığı tahmin edilmektedir. İnfliksımab kullanmanın bu bozuklukların insidansını artırıp artırmadığı bilinmemektedir. Metotreksat ve infliksımabın birlikte kullanımının uzun dönem immünosupresif etkileri bilinmemektedir. Kalp Yetmezliği: Remicade'in konjestif kalp yetmezliğinde (KKY) incelenmesini konu alan bir Faz II çalışmasında, Remicade kullanan hastalarda, özellikle 10 mg/kg gibi (örneğin maksimum dozun iki katı) yüksek dozda kullananlarda kalp yetmezliğinin ilerlemesine bağlı daha yüksek mortalite insidansı gözlenmiştir. Bu çalışmada, 150 NYHA sınıf 3-4 KKY hastasına (sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu <%35) 6 haftadan fazla süreyle 3 infüzyon (5 mg/kg, 10 mg/kg Remicade veya plasebo) verilmiştir. 38. haftada plasebo verilen 49 hastadan 1'ine karşılık, Remicade verilen 101 hastadan 9'u (2'si 5 mg/kg kullanan ve 7'si 10 mg/kg kullanan) ölmüştür. Antinükleer antikorlar (ANA) /Çift-sarmallı DNA (dsDNA) antikorları: Klinik çalışmaların başlangıcında ANA negatif olan ve Remicade tedavisi gören 1261 hastanın %52'si ve plasebo verilen 129 hastanın %19'unda çalışmalar süresince ANA gelişmiştir. İnfliksımab alan 1507 hastanın 261'inde (%17) anti-dsDNA antikorları saptanırken plasebo alan 162 hastadan hiçbirinde bu antikora rastlanmamıştır. Son değerlendirmede bu 261 hastanın 150'si (%57) anti-dsDNA pozitif olarak kalmıştır. Nadir olarak lupus ve lupus benzeri sendromlar bildirilmiştir.

2.6.5. İlaç etkileşimleri:

Romatoid artrit ve Crohn hastalarında infliksimab ve metotreksatın birlikte kullanımının, infliksimaba karşı antikor gelişmesini azalttığı ve infliksimabın plazma konsantrasyonunu arttırdığına dair kanıtlar vardır. Fakat serum infliksimab ve infliksimab antikoru analiz metodundaki bazı sınırlamalar nedeniyle sonuçlar kesin değildir. Kortikosteroidler infliksimabın farmakokinetiğine klinik olarak anlamlı derecede etki etmiyor gözükmemektedir. İnfliksimeab ve diğer ilaçlar arasındaki olası etkileşimler hakkında bilgi yoktur.

2.6.6. Doz kullanım:

Remicade, erişkinlerde intravenöz kullanıma mahsustur. 0-17 yaş arasında çalışılmamıştır. Remicade tedavisi, romatoid artrit, ankilozan spondilit ya da inflamatuvar barsak hastalığı tanı ve tedavisinde uzmanlaşmış, deneyim sahibi doktorların gözetiminde uygulanmalıdır. Remicade ile tedavi edilen hastalara Hasta Bilgilendirme Kılavuzu ve Remicade Hasta Bilgi Kartı verilmelidir. Remicade uygulanan tüm hastalar, infüzyon sonrasında yan etkiler açısından en az 1-2 saat gözlem altında tutulmalıdırlar. Bu etkilerin tedavisinde gerekli olabilecek, adrenalin, antihistaminikler ve kortikosteroidler gibi ilaçlar ve hava yolunu açık tutmak için gereken diğer araçlar hazır bulundurulmalıdır. İnfüzyona bağlı reaksiyon riskini azaltmak için hastalara Remicade'den önce bir antihistaminik, hidrokortizon ve/veya parasetamol verilebilir (Bkz. Uyarılar/Önlemler). Remicade tedavisi sırasında, kortikosteroidler, immünosupresanlar gibi birlikte uygulanan diğer ilaçlar optimize edilmelidir. Romatoid Artrit Başlangıçta, 2 saatlik bir süre boyunca 3 mg/kg dozunda intravenöz infüzyon; ilk infüzyondan 2 ve 6 hafta sonra 3 mg/kg dozlarında intravenöz infüzyon; ve bundan sonra 8 haftada bir aynı dozda infüzyonlar şeklinde uygulanır. Remicade, metotreksat ile kombinasyon halinde verilmelidir. Şiddetli ve Aktif Crohn Hastalığı 2 saatlik bir süre boyunca 5 mg/kg dozunda intravenöz infüzyon şeklinde uygulanır. Eldeki veriler, başlangıç infüzyonundan sonra iki hafta içinde cevap vermeyen hastalara tekrar infliksimeab tedavisi uygulanmasını desteklememektedir. Cevap veren hastalar için devam edilecek tedavi için alternatif stratejiler şöyledir: İdame tedavisi: İlk

infüzyondan sonraki 2. ve 6. haftalarda ve takibeden her 8 haftada bir 5 mg/kg’lık ek infüzyonlar ya da Tedavinin tekrarlanması: Bulgu ve semptomların tekrarlanması durumunda 5 mg/kg’lık infüzyon (aşağıdaki “Crohn Hastalığı ve Romatoid Artrit’te tedavinin tekrarlanması” bölümüne bakınız) Bu alternatif stratejilere ait karşılaştırmalı yarar/risk verileri yeterli değildir. Fistülizan aktif Crohn hastalığı Başlangıçta, 2 saatlik bir süre boyunca 5 mg/kg dozunda intravenöz infüzyon, ve bu infüzyondan 2 ve 6 hafta sonra 5 mg/kg dozunda ek infüzyonlar uygulanır. Bu üç dozdan sonra hasta cevap vermezse infliksimab tedavisine devam edilmemelidir. Cevap gelişen hastalarda devam edilecek tedavi stratejileri şunlardır: Her 8 haftada bir 5 mg/kg’lık ek infüzyonlar. Her 8 haftada bir 5 mg/kg’lık infüzyon sonrasında belirti ve semptomların tekrarlanması halinde tedavinin tekrarlanması (Bkz.’Crohn hastalığı ve Romatoid Artrit’te tedavinin tekrarlanması’ ve Uyarılar/Önlemler) Crohn hastalığında, belirti ve semptomların tekrarlanması durumunda tekrar uygulama konusunda deneyim sınırlıdır ve devam tedavisi için alternatif stratejilere ait karşılaştırmalı yarar / risk verileri yeterli değildir. Ankilozan Spondilit Başlangıçta, 2 saatlik bir süre boyunca 5 mg/kg dozunda intravenöz infüzyon; ilk infüzyondan 2 ve 6 hafta sonra 5 mg/kg dozlarında intravenöz infüzyon; ve bundan sonra 6 ile 8 haftada bir aynı dozda infüzyonlar şeklinde uygulanır. Hasta 6 hafta içinde cevap vermezse (örneğin 2 dozdan sonra) infliksimab tedavisine devam edilmemelidir. Crohn hastalığı ve Romatoid Artrit’te tedavinin tekrarlanması Bulgu ve semptomların tekrarlanması durumunda, Remicade son infüzyonu izleyen 16 hafta içinde, tekrar uygulanabilir. Crohn hastalığında önceki bir infüzyondan sonra 2-4 yıl süre ile ilaçsız geçen bir dönemi izleyerek yeniden Remicade uygulaması, önemli sayıda hastada gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (Bkz Uyarılar/Önlemler ve Advers Etkiler; “Gecikmiş aşırı duyarlılık”). İlaçsız geçirilen >16 hafta ile 2 yıl arasında, tekrar Remicade uygulamasının gecikmiş aşırı duyarlılık riski bilinmemektedir. Bu nedenle, ilaç kullanılmayan 16 haftalık bir aradan sonra, tekrar uygulama önerilemez. Bu durum hem Crohn hastalığı hem de romatoid artrit için geçerlidir. Ankilozan Spondilit’te tedavinin tekrarlanması Her 6-8 haftada bir yapılan uygulama dışında, tedavinin tekrarlanmasının güvenilirliği ve etkinliği kanıtlanmamıştır. Hazırlama ve Uygulama talimatları için ‘Hazırlama ve Uygulama’ bölümüne bakınız. Hazırlama ve Uygulama: 1. Gereken doz ve Remicade flakonu sayısını hesaplayın. Her Remicade flakonu 100 mg infliksimab içermektedir. Buna göre gerekli olan hazırlanmış çözelti hacmini hesaplayın. 2. Her Remicade flakonu 10 ml enjeksiyonluk

su ile ve 21 gauge (0.8 mm) ya da daha küçük bir iğne kullanılarak hazırlanır. Hazırlandıktan sonra elde edilen çözeltinin her mililitresi 10 mg infliksimab içerir. Flakonun üzerindeki geçme kapak çıkarılır ve tıpanın üstü %70'lik alkollü pamuk ile silinir. Enjektörün iğnesi lastik tıpanın ortasından geçirilerek flakon içine daldırılır. Enjeksiyonluk suyun akım yönü, cam şişenin duvarına doğru olmalıdır. İçinde vakum bulunmayan flakon kullanılmamalıdır. Flakon yavaşça döndürülerek liyofilize tozun çözünmesi sağlanır. Uzun süreli ya da şiddetli karıştırma işleminden kaçınılmalıdır. FLAKONLAR ÇALKALANMAMALIDIR. Hazırlanan çözeltinin köpüklenmesi olağandışı değildir. Çözelti 5 dakika süreyle dinlenmeye bırakılır. Çözelti renksiz ya da açık sarı ve berrak olmalıdır. Infliksimab bir protein olduğu için çözeltinin içinde çok ince birkaç şeffaf partikül gelişebilir. Opak partiküller ya da başka yabancı partiküller veya renk değişikliği var ise kullanmayınız. 3. Hazırlanan Remicade çözeltisinin total hacmi, 0.9 mg/ml (%0.9) infüzyonluk sodyum klorür çözeltisi kullanılarak 250 ml'ye seyreltilir. Bunun için 250 ml'lik 0.9 mg/ml (%0.9) infüzyonluk sodyum klorür çözeltisi şişe ya da torbasının içinden, hazırlanan Remicade çözeltisinin hacmi kadar sıvı çekilir. Hazırlanan çözelti 250 ml'lik infüzyon torbasına ya da şişesine yavaşça eklenir ve yine yavaş hareketlerle karıştırılır. 4. İnfüzyon çözeltisi 2 saatten az olmayan bir süre içinde infüze edilir; dakikada 2 ml'den daha fazla verilmemelidir. Kendi içinde steril, non-pirojenik ve düşük protein bağlayıcı özellikte (delik çapı 1.2 mikrometre ya da daha az) bir infüzyon seti kullanılmalıdır. Koruyucu madde bulunmaması nedeniyle, infüzyon çözeltisinin uygulamasına mümkün olduğunca çabuk ve hazırlanma ve dilüsyondan sonra 3 saat içinde başlanmalıdır. İnfüzyon çözeltisinin hazırlanması ve seyreltilmesi tamamen aseptik koşullarda yapılmışsa, Remicade infüzyon çözeltisi 2 °C ile 8 °C arasında saklamak koşulu ile 24 saat içinde kullanılmalıdır. İnfüzyon çözeltisinin artan kısmı yeniden kullanılmak üzere saklanmamalıdır. 5. Remicade'in diğer ajanlar ile birlikte uygulanmasının araştırıldığı fiziksel ve biyokimyasal geçimlilik çalışmaları yapılmamıştır. Remicade'i aynı intravenöz yoldan, başka ajanlar ile aynı anda infüze etmeyiniz. 6. Parenteral ilaçlar, uygulama öncesinde yabancı maddeler ya da renk bozulması yönünden görsel olarak kontrol edilmelidir. Gözle görülebilir opak partiküller, renk değişimi ya da yabancı partiküllerin bulunması durumunda kullanmayınız. 7. Çözeltinin kullanılmayan bölümü atılmalıdır. Doz Aşımı Direkt toksik etkiler görülmezsizin, tek doz halinde 20 mg/kg'a kadar ilaç uygulanmıştır. Doz aşımı konusunda klinik tecrübe bulunmamaktadır.

3. GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. DENEY GRUBU

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı deneysel araştırma ve mikrocerrahi laboratuvarında yapıldı. Toplam 18 adet, ortalama ağırlığı 2,0 ile 2,5 kg olan erkek sağlıklı yeni Zellenda türü tavşan, n=6 olacak şekilde 3 grup oluşturulmak üzere Gazi Üniversitesi deney hayvanları etik kurulundan alınan onayla denek olarak seçildi. Denekler kontrol ((K) n=6), iskemi reperfüzyon ((İ/R) n=6) ve tedavi grubu ((T) n=6) olarak üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu deneklere normal prosedür uygulanırken klipaj uygulanmadı. İskemi reperfüzyon ve tedavi gruplarına cerrahi prosedür klipaj dahil uygulandı. Klipaj için 50gr kapanma basıncı olan klipler 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 doku örnekleri cerrahi prosedürü takiben 48 saatlik takip sonrasında alındı.

3. 2. ANESTEZİ VE MONİTORİZASYON

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

3. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamıza ait verileri Windows için spss istatistik programında bağımsız çift örneklem t testinde değerlendirildi. Tedavi ve kontrol grupları sonuçları arasında anlamlı farkın olmadığına yönelik kurulan **H₀** hipotezi $p > 0.05$ 'de kabul edildi.

3. 4. CERRAHİ TEKNİK

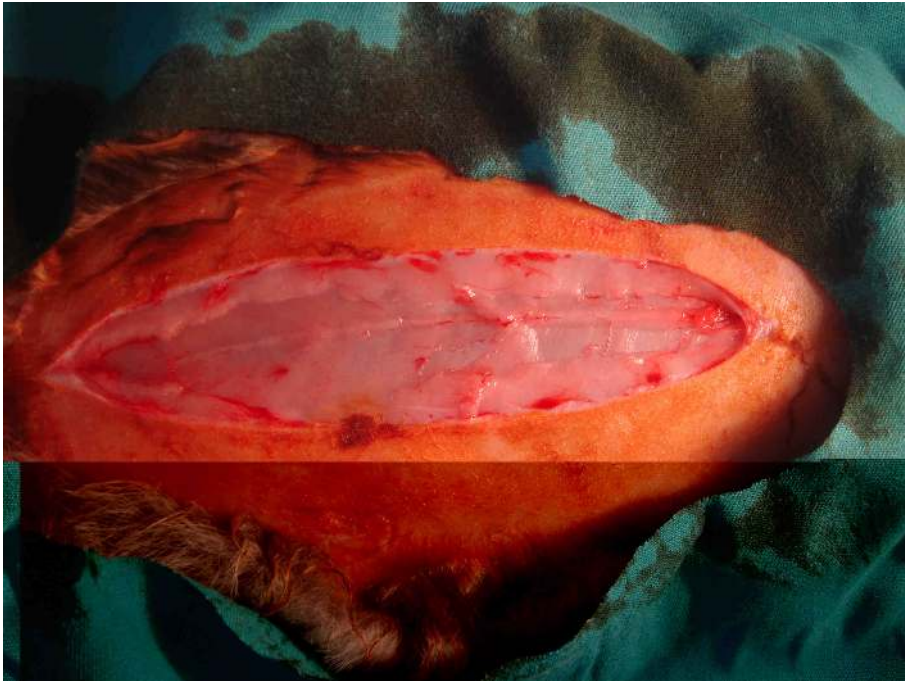
Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonda steril sahada operasyona alındı. Batın traş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfeksiyon steril örtüler örtülüp orta hat laparotomi yapıldı (resim 3.1-3.2). Bağırsaklar sağa deviye edilip retroperitoneal bölgeye ulaşıldı. Cerrahi mikroskop altında mikrocerrahi yöntemle retroperitoneal bölgeye ulaşıp abdominal aorta sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm inferiora ve iliak bifurkasyondan yaklaşık 1 cm superiore doğru çevre dokulardan diseke edilerek çepeçevre döndü (Resim 3,3). İntravenöz uygulanan 150 U.kg^{-1} heparin ile antikoagülasyon sağlanıp kontrol grubu dışındaki deneklerde distale ve proksimale aortik klipaj uygulandı (resim 3.4-3.5). Klipajı takiben batın kasları ve cilt olmak üzere iki kat olarak 3/0 ipek stür materyali ile kapatıldı.



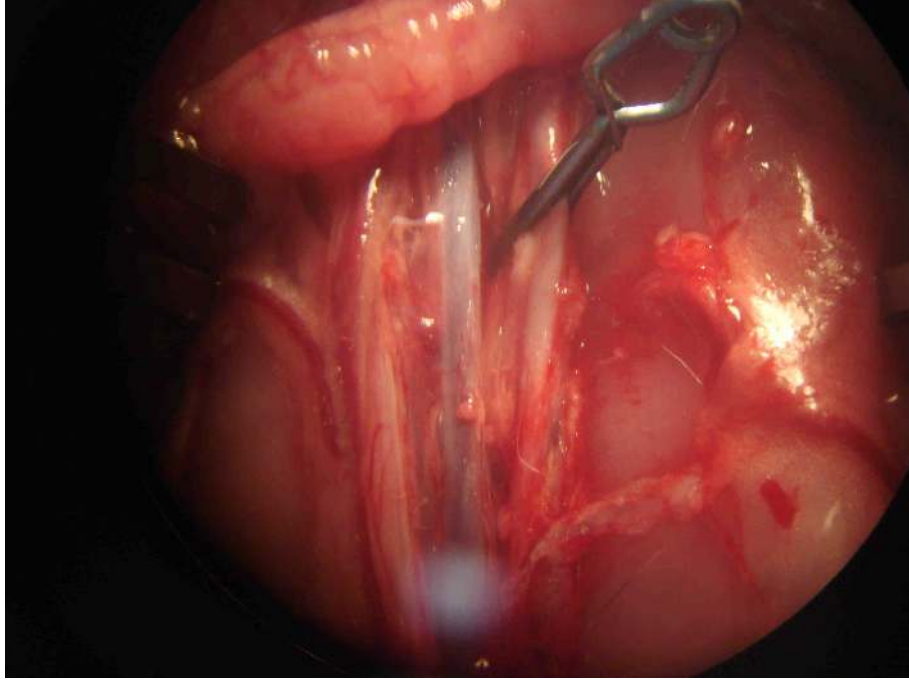
Resim 3.1. Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonda steril sahada operasyona alındı.



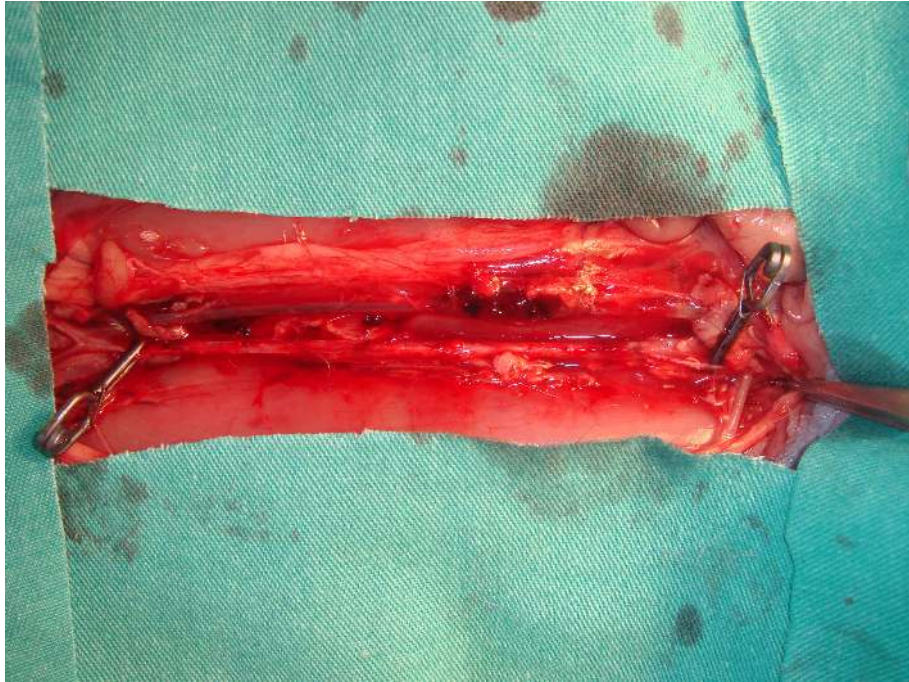
Resim 3.2. Batın traş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfekte edildi.



Resim 3.3. Batında uygulanan cilt insizyonu



Resim 3.4. Cerrahi mikroskop altında sol renal arter çıkışı altından aortaya abdominal klipaj uygulanması.



Resim 3.5. Postmortem denekte aortun sol renal arter çıkışı altından ve bifurkasyon öncesinde klipajının abdominal aortanın diseksiyonu sonrasında görünüşü.

3. 5. FİZYOLOJİK PARAMETRELER

Nörolojik değerlendirme reperfüzyonu izleyen 6. 12. ve 48. saatlerde arka bacakların motor fonksiyonları, uygulanan tedaviyi bilmeyen bir araştırmacı tarafından, Tarlov kriterlerine göre (147) değerlendirildi.

TARLOV SKALASI:

0 alt ekstremitde hareket yok (tam parapleji)

1 hafif hareket

2 yardımla oturabiliyor

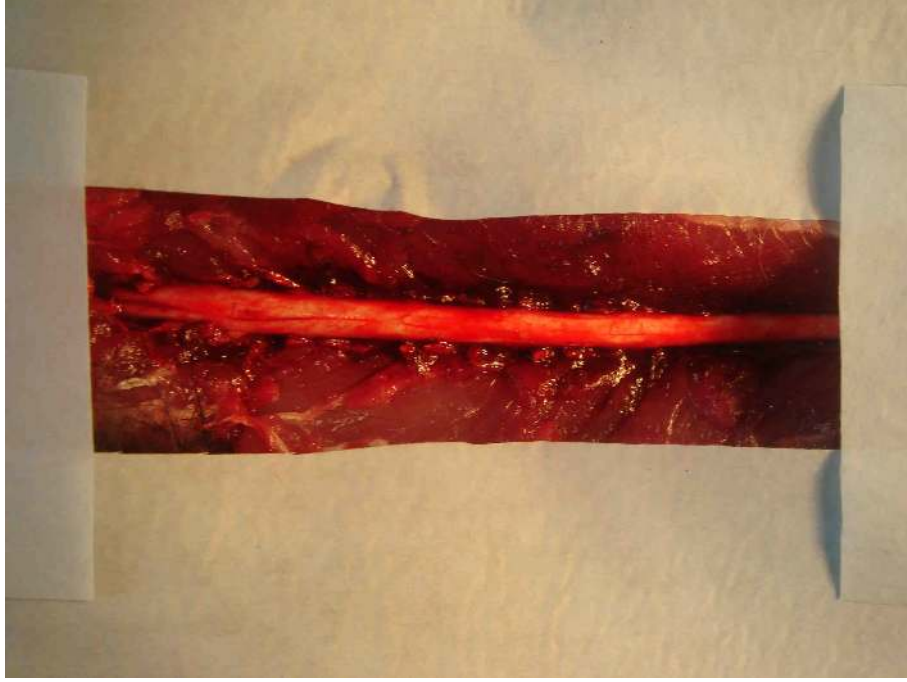
3 tek başına oturabiliyor

4 yürüyebiliyor ancak normal değil

5 normal yürüyebiliyor

3. 6. DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Reperfüzyon sonrası 48. saatte yüksek doz tiyopental (120 mg/kg intraperitoneal) anestezisi altında prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral geniş orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adeleler laterallere sıyrıldı ve torakolomber bileşkeden itibaren sakral segmente kadar total laminektomi ile birlikte tüm posteriyor vertebral elemanlar çıkarıldıktan sonra rotlar kesilerek spinal kord aynı sınırlardan (L2-S1) kesilerek çıkartıldı.



Resim 4.6. Prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral geniş orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adelelerin laterallere sıyrılıp torakolomber bileşkeden itibaren sakral segmente kadar total laminektomi ile birlikte tüm posterior vertebral elemanlar çıkarıldıktan sonraki görünüm.



Resim 7: Kordun lumbosakral segmentinin jilet kullanılarak çıkarılmış görünümü.

Çıkarılan kord hızla jilet kullanılarak L5 düzeyinden transvers olarak kesilerek iki parçaya bölündü. L2-L5 kord segmenti biyokimyasal inceleme için ivedilikle 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 solusyonuna konuldu.

3.7. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Medulla spinalis segmentleri %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 72 saat süreyle tespit edildi. Akar suda 1 gece yıkanan dokular artan etil alkol 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 büyütmelerde incelenerek değerlendirildi.

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

3.7.1. 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 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

3.8. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

3.8.1. 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)

3.8.2. 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), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KI, nitroblue tetrazolium (NBT), sodyum sitrat, Kloramin T, Folin Ciocalteu fenol reaktifi **Sigma** firmasından sağlandı.

3.8.3. Yöntemlerin Uygulanması

Spinal Kord Dokusu TBARS Düzeyinin Ölçülmesi

Spinal kord dokusunda lipid peroksidasyon derecesi tiyobarbütirik asit reaktif madde oluşumu yöntemi ile çalışıldı (106).

Deneyin Yapılışı

Doku örnekleri homojenizatör ile soğuk TCA (1 g doku + 9 ml % 10'luk TCA) içinde buzlu ortamda homojenize edildi. Daha sonra 15 dakika süreyle 4000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant alınarak 4000 rpm'de 8 dakika tekrar santrifüj edildi. Örnekten 750 µl alınarak üzerine 750 µl % 0.67'lik TBA eklendi. Daha sonra örnekler 100°C'de kaynayan su banyosunda 15 dakika bekletildi, ve daha sonra soğutulularak 4000 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 MDA eşdeğeri olarak ifade edildi.

Spinal Kord Dokusu Glutatyon Düzeyinin Ölçülmesi

Spinal kord dokusunda glutatyon (GSH) tayini için modifiye

Ellman yöntemi kullanıldı (107).

Deneyin Yapılışı

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. 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

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi Sun ve arkadaşlarının (108) modifiye ettiği spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. 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 5.000 g'de 30 dakika +4°C'de santrifüj edilip süpernatant alındı. 500 µl kloroform etanol çözeltisi üzerine süpernatandan 500 µl eklenip, vortekslendi. Daha sonra 5.000 g'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 CuCl₂ eklenerek 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapıldı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{\text{Kör Absorbansı} - \text{Numune Absorbansı}}{\text{Kör Absorbansı}} \times 100$$

Kör Absorbansı

% 50 inhibisyonu 1 Ü aktivitenin sağladığı düşünülerek hesaplandı. Süpernatandan da Lowry⁴ 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 (109).

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

CuSO₄5H₂O: % 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 alkalen 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 absorbanst ölçüldü. BSA'nın ölçülen absorbanst, standart olarak kullanıldı.

Hesaplama

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

Sonuçlar mg/ml cinsinden verilir.

Spinal Kord Dokusu AOPP Düzeyinin Ölçülmesi

Doku AOPP (ileri düzey oksidasyon protein ürünleri) Witko-Sarsat ve arkadaşlarının tanımladığı spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür (110).

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 μ M arasındaki konsantrasyonlarda standart olarak hazırlandı).

Deneyin Yapılışı

20 mM Tris-HCl (pH=7.4) ile % 20 (w/v) homojenize edilen doku 5.000 g'de 10 dakika +4°C'de santrifüj edilip süpernatant alındı. 200 μ l süpernatant 1: 5 oranında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile dilue edildi. Üzerine 10 μ l KI ve 20 μ l asetik asit eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm absorbandsda PBS'ye karşı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. 0-100 μ M Kloramin T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden hesaplanarak, süpernatandan da Lowry⁴ metodu ile protein tayini yapılarak AOPP düzeyi nmol/mg protein olarak verildi.

4. BULGULAR

4.1. HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Spinal kord segmentlerinden alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra çeşitli büyütmelerde incelendi. Kontrol grubu deneklerinden alınan kesitlerde normal nöronal ve aksonal yapı izlendi. Ayrıca astrosit- mikroglia hücre infiltrasyonunun normal düzeyde olduğu dikkati çekti. Bu gruptaki hasar Grade 1 olarak değerlendirildi.

İskemi/Reperfüzyon grubuna ait kesilerde motor nöronlarda hasar %60, aksonlarda yoğun vakuolar dejenerasyon, astrosit- mikroglial hücre infiltrasyonu ve ödem dikkati çekti. Bu gruptaki hasar Grade 3 olarak değerlendirildi.

Tedavi uygulanmış grupta ise motor nöronlarda ortalama %40'ın hasarlı olduğu, aksonlarda hafiften orta dereceye doğru değişim gösteren şişme, az boyutta vakuolizasyon ve birkaç hücreyle sınırlı astrosit-mikroglial infiltrasyon izlendi. Bu grup Grade 2 olarak değerlendirildi.

Gruplar arasındaki hasarlı nöron, hasarlı akson ve astrosit-mikroglial hücre infiltrasyonu kantitatif değerleri istatistiksel olarak birbirinden anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p<0.05$)

KONTROL GRUBU

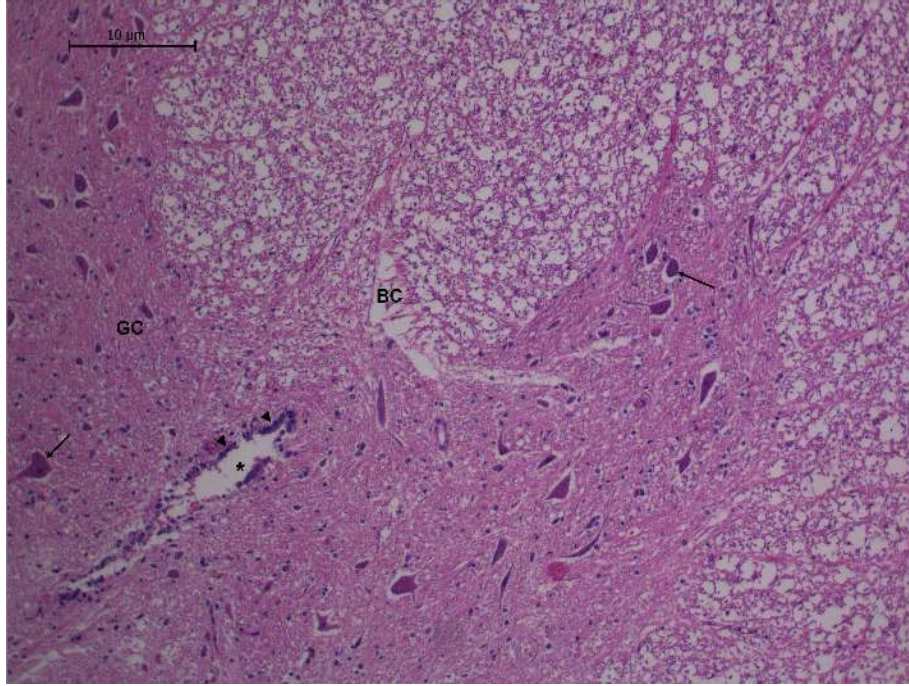
Grup No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre İnfiltrasyonu
1	0/10	G-0	+
2	0/10	G-0	+
3	0/10	G-0	+
4	0/10	G-0	+
5	1/10	G-0	+
6	0/10	G-0	+

İ-R GRUBU

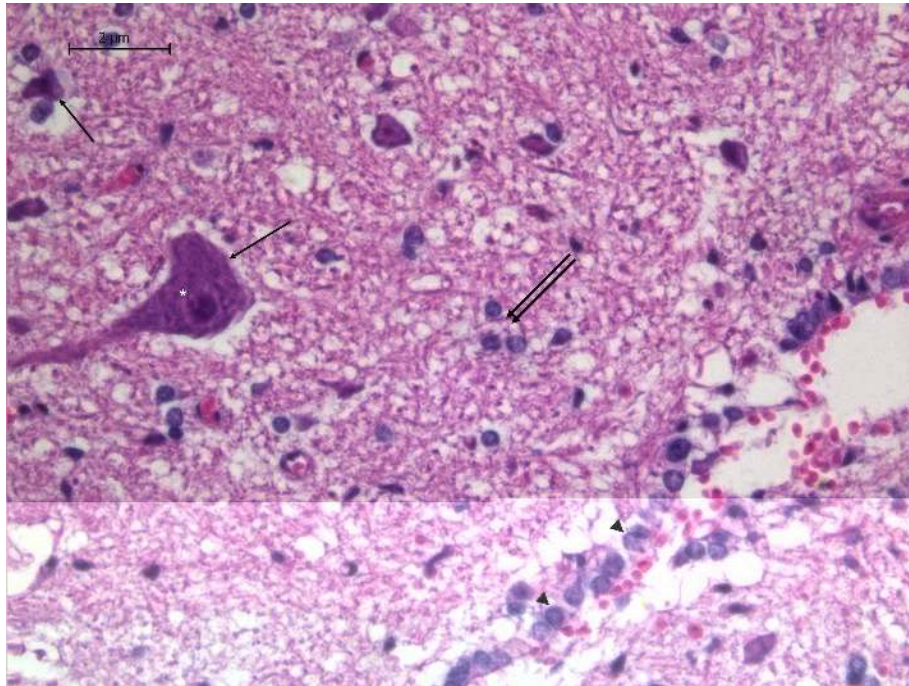
Grup No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre İnfiltrasyonu
1	7/10	G-2	++++
2	7/10	G-2	+++
3	6/10	G-1	+++
4	8/10	G-2	+++
5	8/10	G-2	++++
6	9/10	G-2	+++

TEDAVİ GRUBU

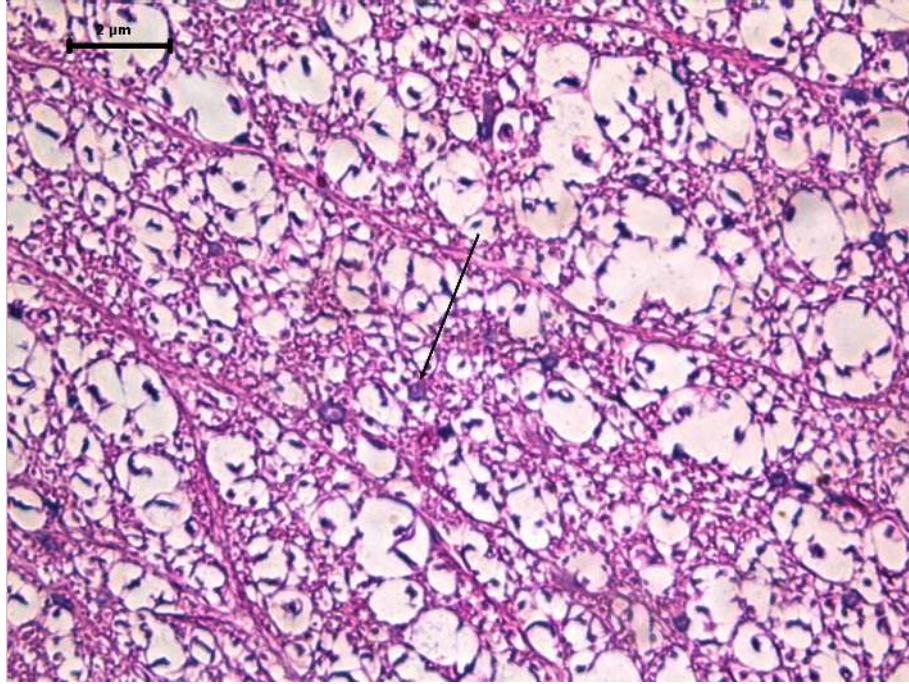
Grup No	Hasarlı Nöron	Hasarlı Akson	A-M Hücre İnfiltrasyonu
1	5/10	G-1	++
2	3/10	G-1	++
3	3/10	G-0	+
4	4/10	G-1	++
5	3/10	G-0	+
6	3/10	G-0	+



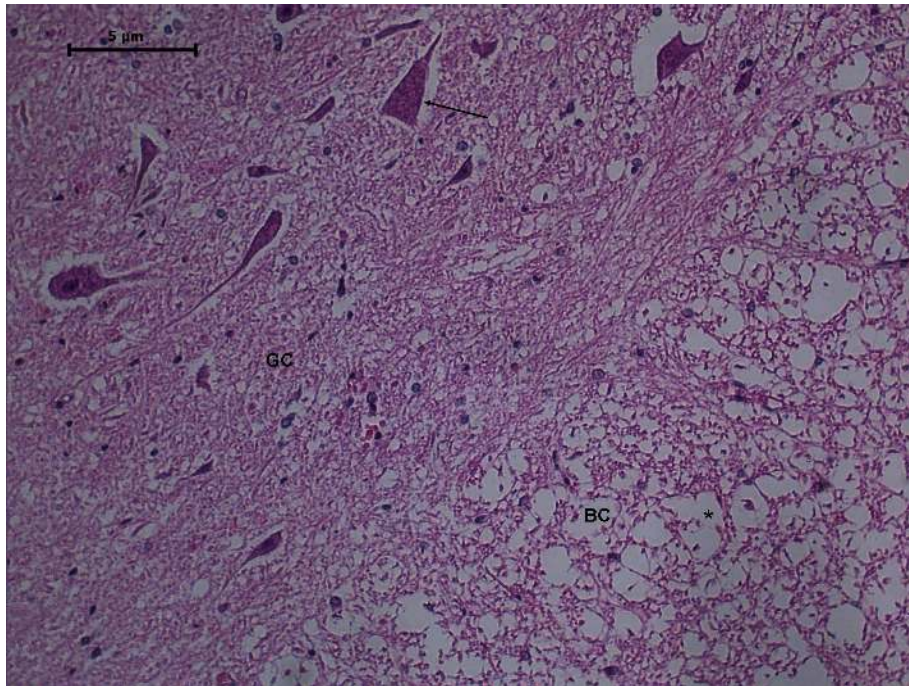
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait medulla spinalis izleniyor. Gri cevher (GC), beyaz cevher (BC), normal yapıda nöron gövdeleri (↑), kanalis santralis (*), çevresinde epandim hücreleri (▼) normal yapıda izleniyor (Bar: 10µm, Hematoksilen-Eozin).



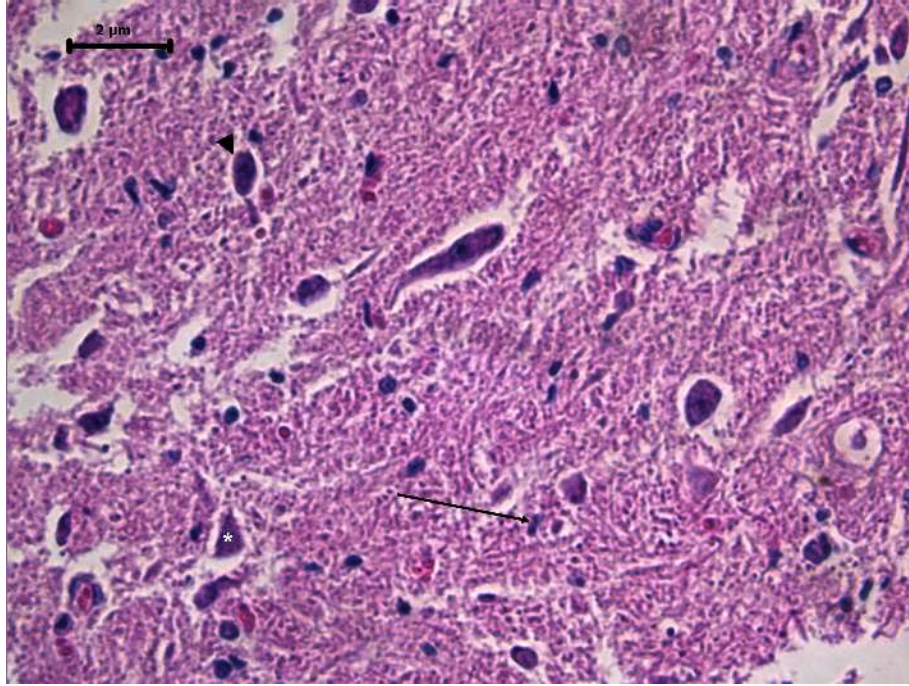
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait medulla spinalis gri cevheri izleniyor. Gri cevher, kanalis santralis, epandim hücreleri (▼), nöronlar (↑), Nissl cisimcikler (*), nöroglia hücreleri (↑↑) normal yapıda izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin)



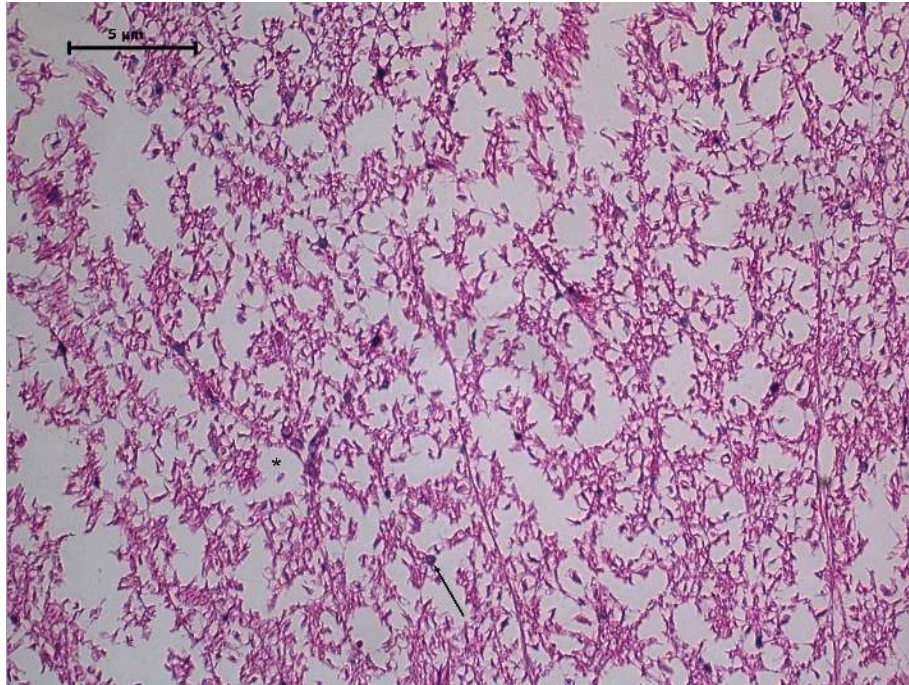
Resim 4.3. Kontrol grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Aksonlar ve gliyal hücreler (↑) normal yapıda izleniyor (Bar: 2 μm, Hematoksilen-Eozin).



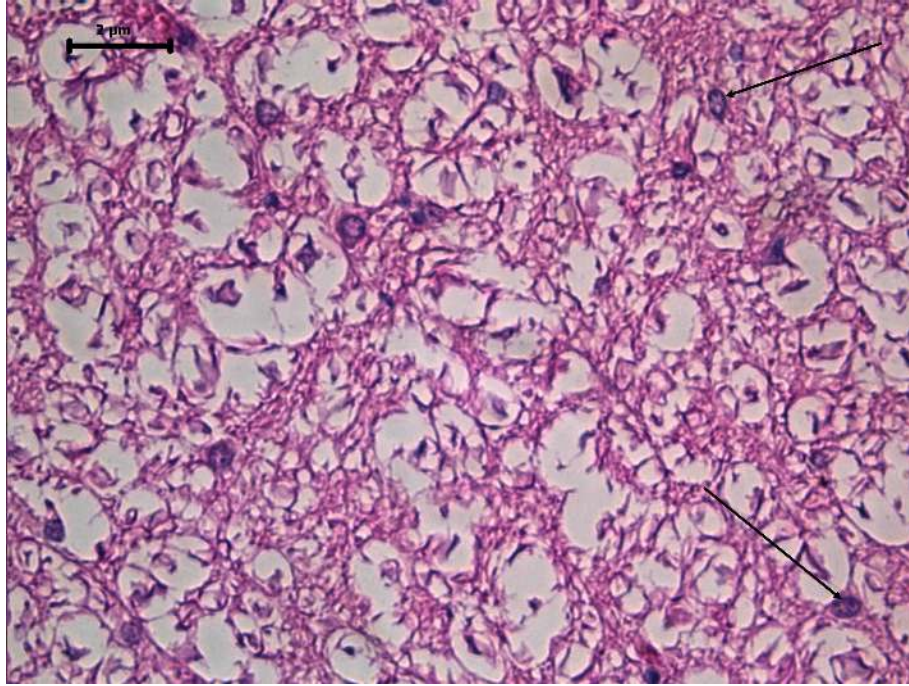
Resim 4.4. İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis izleniyor. Multipolar özelliğini, çekirdeğini ve Nissl cisimciklerini yitirmiş, eozinofilik nöronlar (↑), genişlemiş ve şişmiş aksonal yapılar (*) dikkati çekiyor (Bar: 5 μm, Hematoksilen-Eozin).



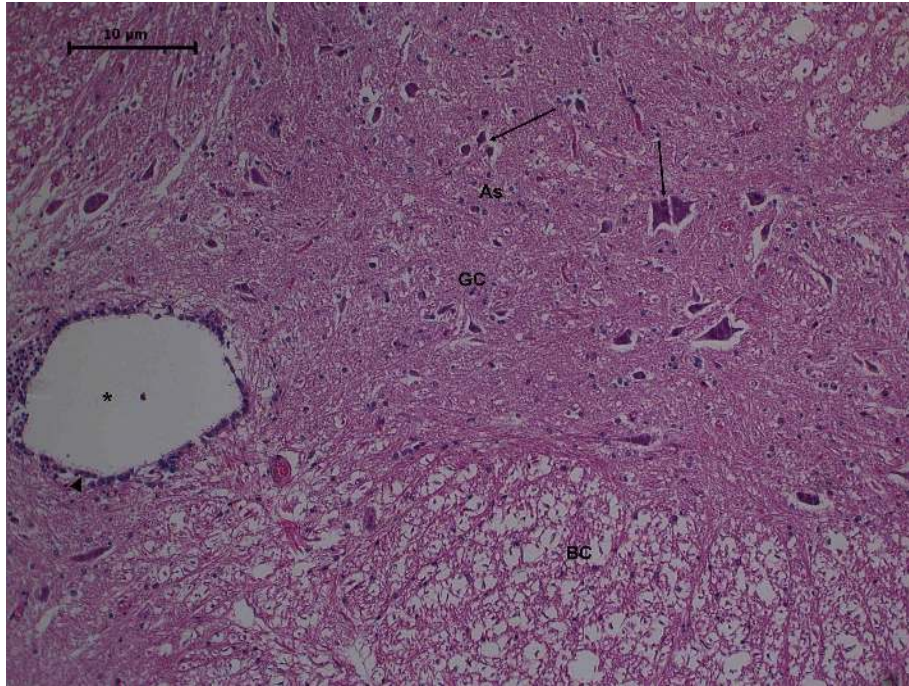
Resim 4.5. İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis gri cevheri izleniyor. Nissl cisimciklerini yitirmiş nöronlar (*), morfolojisi bozulmuş nöronlar (▼), artmış nöroglia hücreleri (↑) dikkati çekiyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin).



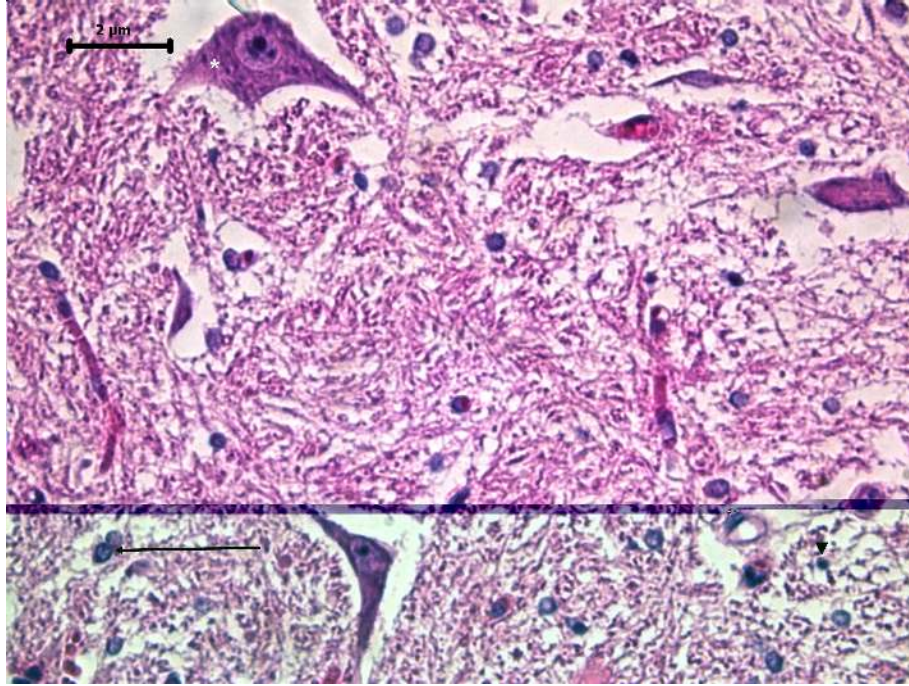
Resim 4.6. İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Genişlemiş ve şişmiş aksonal yapılar (*) dikkati çekiyor (Bar: 5 µm, Hematoksilen-Eozin).



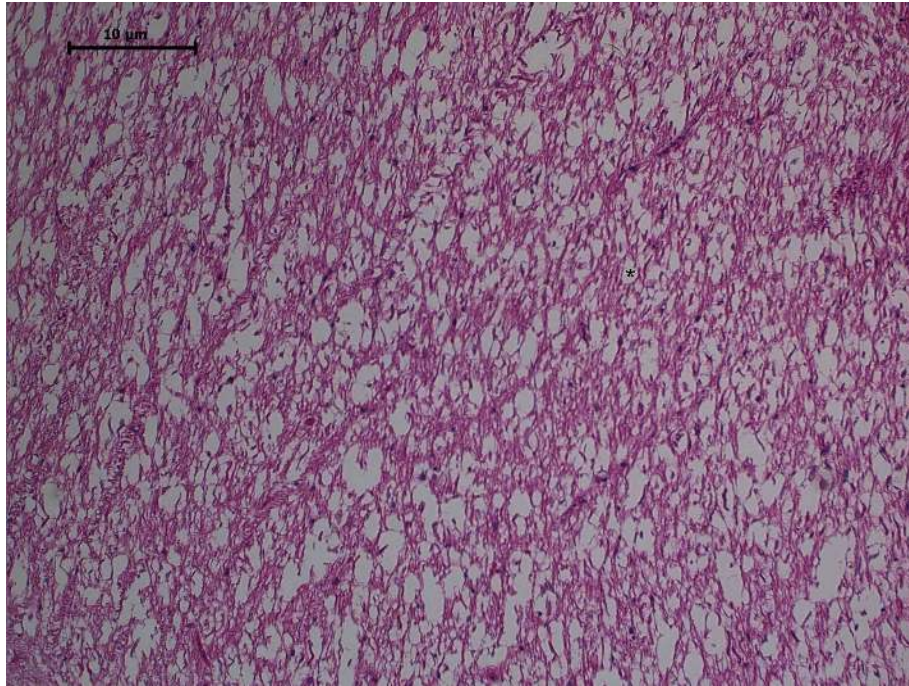
Resim 4.7. İskemi-Reperfüzyon grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Artmış nöroglia hücreleri (↑) dikkati çekiyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin).



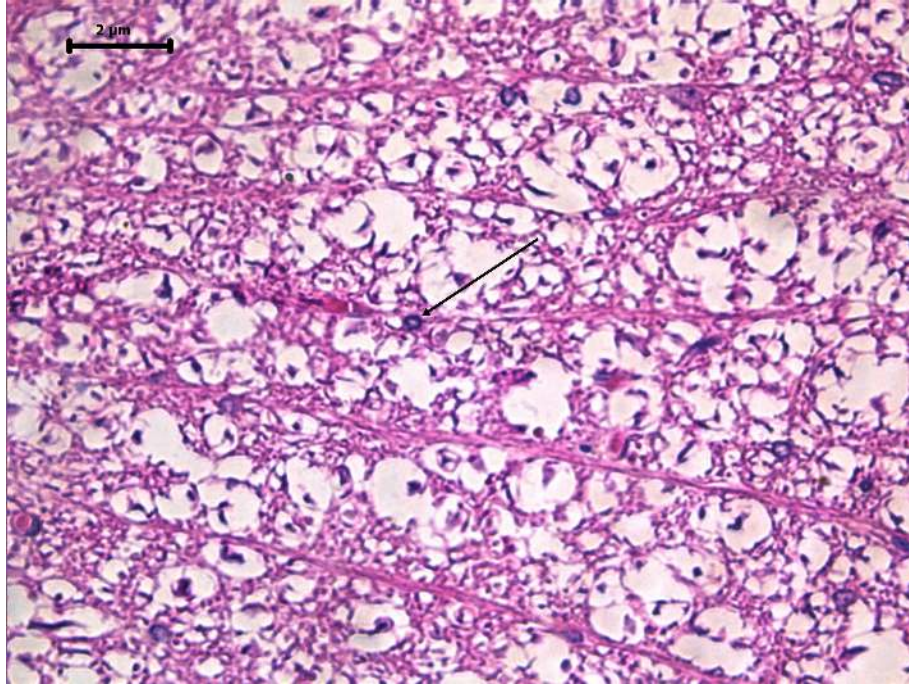
Resim 4.8. Tedavi grubuna ait medulla spinalis beyaz (BC) ve gri cevheri (GC), kanalis santralis (*) ve nöronları (↑) izleniyor (Bar: 10 µm, Hematoksilen-Eozin).



Resim 4.9. Tedavi grubuna ait medulla spinalis gri cevheri izleniyor. Normal yapıda nöronlar ve Nissl cisimcikleri (*), nöroglia hücreleri (↑) izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin).



Resim 4.10. Tedavi grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Normal yapıda aksonlar (*) ve nöroglia dokusu izleniyor (Bar: 10 µm, Hematoksilen-Eozin).



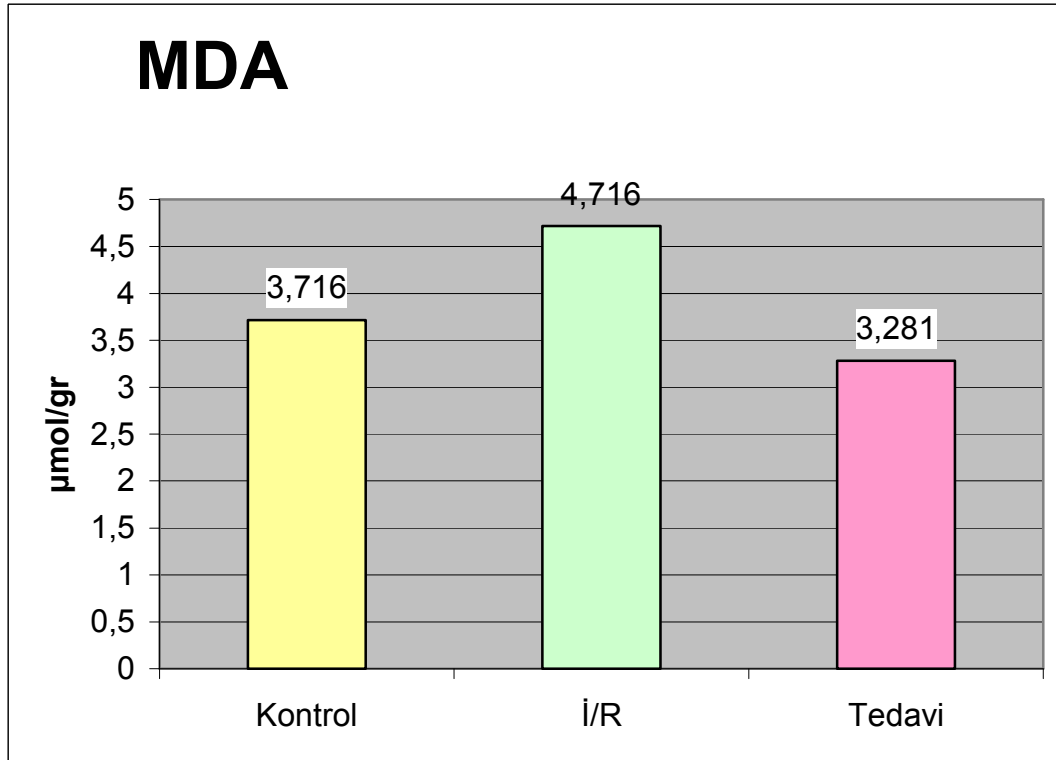
Resim 4.11. Tedavi grubuna ait medulla spinalis beyaz cevheri izleniyor. Normal yapıda aksonlar ve nöroglia hücreleri (↑) izleniyor (Bar: 2 µm, Hematoksilen-Eozin)

4.2. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

4.2.1. MDA DOKU

Tablo 4.1. Doku MDA analiz sonuçları

MDA Doku ($\mu\text{mol/gr}$)	Kontrol	I/R	Tedavi
	3.92	4.4	3.27
	4.02	4.43	3.36
	3.61	4.91	2.81
	3.87	4.98	3.14
	3.41	5.63	2.61
	3.58	3.71	3.74
ORTALAMA	3.716	4.716	3.281

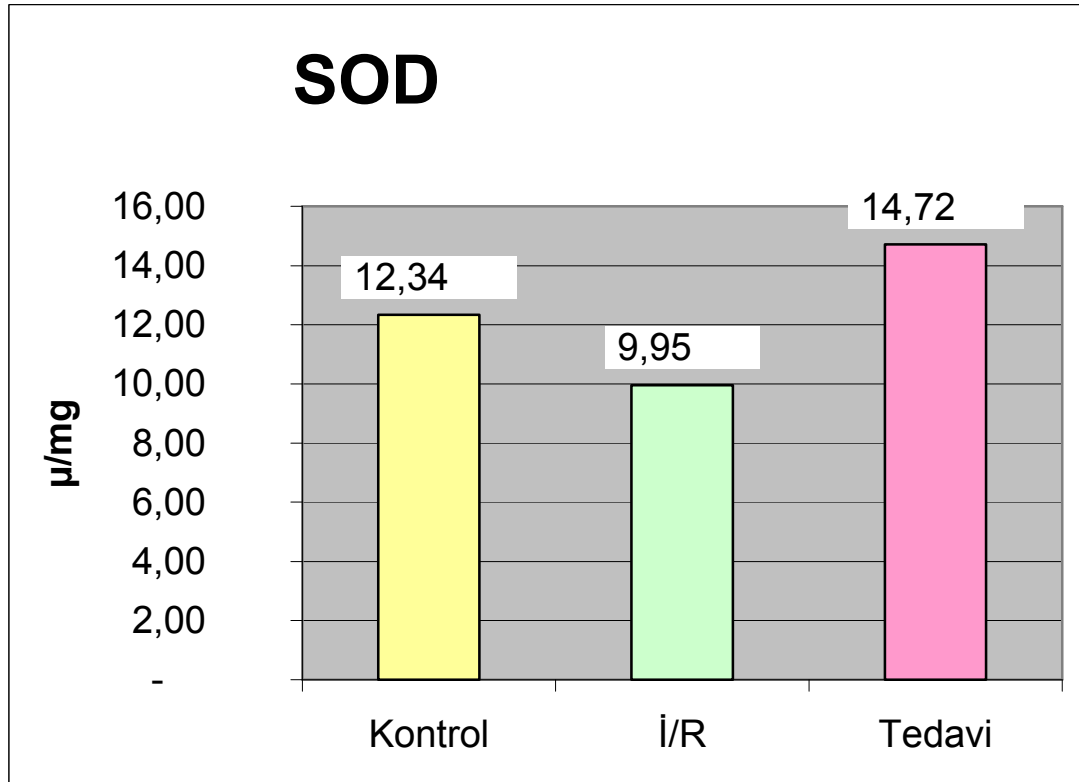


Grafik 4.1. Ortalama doku MDA degerleri

4.2.2. SOD DOKU

Tablo 4.1. Doku SOD analiz sonuçları

SOD (μ /mg)	Kontrol	I/R	Tedavi
	11.91	11.60	13.53
	10.87	9.07	14.31
	12.61	7.96	16.29
	11.94	8.90	14.51
	13.42	11.63	14.10
	12.94	10.27	15.90
ORTALAMA	12.34	9.952	14.716

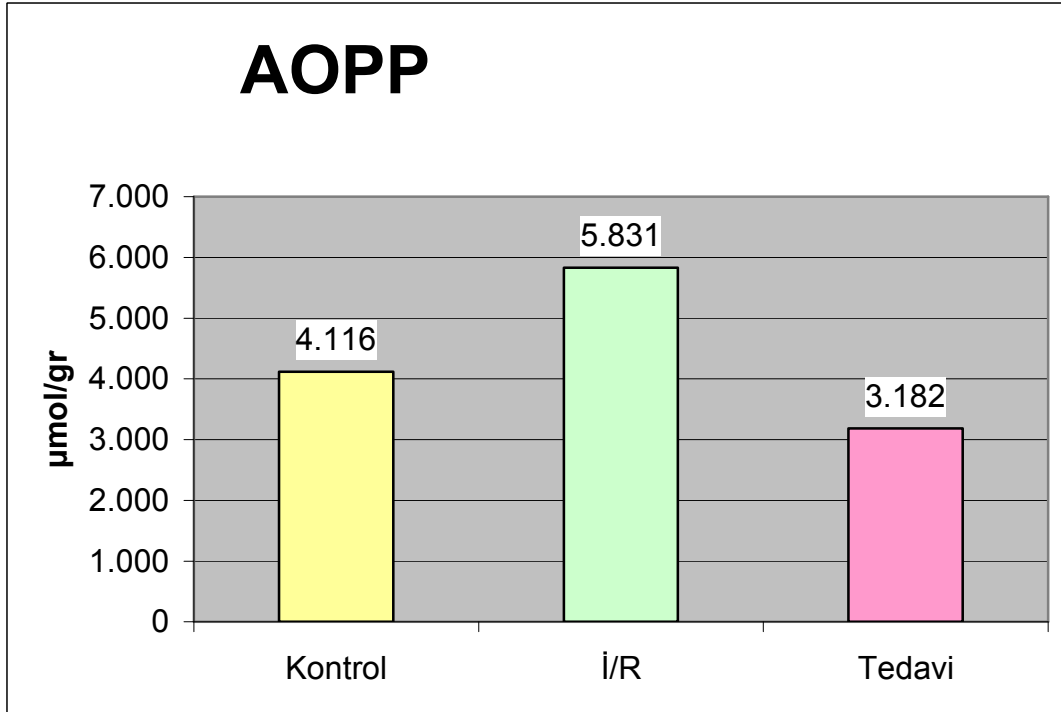


Grafik 4.2. Ortalama doku SOD değerleri

4.2.3 AOPP DOKU

Tablo 4.3. Doku AOPP analiz sonuçları

AOPP ($\mu\text{mol/gr}$)	Kontrol	I/R	Tedavi
	3.49	4.51	3.37
	3.18	7.44	2.82
	4.17	9.71	2.34
	4.61	4.77	3.41
	3.87	5.49	5.02
	4.91	5.58	2.57
ORTALAMA	4.116	5.831	3.182

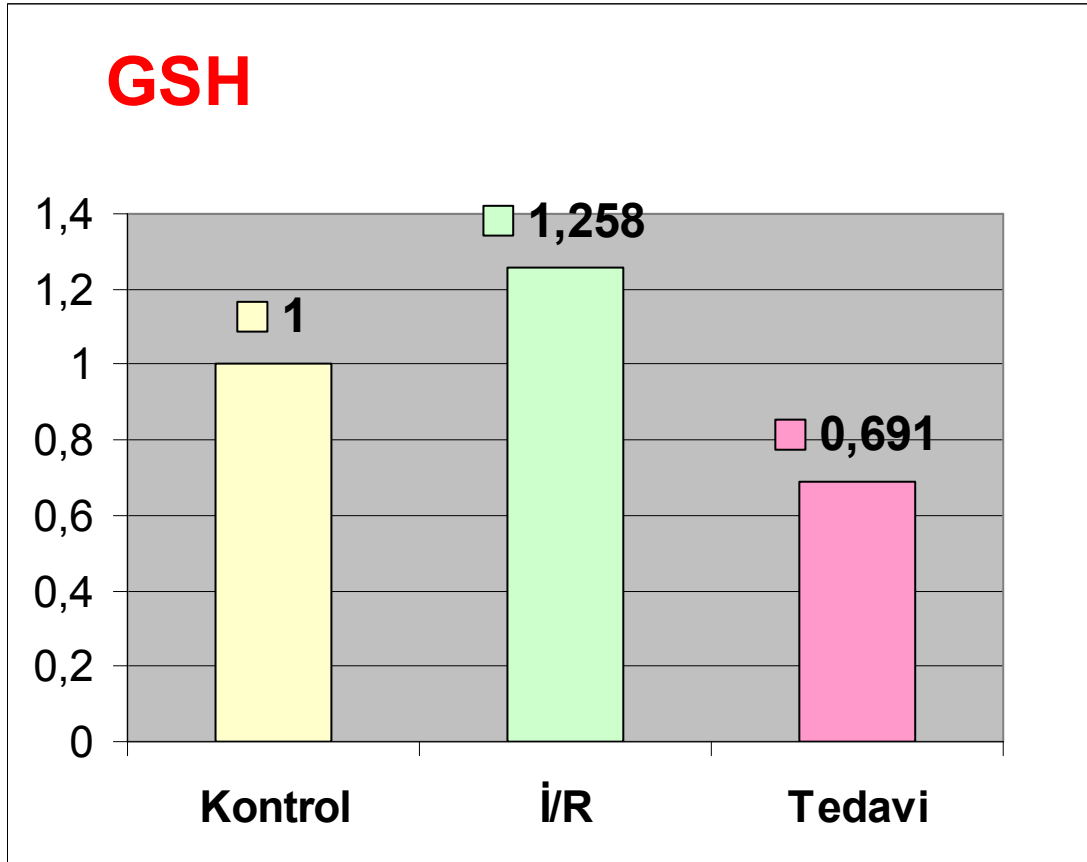


Grafik 3: Ortalama doku AOPP değerleri

4.2.4. GSH DOKU

Tablo 4.4. Doku GSH analiz sonuçları

GSH Doku ($\mu\text{mol/gr}$)	Kontrol	I/R	Tedavi
	0.45	1.42	0.57
	1.05	1.25	0.68
	1.25	1.17	0.75
	1.12	1.04	0.69
	0.98	1.34	0.59
	1.15	1.37	0.87
ORTALAMA	1	1.258	0.691

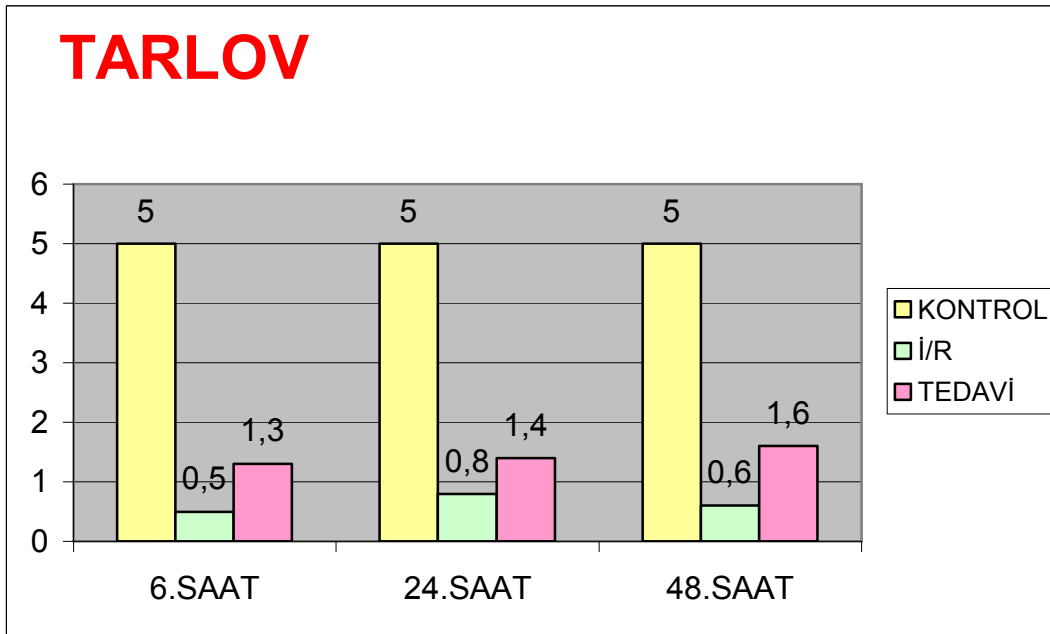


Grafik 4.4. Ortalama doku AOPP degerleri

4.3. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME (TARLOV SKALASI)

Tablo 4.5. 6,12,24 saatlerde tarlov skalasına göre toplam denek sayılarının gruplara göre dağılımı.

TARLOV	KONTROL 6 2448			İ/R 6 2448			TEDAVİ 6 2448		
0				3	3	5	1	1	1
1				2	2	4	1	1	2
2				1	1	1	3	3	2
3							1	1	1
4									
5	6	6	6						
ORTALAMA	5	5	5	0.5	0.8	0.6	1.3	1.4	1.6



Grafik 4.5. Ortalama tarlov skalası değerleri

Nörolojik değerdendirmede operasyon sonrası 6,12 ve 24. saatlerde kontrol grubunun tamamı normal muayene bulgularına sahipti. İ/R grubu deneklerin ortalama tarlov skorları 0.5,0.8 ve 0.6 iken tedavi grubu deneklerinin 1.3,1.4 ve 1.6 idi. Tedavigrubunda İ/R grubuna göre, nörolojik anlamda kısmen iyileşme tespit edildi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İskemi kan akımının hücrel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altında olması durumudur. Aerobik koşullarda yaşayan biyolojik organizmalar, temel yaşam kaynakları olan oksijen ve metabolik substratlar ortamda bulunmadığı zaman canlılıklarını belirli bir süre devam ettirebilirler. Santral sinir sistemi vucutta iskekiye en duyarlı dokulardan biridir. İskemi sırasında hücrel enerji depolarının tükenmesi iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini başlatmaktadır. Enerji eksikliği ile devreye giren iskemik kaskat birdizi sekonder olayı tetiklerse de iskeminin gidişini etkileyen pek çok faktör nedeniyle hücre ölümü kaçınılmaz değildir. İskemi sonucunu belirleyen en önemli iki faktör; iskeminin derinliği ve süresidir (32). İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iskekiye sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan, ani ve fazla miktarda oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları iskemik hasara uğramış dokularda, özellikle serbest oksijen radikallerinin oluşması yolu ile ileri hasara yol açmaktadır.

Çalışmamızda, spinal kord iskemisi tavşanda infrarenal aortik oklüzyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Bu deney modeli spinal kord iskekiye hasarı meydana getirmede sıkça kullanılan bir modeldir (104,105,111). Tavşanlarda spinal kord kan akımı segmentaldir. Klipaj renal arter distalinden uygulandığında böbrekler ve barsaklar da iskemiden korunmakta ve nörolojik hasar haricindeki komplikasyonlar engellenmiş olmaktadır. Çoğunlukla oklüzyon süresi, histopatolojik hasar ve klinik fonksiyonlar arasında anlamlı bir bağlantı mevcuttur. Buda nöroprotektif olduğu sanılan farmakolojik ajanları değerlendirmede tavşanı, güvenilir bir model yapmaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı spinal iskekiye reperfüzyon modeli için tavşan denek olarak seçildi.

Deneyisel çalışmalarda başlangıçta, güvenli aortik oklüzyon süresi 10-15 dakika olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar aortik oklüzyon süresi ve nörolojik hasar sıklığı arasında direk ve yüksek bir korelasyon olduğunu ortaya çıkarmıştır. 25 dakikaya kadar

olan aortik oklüzyon sürelerinde alt eksremitede nörolojik hasar gelişme ihtimali daha düşükken 25 dakikadan sonra ek koruyucu önlemlerin yokluğu halinde parapleji veya paraparezi gelişme olasılığı lineer olarak artar (112).

Tümör nekrozis faktör ailesi üzerinde en çok çalışılan protein ailesidir. Bir çok sistemde fonksiyonu olan ondokuz üyesi vardır, memrana bağlı reseptörler üzerinden etki gösterirler. TNF-alfa ve TNF-beta bu ailenin ilk üyeleridir. TNF, doğal ve kazanılmış bağışıklık, hücre regülasyonu, farklılaşma ve apoptoz, süreçlerinde önemli rollere sahip, polipeptid yapıda bir sitokindir. Başta makrofaj ve lenfositler olmak üzere çeşitli immün ve somatik hücrelerde sentezlenir.

TNF'nin aktif homotrimerik yapısı hemaglutinin gibi bazı viral zarf proteinlerine benzer şekilde hücre zarına füzyon yapar ve sodyum girişine yol açar. Endotoksik şokta görülen hücresel ve periaksonal şişme gibi olaylara neden olur. TNF doğal öldürücü hücreler gibi sitotoksik hücreleri uyarak dolaylı etki gösterirler. Endotel hücrelerinin bazı adezyon moleküllerini üretmesini artırarak inflamatuvar hücrelerin damar adezyonunu sağlar, polimorfonükleer lökositlerin antikör bağımlı hücresel sitotoksitesini artırır.

TNF'nin birçok patolojik etkisi vardır bunların başında septik şok, kaşeksi, kalp yetmezliği, alerjik reaksiyonlar, psöriazis, obezite, hiperandrojenizm, romatoid artrit, sıtma, menenjit, crohn hastalığı ve vaskülitler gelir. Ayrıca plazminojen aktivatörlerini azaltarak antifibrotik etki gösterir ve tüm bunların sonucu yaygın damar içi pıhtılaşmalara ve iskemilere neden olur ve yine PGG₂, lökotrien ve PAF salınımı ve nötrofil saldırısına bağlı endotel hasarına neden olur.

Tüm bu etkileri göz önünde bulundurularak TNF inhibitörleri üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Başlıca kullanılan TNF inhibitörleri;

Etanersept

İnfiliksımab

Adalimumab

Lenersept

Talidomid

İnfiliksimab; Anti TNF- alfa monoklonal antikorudur,% 25 fındık faresi, % 75 insan antikorundan oluşturulmuştur (kimerik). TNF- alfa molekülüne bağlanır ve İL-1, İL-6 ve lökosit aktivasyonunda önemli olan adezyon moleküllerinin üretimini azaltır. İntra venöz infüzyon şeklinde kullanılır, sadece vasküler kompartmanda dağılır, yarı ömrü 8-9 gün arasındadır, crohn hastalığı, ülseratif kolit, ankilozan spondilit ve spondiloartropati tedavisinde kullanılmaktadır.

Metotreksat ile kombine olarak romatoid artrit tedavisinde yeri vardır, kombine kullanımda metotreksatın etkinliğini artırdığı izlenmiştir. Metotreksat ise insan da infiliksimaba karşı oluşacak antikimerik antikorların yapımını baskılar.

Spinal kord iskemisi sonrası görülen histoloji değişiklikler farklı yayınlarda farklı şekilde değerlendirilmiştir (114,115). Bazı araştırmacılar spinal korda iskemiyeye spesifik değişiklikleri ortaya koyarken bazı araştırmacılar ise histolojik değişiklikleri tespit etmelerine rağmen bunların klasik iskemik değişiklikler olmaması nedeniyle non spesifik değişiklikler olarak tariflemiştir. Birçok çalışmada ise araştırmacılar spinal korda bir değişiklik saptayamamışlardır.

Mutch ve arkadaşları köpeklerin kullanıldığı iki ayrı çalışmada histolojik değişiklikleri ortaya koymak için, anterior spinal kordaki eozinofilik granülasyon gösteren ve ölü kabul edilen nöronların hasar görmemiş nöronlara oranını kullanmışlardır (115,116). Bu şekilde hücre hasarı belli bir rakamsal değer haline getirilmiştir. Berguer ve arkadaşları spinal kordaki iskemik değişiklikleri daha geniş bir şekilde değerlendirmişlerdir (114). Buna göre eozinofilik perikarya, karyopiknoz, perikaryal şişme nissl granüllerinin kaybolması ve nükleer disintegrasyon varlığı spinal korda iskemi bulguları olarak kabul edilmiştir.

Biz çalışmamızda 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 arkadaşlarının uyguladığı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır (117).

Histolojik inceleme esnasında ön boynuz motor nöronlarından on tanesi randomize olarak seçilmiş ve hemen periferindeki aksonlar incelenmiştir. Normal spinal kord bulguları için Grade 1, Orta derecede aksonal şişme, nadir mononükleer hücre infiltrasyonu ve az sayıda hasar nöron varlığında grade 2, ve aşırı aksano şişmeye ek olarak yaygın nekrotik nöronların varlığı ve yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu tespit edildiğinde ise grade 3 olarak kabul edildi.

Histolojik değişiklikler daha öncede belirtildiği gibi özellikle kros klemp uygulanan gruplarda ve lumbal sağımentlerde yoğunlaşmaktadır. Bu sonuç distal aortik klemp uygulaması sonrası iskemiye en çok maruz kalan sağımentin distal lumbal sağıment olması açısından önemlidir. İskemik hasarın oluşması ile histolojik değişikliklerin birlikteliği ve bu değişikliklerin derecelendirme yöntemi ile ortaya konması oldukça önemli bulgulardır.

Histolojik değerlendirme skorları incelendiğinde tedavi gurubunda hasarlı nöron, hasarlı akson ve mononükleer hücre infiltrasyonun iskemi reperfüzyon grubundan az olduğunu izledik.

Çalışmamızda biyokimyasal olarak değerlendirmede doku GSH, doku MDA, doku SOD ve doku AOPP düzeylerine bakıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi.

GSH, hücrelerde en çok bulunan enzimatik olmayan antioksidandır ki hücre yaralanmasının neden olduğu oksidatif strese karşı savunmada kritik bir rol oynar. GSH seviyesinin azalması doku hasarına etki edebilir (113). GSH'nın bitirilmesi hücreleri oksidatif strese daha fazla maruz bırakan GPx'in inhibe edilmesine neden olur.

Yaptığımız çalışmada GSH düzeyi İ/R grubunda en yüksek değerlere ulaşırken tedavi grubunda en düşük değerler izlendi. Kontrol grubu değerleri ise her iki grup arasında yer aldı. Değerler istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İ/R grubunda hasar en fazla olduğu için GSH düzeyide bu grupta en yüksek seviyeye ulaştı.

SOD süperoksit anyon radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden antioksidan bir metalloproteinazdır. Mn-SOD mitekondri matriksinde lokalizedir. Mn- SOD hücresel metobolizmanın ürünü olan ve yüksek reaktif

bir antioksidan olan oksijenin hücresel konsantrasyonunun düzenlenmesinde ve oksidatif hücre hasarına karşı korumada rol alır.

Çalışmamızda İ/R grubunda en düşük tedavi grubunda ise en yüksek değerler izlendi. İstatiksel olarak anlamlı bulundu. SOD düzeyindeki artış iskemi ve oksidatif strese karşı koruma mekanizması olarak değerlendirildi.

MDA, doku zincir reaksiyonlarının hız belirleyicisidir. MDA, lipitler proteinler ve nükleik asitler ile çapraz bağlanmaya neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonu; ateroskleroz, romatoid artrit, inflamasyon, reperfüzyon hasarı, diabetes mellitus ve lupus gibi bir grup hastalığın oluşumuna neden olmaktadır.

Çalışmamızda, tedavi grubunda MDA değerleri en düşük, İ/R grubunda en yüksek izlendi. Sonuçlar istatiksel olarak anlamlı bulundu. Buradanda anlaşılabileceği gibi infiltisimab dokularda oksidatif stresi ve reperfüzyon hasarını azalttığı için MDA düzeyleri anlamlı ölçüde düşük izlendi.

AOPP, oksidatif strese nekrozda iskemide yükselen ileri düzey oksidasyon protein ürünüdür. Bir çok çalışmada yer almıştır ancak spinal iskemi ve reperfüzyonda ilk kez bizim çalışmamızda yer verilmiştir.

Çalışmamızda İ/R grubunda değerler tedavi grubuna göre istatiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. Buradan bundan sonra yapılacak spinal veya serebral iskemi çalışmalarıda AOPP düzeyinde bakılabileceği sonucuna varabiliriz.

Tedavi grubu denekleri Tarlov skoru ortalamasının, İ/R grubu deneklerininine göre bir miktar daha yüksek olduğu görüldü. İlerleyen takip sürelerinde İ/R grubunun skorunda 6. saattekine göre değışiklik izlenmezken tedavi grubunda anlamlı olmamakla birlikte bir miktar düzelme izlendi. Bu sonuç infiltisimab, reperfüzyon hasarının primer hasarın kötüye gidişine neden olan zararlı etkilerinden spinal kordu koruduğu yönünde yorumlanabilir. İskemi uygulaması sonrası değışikliklerin yapısı ve nörolojik hasar ile ilişkisi Halen tartışmalıdır. Buna karşın çalışmamızda nörolojik değerlendirmede kullanılan Tarlov skoru puanlarıyla deneklerde tespit edilen histopatolojik inceleme sonuçlarının birbirleriyle uyumlu olduğunda gördük.

Tüm bu bulgular ışığında infiliksımab kullanımı esnasında, spinal korda iskemi reperfüzyon ile sonuçlanacak patolojilerde biyokimyasal, histolojik ve nörolojik anlamda hasarın daha az olacağı söylenebilir. Bu nedenle spinal korda yönelik olarak planlanan iskemi reperfüzyon riski içeren cerrahi müdahaleler öncesinde profilaktik olarak İnfiliksımab kullanımının morbidite üzerinde olumlu yönde etkileri olacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Bu çalışmada spinal arterio-venöz malformasyon, spinal tümör cerrahisi veya torokal aorta cerrahisi gibi uygulamalar sonucu oluşabilecek iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde bir TNF alfa reseptör blokörü olan infiliksımab'ın etkisi araştırıldı.

Çalışma Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'nın izniyle Gazi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Mikrocerrahi ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. İskemik hasar için son zamanlarda sistemik etkileri daha az olduğu için güvenilir bulunan tavşanlarda renal arter distalinden ve iliak arter proksimalinden abdominal aortaya klipaj uygulanması deney modeli seçildi.

Denekler herhangi bir tedavi uygulanmayan ancak aortik klipaj aşamasına kadarki cerrahiye tabi tutulan kontrol grubu, tedavi uygulanmayan ancak aortik klipaj dahil tüm cerrahi prosedüre tabi tutulan iskemi reperfüzyon grubu ve intra peritoneal olarak infiliksımab uygulanan ve iskemi oluşturulan tedavi grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı.

İnfiliksımab'ın etkilerini değerlendirmek için doku örneklerinde malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH), okside protein düzeyi (AOPP) ve süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri biyokimyasal olarak değerlendirilirken, histopatolojik olarakta iskemik hasardan en çok etkilenen spinal kord segmenti olan L5 düzeyinden alınan kesitler incelendi. Ayrıca denekleri tarlov skoru ile fonksiyonel değerlendirmeleri yapıldı.

Tüm bulguların değerlendirilmesi sonucunda infiliksımab, tavşan spinal kordunda, infra renal aortik oklüzyon modeliyle oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Kayhan Z, Akpek EA, Spinal cerrahide Anestezi. Keçik Y, Ünal N. (Ed) Nöroanestezi 1.Baskı Ankara, Atlas Kitapçılık LTD.ŞTİ,2000:235-282
2. 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.
3. 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.
4. Solak H. Damar hastalıkları ve cerrahisi. S.Ü. Yaşatma ve Geliştirme Vakfı Yayınları 1997:57-60
5. 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. 1989:75-87.
6. 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-1:819-912
7. Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 1996; 27:1124-9
8. Peters O, Back T, Lindauer U, Busch C, Megow D, Dreier J, Dirnagl U: Increased formation of reactive oxygen species after permanent and reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. J Cereb Blood Flow Metab 1998; 18 (2) :196-205
9. Singh S, Hider RC: Therapeutic iron-chelating agents. In: Rice-Evans CA. Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994, pp. 189-215.
10. Garcia JH. and Anderson ML: Physiopathology of cerebral ischemia. CRC Critical Reviews in Neurobiology, 1989; 4 (4) : 303-24

11. Siesjö BK: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. *J Neurosurg* 1992; 77:169-84
12. Winyard PG, Morris CJ, Winrow VR, Zaidi M, Blake DR. in: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994; 361-81
13. Garcia JH. and Anderson ML: Physiopathology of cerebral ischemia. *CRC Critical Reviews in Neurobiology*, 1989; 4 (4) : 303-24
14. Siesjö BK: Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci* 1988; 522: 638-61
15. Hartmann A, Yatsu F, Kuschinsky W: Cerebral ischemia and basic mechanisms, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag Press, 1994;pp.237-49
16. Thilmann R, Xie Y, Kleihues P, Kiessling M: Persistent inhibition of protein synthesis precedes delayed neuronal death in post-ischemic gerbil hippocampus. *Açta Neuropathol*, 1989; 71: 88-93
17. Heiss WD, Graf R: The ischemic penumbra. *Current Opinion in Neurology*, 1994; 7: 11-19
18. Symon L: The scientific basis of cerebral infarction. in: Suzuki J. *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke*, Sendai, Springer-Verlag Press, 1987;pp.237-9
19. Baker AJ, Zornow MH, Sheller MS, Yaksh TL: Changes in extracellular concentrations of glutamate, aspartate, glycine, dopamine, serotonin, and dopamine metabolites after transient global ischemia in the rabbit brain. *J Neurochem* 1991; 57: 1370-9
20. Kumagae Y, Matsui Y: Output, tissue levels, and synthesis of acetylcholine during and after transient forebrain ischemia in the rat. *J. Neurochem* 1991; 56:1169-73

21. Şano K: Ischemic neural lesions in cerebral stroke. in: Suzuki J Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke Sendai, Sringer-Verlag Press, 1987; pp. 13-26
22. Watkins JC, Olverman HJ: Agonists and antagonists for excitatory amino acid receptors. Trends Neurosci 1987; 10: 265-72
23. Lazdunski M, Frelin C, Vigne P: The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. J Mol Celi Cardiol 1985;17:1029-42
24. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM: Principles of biochemistry, New York,Worth Publishers Inc. 1993;ed2.pp.268-97
25. Folbergrova J, Minamisawa H, Ekholm A: Phosphorylase a and labile metabolites during anoxia: correlation to membrane fluxes of K⁺, and Ca²⁺. J Neurochem 1991; 56: 1075-8
26. Siesjo BK, Katsura Ki, Zhao Q, Folbergrova J, Pahlmark K: Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia: a speculative synthesis. J Neurotrauma 1995; 12 (5) : 943-56
27. Garcia JH. and Anderson ML: Physiopathology of cerebral ischemia. CRC Critical Reviewvs in Neurobiology, 1989; 4 (4) : 303-24
28. Kilgore KS, Lucchesi BR: Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. Clin Biochem 1993; 26: 359-70
29. O'Doimell, VB, Eiserich JP, Chumley PH, Hogg N, Bloodsworth A, Darley-USmar VM, Freeman BA: Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation. Kinetics of reaction with lipid peroxy radicals and comparison with alpha-tocopherol. Biochemistry 1997; 36:15216-23
30. O'Donnell, VB, Eiserich JP, Chumley PH, Jablonsky MJ, Krishna NR, Kirk M, Barnes S, Darley-USmar VM, Freeman BA: Nitration of unsaturated fatty acids by

nitric oxide derived reactive nitrogen species peroxynitrite, nitrous oxide, nitrogen dioxide and nitronium ion. *Chem Res Toxicol* 1999;12:83-92

31. Peters O, Back T, Lindauer U, Busch C, Megow D, Dreier J, Dirnagl U: Increased formation of reactive oxygen species after permanent and reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18 (2) :196-205.
32. Spetzler RF, Graham TAV, Nehls DG: Overview of cerebral ischemia: Rationale 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, 1987, pp. 231-5.
33. Imaizumi S, Kinouchi H, Tominaga T, Yoshimoto T, Suzuki J. in: Suzuki J: *Biochemical events in the ischemic brain and pharmacological basis of mannitol, vitamin E, glucocorticoid and phenitoin*. in: *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke* Sendai, Springer-Verlag Press, 1987, pp. 257-63.
34. White BC, Grossmann LI, Krause GS: Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology* 1993;43:1656-65.
35. Schmidley JW: Free radicals in central nervous system ischemia *Stroke* 1990; 21 (7) : 1086-90.
36. Katsura K, Rodriguez de Turco EB, Folbergrova J, Bazan NG, Siesjö BK: Coupling among energy failure, loss of ion homeostasis and phospholipase A2 and C activation during ischemia. *Neurochem* 1993; 61: 1677-84.
37. McCord JM: Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-61
38. Reilly PM, Sebillier HJ, Bulkey GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg*. 1991; 161: 488-502.

39. Hartmann A, Yatsu F, Kuschinsky W: Cerebral ischemia and basic mechanisms, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag Press, 1994 pp.331-51
40. Schmidley JW: Free radicals in central nervous system ischemia Stroke 1990; 21 (7) : 1086-90
41. Morimoto K, Yanagihara T: Cerebral ischemia in gerbils: polyribosomal function during progression and recovery Stroke 1981; 12: 105-10
42. İşlekel H, İşlekel S, Güner G: Lizozomal proteolitik aktivitenin beyin dokusunda penumbral ve derin iskemi-reperfüzyonunda karşılaştırılması Ege Tıp Dergisi 1998; 37 (3-4) : 163-6.
43. Seyfried D, Han Y, Zheng Z, Day N, Moin K, Rempel S, Sloane B, Chopp M: Cathepsin B and middle cerebral artery occlusion in the rat J Neurosurg 1997 Nov; 87 (5) :716-23.
44. Frei B: Molecular and biological mechanisms of antioxidant action FASEB J 1999; 13:963-4
45. Li N, Karin M: Is NF-kB the sensor of oxidative stress? FASEB J 1999; 13:1137-43.
46. Babbs CF, Lafayette W: Role of iron ions in the genesis of reperfusion injury following successful cardiopulmonary resuscitation: preliminary data and a biochemical hypothesis Annals of Emergency Medicine 1985; 14 (8) :777-83
47. Dugan LL, Sensi SL, Canzoniero LMT, Handran SD, Rothman SM, Lin T-S, Goldberg MP, Choi DW: Mitochondrial production of reactive oxygen species in cortical neurons following exposure to N-methyl-D-aspartate J Neurosci 1995;15:6377-88
48. Forsman M, Fleischer JE, Milde JH, Steen PA, Michenfelder JD: Superoxide dismutase and catalase failed to improve neurologic outcome after complete cerebral ischemia in the dog Ağa Anaesthesiol Scand 1988; 32: 152-155

49. McCord JM: Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance Clin Biochem 1993; 26: 351-7
50. Feuerstein GZ, Liu T, Barane FC: Cytokines, inflammation and brain injury role of tumor necrosis factor- α Cerebrovasc Brain Metab Rev. 1994; 6: 341-60
51. Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, Van der Vliet A: Formation of nitric oxide derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. Nature 1998; 391: 393-7.
52. Asano T, Shigeno T, Johshita H, Hanamura T: The possible role of free radical scavengers in the mitigation of ischemic brain damage. in: Suzuki J. Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke, Sendai, Springer-Verlag Press, 1987, 251-5.
53. Lefer AM, Lefer DJ: Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1993; 33: 71-90.
54. Rice-Evans CA: Free radicals and antioxidants in normal and pathological processes. in: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994, pp. 1 - 31.
55. İşlekel H, İşlekel S, Güner G, Ozdamar Nitrik Oksid: Evaluation of lipid peroxidation cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia-reperfusion. Brain Res 1999; 843:18-24
56. İşlekel S, İşlekel H, Güner G, Ozdamar Nitrik Oksid: Alterations in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in experimental cerebral ischemia-reperfusion Res Exp Med 1999; 199 (3) : 167-76
57. Rice-Evans CA, Bruckdorfer KR: Oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction, London, Portland Press, 1995, pp.161-80.
58. Patel RK, McAndrew J, Sellak H, White CR; Jo H, Freeman BA, Darley-Usmar: Biological aspects of reactive nitrogen species. Biochim Biophys Acta 1999; 1411:385-400

59. Svensson LG, Crawford ES: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations and statistical analyses. Part I *Curr Probl Surg* 1992; 29: 819-912.
60. Svensson LG, Rickards E, Coul A, et al: Relationship of spinal cord blood flow to vascular anatomy during thoracic aortic cross-clamping and shunting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91: 71-78.
61. Svensson LG, Crawford ES, Patel V, et al: Spinal cord oxygenation. intraoperative blood supply localization, cooling and function with aortic damping. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 74-79.
62. Moore WM Jr, Hollier LH: The influence of severity of spinal cord ischemia in the etiology of delayed onset paraplegia. *Ann Surg* 1991; 213: 427-431.
63. Lintott P, Hafez HM, Stansby G: Spinal cord complications of thoracoabdominal aneurysm surgery. *Brit J Surg* 1998; 85: 5-15.
64. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH: Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1984; 43: 1369-1374.
65. McCord JM: Oxygen derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Eng J Med* 1985;312:159-163.
66. Kukreja RC, Hess ML: The Oxygen free radical system from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res* 1992;26:641-655.
67. Svensson LG, Rickards E, Coul A, et al: Relationship of spinal cord blood flow to vascular anatomy during thoracic aortic cross-clamping and shunting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91: 71-78.
68. Reid JL, Dawson D, Maerae IM: Endothelin, cerebral ischaemia and infarction. *Clin Exp Hypertens* 1995;17:399-407.

69. Michael CM, 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.
70. Farid C, Joel L, Mary J.D, et al: Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Chest*. 1996;109:799-809
71. 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.
72. Svensson L.G, Crawford E.S, Hess K.R: Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *Journal of Vascular Surgery*. 1993; 17:357-70.
73. Hollier L.H, Symmonds J.B, Pairolero P.C: Thoracoabdominal aortic aneurysm repair: analysis of postoperative morbidity. *Arch. Surgery*. 1988;123:871- 5.
74. Najafi H: Descending aortic aneurysmectomy without adjuncts to avoid ischemia. *Annals of Thoracic Surgery*. 1993;55:1042-45.
75. 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.
76. Crawford E.S, Coselli J.S: Thoracoabdominal aneurysm surgery. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1991;3:300-22.
77. 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. 1989:75-87.
78. Kirklin J.W, Brian G: Barratt-Boyes. *Cardiac Surgery* second ed. New York: Churchill Livingstone. 1993:1749-76.
79. Nicholas T.K: Spinal cord ischemic injury: Is it preventable? *Seminars in Thoracic Cardiovascular Surgery*. 1991;3:323-8.

80. Svensson L.G, Patel V, Robinson M.F, 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.
81. Sun J, Hirsch D, Svensson G: Spinal cord protection by papaverine and intrathecal cooling during aortic crossclamping. *J. Cardiovascular Surgery (Torino)*. 1998;39: 839-42.
82. Svensson L.G, Von Ritter CM, Groeneveld H.T: Crossclamping of the thoracic aorta: influence of aortic shunts, laminectomy, papaverine, calcium channel blocker, allopurinol, and superoxide dismutase on spinal cord blood flow and paraplegia in baboons. *Annals of Surgery*. 1986;206:38-47.
83. Maughan R.E, Mohan C, Nathan I.M: intrathecal perfusion of an oxygenated perfluorocarbon prevents paraplegia after aortic occlusion. *Annals of Thoracic Surgery*. 1992;54:818-25.
84. Peter G, Thomas C.B: Visceral and spinal cord protection during thoracoabdominal aortic reconstructions. *Seminars in Vascular Surgery*. 1992;5:163-71.
85. Svensson L.G, Hess K.R, Coselli J.S, et al: A prospective study of respiratory failure after high-risk surgery on the thoracoabdominal aorta. *Journal of Vascular Surgery*. 1991;14:271-82.
86. Hollier L.H, Moore W.M: Avoidance of renal and neurologic complications following thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Açta. Chir. Scand. Supp*. 1990;555:129-35.
87. Blaisdell F.W, Cooley D.A: The mechanism of paraplegia after temporary thoracic aortic occlusion and its relationship to spinal fluid pressure. *Surgery*. 1962;51:351-55.
88. Miyamoto K, Ueno A, Wada T, et al: A new and simple method for preventing spinal cord damage following temporary occlusion of thoracic aorta by draining the cerebrospinal fluid. *J. Cardiovascular Surgery* 1960;16:188-97.

89. Svensson L.G, Hess K.R, Diagostino RS et al: Reduction of neurologic injury high risk thoracoabdominal aortic operation. *Ann. Thorac. Surgery.* 1998;66:132-8.
90. Safi HJ, Winnerkvist A, Miller CC et al. Effect of extended cross-clamp time during thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Ann. Thorac. Surg.* 1998;66:1204-9.
91. Fowl R.J. Patterson R.B. Gewirtz R.J, et al: Protection against postischemic spinal cord injury using a new 21- aminosteroid. *Journal of Surg. Res.* 1990;48:597-600.
92. Schitteck A, Bennink B, Cooley DA, et al: Spinal cord protection with intravenous nimodipine: a functional and morphologic evaluation. *Journal of Thoracic and Cardiovas. Surgery.*1992;104:1 100-5.
93. Tobinaga S: Spinal kord protection: effect of N-methyl-D-aspartate receptör antagonist Mk-801 for spinal cord ischemia in a rabbit model. *J. Kurume Med.* 2000;47: 45-53.
94. Chris K. R, Christopher S.C, Takashi N, et al: Profound systemic hipothermia inhibits the release of neurotransmitter amino acids in spinal cord ischemia: Cardiopulmoner bypass, myocardial management, and support techniques. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 1995;110:27-35.
95. Martin G, Marek E, Paul S, et al: Thoracoabdominal aneurysm repair: Spinal cord protection using profound hypothermia and circulatory arrest. *Journal of Cardiac Surgery.* 1994;9:679-84.
96. Svensson L.G, Cravvford E.S: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental mvestigations, and statistical analyses. *Current Problems in Surgery* 1993:3-125.
97. Scott D.Ross, John A. Kern, James J. Gangemi et al: Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cools the spinal cord and reduses the risk of paraplegia after thoracic aortic damping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery,* 2000;119:588-95.

98. Ergin M.A, Griepp E.B, Lansman S.L, et al: Hypothermic circulatory arrest and other methods of cerebral protection during operations on the thoracic aorta. *Journal of Cardiac Surgery*. 1994;9:525-37.
99. Norwood W.I, Nonwood C.R, Ingwal J.S, et al: Hypothermic circulatory arrest:31-phosphorus nuclear magnetic resonance of isolated perfused neonatal rat brain. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1979;78: 823-30.
100. Douglas P.G, Ronald J.S: Occlusive disease of the upper abdominal aorta. *Seminars in Vascular Surgery*. 1992;5:174-79.
101. 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.
102. Coghlan J.G, Fliter W.D, Glutton S.M, et al: AUopurinol pretreatment improves postoperative recovery and reduces lipid peroxidation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1994; 107: 248-56
103. Tarlov IM: Acute spinal cord compression in paralysis. *J Neurosurg* 1972; 36:10-20.
104. Lazdunski LL, Heurteaux C. Vaillani N. Widmann C, Lazdunski M: Riluzole Prevents Ischemic Spinal Cord Injury Caused By Aortic Cross damping. *The J Thoracic Cardiovascular Surg*. 1999;117:881-89
105. Breckwoldt Wl, Genco CM. Connolly RJ, Cleveland RJ. Diehi Jt: Spinal Cord Protection During Aortic Occlusion: Efficacy of Iprathecyl Tetracaine. *Ann Thorac Surg*, 1992;51:959-963.
106. 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.

107. 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.
108. Sun Y, Oberley LW, Li Y, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin. Chem*. 1988; 34(39): 497–500.
109. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ, Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem*. 1951; 193(1): 265-275.
110. 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.
111. Lips J. B.S., De Haan P., Bodevits P. Vanicky I, et al: Neuroprotective Effects of Riluzole and Ketamine During Transient Spinal Cord Ischemia in the Rabbit. *Anesthesiology*. 2000; 93:1303-11.
112. Sun J, Hirsch D, Svensson G: Spinal Cord Protection by Papaverine and Intrathecal Cooling During Aortic Crossclamping. *The Journal of Cardiovascular Surgery*, 1998;38:838-846
113. Halat G, Chavko M, Lukacova N, Kluchova D, Marsala J: Effect of partial ischemia on phospholipids and postischemic lipid peroxidation in rabbit spinal cord. *Neurochem. Res*. 14 (11) : 1089-1097,1988.
114. Berguer R, Porto J, Fedoronko BS, et al: Selective deep hypothermia of the spinal cord prevents paraplegia after aortic cross-clamping in the dog model. *Journal of Vascular Surgery* 1992; 15: 62-72.
115. Mutch WAC, Graham MR, Halliday WC, et al: Paraplegia following thoracic aortic cross-clamping in dogs. No difference in neurological outcome with a barbiturate versus isoflurane. *Stroke* 1993; 24:1554-60.

116. Mutch WA, Graham MR, Halliday WC, et al: Use of neuroanesthesia adjuncts (hyperventilation and mannitol administration) improves neurological outcome after thoracic aortic cross-clamping in dogs. *Stroke* 1993; 24:1204-11.
117. 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



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

22/05/2008

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/ 31 - 5756
KONU:

Sayın

Prof.Dr.Necdet ÇEVİKER
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-08.013 kod numaralı ve “*Deneyisel Spinal Kord İskemi-Reperfüzyon Hasarında İnfliximab’ın Tedavideki Etkisi*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-08.013 and entitled “*The Effect of İnfliximab on Treatment of Experimental Spinal Cord İskemia/reperfusion injury*” is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER

Prof.Dr.Nedret KILIÇ

Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ

Prof.Dr.Fatma AKAR

Prof.Dr.Altan DOĞAN

Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU

Uzman Dr.Şeyda DİKER