

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SPİNAL KORD İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE
MELATONİNİN ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
AYHAN KORKMAZ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. ESER ÖZ OYAR

ANKARA–2007

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince benden yardımını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Eser ÖZ OYAR'a, Gazi Üniversitesi AbD. Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Deniz ERBAŞ ve değerli Fizyoloji Bölümü Hocalarıma, birlikte çalışmaktan çok büyük keyif aldığım Fizyoloji AbD. asistan arkadaşlarıma, histolojik değerlendirmeler için Gazi Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji AbD'dan Sayın Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, istatistiksel analizler için Gazi Üniversitesi Halk Sağlığı AbD'dan Öğr. Gör. Dr. Mustafa N. İLHAN'a, benden maddi-manevi hiçbir yardımını esirgemeyen kardeşim Gülhan KORKMAZ'a ve aileme ve de tez çalışmam süresince emeği geçen bütün herkese teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ.....	1
II.	GENEL BİLGİLER	4
1.	İnsan Spinal Kord Anatomisi	4
2.	Spinal Kordun Arteriyel Beslenmesi	8
3.	Aortik Kros Klemplemenin Spinal Kord Üzerine Etkileri.....	10
4.	Spinal Kord İskemisine Neden Olan veya Artıran Faktörler.....	11
5.	Spinal Kord İskemik Hasarının Fizyopatolojisi	11
6.	Reperfüzyon Hasarı Fizyopatolojisi	12
7.	Spinal Kord İskemiden Koruma Yöntemleri	14
A.	Spinal Kord Kan Akımının Sürdürülmesi	14
B.	Spinal Kordun İskemiye Toleransının Artırılması	18
C.	Reperfüzyon Hasarının Azaltılması	20
8.	Spinal Kord Yaralanmalarının Medikal Tedavisi	21
A.	Nöroprotektif Tedaviler.....	22
B.	İyileşmeyi Arttırıcı Tedaviler	24
C.	Rejeneratif ve Restoratif Tedavi.....	26
9.	Enerji Eksikliği Sonucu İskemide Gelişen Olaylar	28
A.	Asidoz	29
B.	Makromolekül Sentezinin Durması	30
C.	İyon Dengesinin Bozulması	31
D.	ATP Yıkım Ürünlerinin Birikimi.....	39
10.	Reperfüzyonda Serbest Radikal Üreten Kaynaklar	40
A.	Mitokondrial Elektron Transport Zincirinden Oksijen Kaçaklarının Artması	40
B.	Vasküler Endotel Kaynaklı Ksantin Oksidaz (XO) Reaksiyonu	40
C.	Lökosit (Nötrofil, Lenfosit, Monosit) Aktivasyonu	41
D.	Plazma Ve Organel Membranlarında Araşidonik Asit Kaskatı.....	42
E.	Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Aracılı Serbest Radikal Oluşumu.....	43
11.	Pineal Bez ve Melatonin	44
A.	Tarihçe	44
B.	Epifiz Bezinin (Pineal Gland) Yapısı	44
C.	Melatonin Sentez ve Metabolizması	46
D.	Melatonin Sentezinin Nöral Kontrolü	47
E.	Melatoninin Etki Yerleri	48
F.	İnsanda Melatonin Üretimi.....	49
G.	Yaşa Göre Melatonin Düzeyi	50
H.	Melatonin Sentezinde Aydınlık-Karanlık Kontrolü ve Fotoperiyodizm	51
I.	Melatoninin Puberteye Etkisi	51
J.	Melatoninin Menstruel Siklusa Etkisi	53
K.	Melatoninin Uykuyla İlişkisi	55
L.	Melatoninle İlgili Diğer İlişkiler	56
M.	Melatoninin Psikiyatrik Açıdan Önemi	57
N.	Melatonin ve Yaşlanma.....	58
O.	Melatonin ve Kanser	58
P.	Pineal Hiperplazi ve Hipoplazi	58
Q.	Pineal Tümörler	59
12.	Nitrik Oksit (NO).....	59
III.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	64
1.	Deney Grubu.....	64
2.	Anestezi ve Monitorizasyon	64
3.	İstatistiksel Analiz	65
4.	Cerrahi Teknik	65

5.	Nörolojik Parametreler	68
6.	Doku ve Kan Örneklerinin Alınması	68
7.	Histopatolojik Değerlendirme	70
8.	Biyokimyasal Değerlendirme ve Ölçüm Yöntemleri	70
IV.	BULGULAR	75
1.	Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları	75
A.	Kontrol Grubu	76
B.	İskemi-Reperfüzyon Grubu	77
C.	Tedavi Grubu	79
2.	Biyokimyasal Analiz Sonuçları	80
A.	MDA Doku	82
B.	MDA Plazma	83
C.	Glutasyon Doku	84
D.	Glutasyon Plazma	85
E.	NO Doku	86
F.	NO Plazma	86
3.	Nörolojik Değerlendirme (Tarlov Skalası)	87
V.	TARTIŞMA	89
VI.	SONUÇ	99
VII.	ÖZET	100
VIII.	SUMMARY	101
IX.	ÖZGEÇMİŞ	102
X.	REFERANSLAR	103

KISALTMALAR

MDA: Malondialdehit
GSH: Redükte glutatyon
NO: Nitrik oksit
ASA: Anterior spinal arter
PLSA: Postlateral spinal arter
NADPH: Nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat
BOS: Beyin-omurilik sıvısı
NMDA: N-metil d-aspartat
SOD: Süperoksit dismutaz
4-AP: 4-aminopyridine
5-HT: Serotonin
NT3: Nörotropin
PDH: Piruvat dehidrogenaz
Pcr: Fosfokreatinin
VSSC: Voltaaja duyarlı kalsiyum kanalları
AMPA: Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoazopropiyonik asit
PLC: Fosfolipaz C
PIP2: Fosfotidil inozitol bifosfat
DAG: Diaçil gliserol
IP3: İnozitol trifosfat
METZ: Mitokondriyal elektron transport zinciri
SYA: Serbest yağ asitleri
PLA2: Fosfolipaz A2
XO: Ksantin oksidaz
XDH: Ksantin dehidrogenaz
PNL: Polimorfonükleer lökositler
C5a: Kompleman 5a
C3a: Kompleman 3a
LB4: Lökotrien B4
PAF: Trombosit aktive edici faktör
İL-1,6,8: İnterlökin-1,6,8
TNF-a: Tümör nekroz faktörü a
ICAM-I: İnterselüler adezyon molekülü
ELAM-I (E-selektin): Endotelial lökosit adezyon molekülü-I

GMP (p-selektin): Granüle membran protein

PGG2: Prostoglandin G2

HPETE: Hidroperoksieikazotetraenoik asit

PGH2: Prostoglandin H2

ONOO⁻: Peroksinitrit

SKN: Suprakiazmatik nükleus

cGMP: Siklik guanozin monofosfat

NOS: Nitrik oksit sentaz

CAT: Katalaz

İ/R: İskemi-Reperfüzyon

GABA: Gamma aminobütirik asit

EEG: Elektroensefalogram

SEP: Somatosensoriyel

TBA: Tiyo barbitürik asit

TCA: Tri kloro asetik asit

BHT: Bütillenmiş hidroksi tolueen

PBS: Fosfat tamponu

DTNB: Dithiobis (2-Nitrobenzoik asit)

VaCl₂: Vanadyum klorid

I. GİRİŞ

Spinal kord yaralanması yüzyıllardır bilinen, farklı klinik özellikler gösteren, mortalite ve morbidite açısından bireysel, sosyal, psikolojik ve ekonomik yaşamı olumsuz etkileyen patolojik bir durumdur. Her yıl yaklaşık milyonda 20-40 kişi bu yaralanmayla karşılaşır ve yaralanmadan etkilenir. Spinal kord yaralanmaları, tüm genel vücut yaralanmaları arasında medikal tedaviye en olumsuz yanıtın alındığı yaralanmalardır. Spinal kord yaralanması ve eşlik eden nörolojik bozukluklarının altındaki temel mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, deneysel çalışmalar hücre ölümüne ve doku nekrozuna neden olan bir çok biyokimyasal ve hücreyel değişikliklere işaret etmektedir. Teknolojik gelişmelere rağmen tam anlamıyla tedavi edilememeleri, klinisyenleri ve araştırmacıları yeni tedavi arayışlarına itmektedir.

Son çalışmalar, GM-I gangliozid ve trilazad gibi ajanların nöron koruyucu etkisini göstermiştir ancak insanda spinal kord yaralanması sonrası fonksiyonel iyileşme üzerine olan etkinliği klinik olarak kanıtlanmış tek ajan hala metilprednizolondur. Araştırmacılar bir taraftan spinal kord yaralanmasında rol oynayan yeni fizyopatolojik mekanizmaları incelerken, öte yandan yeni tedavi şekillerini araştırmaktadırlar.

Torasik ve torakoabdominal aorta cerrahisi sırasında spinal iskemiye bağlı olarak oluşan parapleji ciddi bir komplikasyon olmaya devam etmektedir. Hastalığın yaygınlığına ve morfolojisine, operasyon endikasyonuna, hastanın yaşına, kros-klemp süresine ve rekonstrüksiyon tipine göre bildirilen nörolojik komplikasyon oranları % 6.5 ile % 40 arasında değişmektedir ^{1,2}.

İskemiye bağlı olarak gelişen spinal kord hasarının önlemek amacıyla yapılan çok sayıda deneysel ve klinik çalışma neticesinde birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir³. Uygulanan koruyucu metodlara örnek olarak; aortik şantlar, serebrospinal sıvının tek başına ⁴ veya diğer metodlarla kombine edilmesi ^{5,6,7}

kalsiyum kanal blokerleri ⁸ ve diğer çeşitli farmakolojik ajanların direk intratekal ⁹ veya intravenöz verilmesi olarak sayılabilir ¹⁰. Spinal kordda oluşan doku hasarının mekanizması ve olası girişimsel tedaviler sınırlı kalmıştır.

Aort cerrahisinde spinal kord disfonksiyonunu önleyen tam etkili ve güvenli bir koruma yönteminin varlığından söz edilemez. Bu hasarı önlemeye yönelik pek çok çalışma yapılmıştır ve arayışlar hala sürmektedir. Bu amaçla, halen pasif şantlar ya da parsiyel bypass yardımıyla distal aorta perfüzyonun artırılması, serebrospinal sıvıyı drene ederek spinal kord basıncının düşürülmesi, önemli interkostal ve lomber arterlerin korunması veya reimplantasyonu, hızlı cerrahi, operasyon esnasında cerraha spinal kord disfonksiyonu hakkında bilgi veren somatosensör ve evoke potansiyel ölçümü yaparak spinal kord fonksiyonlarının operasyon süresince izlenmesi, intratekal vazodilatatörler ile kollateral kan dolaşımının artırılması, lokal ya da sistemik hipotermi ile spinal kordun iskemiye olan toleransının artırılması ve çeşitli farmakolojik ajanlarla reperfüzyon hasarının azaltılması gibi birçok yöntem tek tek veya farklı kombinasyonlarda kullanılmaktadır ^{11,12}.

Spinal kordun primer hasara uğradığı durumlarda yapılabilecekler 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 de travmaya bağlı olsun iskemi, ilgili alanda doku hasarına yol açan bir olaydır. Dokunun iskemiye duyarlılığı ölçüsünde hasarın şiddeti de 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. Reperfüzyon hasarı, moleküler oksijenin toksik metabolitleri ile oluşur. Normalde oksijen, karbondioksit ve suya metabolize olur. Hipoksi sonucu, elektron transport sisteminde bozulmaya bağlı olarak reperfüzyon döneminde ani olarak artan oksijen, su ve karbondioksit yerine sitotoksik serbest oksijen radikallerine dönüşmeye başlar ¹³. Bu bilgiler ışığında, reperfüzyon hasarını

azaltmak amacıyla serbest radikal temizleyicileri, immün sistem düzenleyicileri ve adenozin gibi birçok ajan kullanılmıştır.

Bizde mevcut bilgiler ışığında antioksidan, serbest radikal süpürücü ve lipid peroksidasyonu önleyici özelliği bilinen melatonini, iskemi-reperfüzyon hasarında progresi olumlu yönde etkileyeceğini düşünerek tavşanlarda infrarenal aortik oklüzyon modeliyle oluşturmayı planladığımız spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında çalışmayı uygun gördük. Hasarı değerlendirmek için, spinal kord oksidatif stresinin bir göstergesi olan MDA(malondialdehit), dokuyu oksidatif stresten koruyan GSH(redükte glutatyon) ve stres durumunda miktarı artan NO(nitrik oksit) düzeyleri biyokimyasal olarak ölçülüp, sonuçları birbirleriyle mukayese edildi. Ayrıca histolojik inceleme ve nörolojik muayenelerle de sonuçlar korole edilmeye çalışıldı.

II. GENEL BİLGİLER

1. İnsan Spinal Kord Anatomisi

Ortalama uzunluğu 40-45 cm, ağırlığı 30-35 gr'dır. İntrauterin hayatın 3. ayına kadar tüm kanalis vertebralis, daha sonraki gelişim döneminde ise kanalis vertebralisin daha hızlı büyümesi nedeniyle proximal 2/3'ünü kapsar ¹³.

Spinal korddan 31 çift spinal sinir çıkar. İlki foramen magnum ile birinci servikal vertebra arasından olup 8 çifti servikal, 12 çifti torakal, 5 çifti lomber, 5 çifti sakral, 1 çifti de koksigeal'dir. Birinci servikal ve koksigeal spinal sinirlerin arka kökleri olmadığından dermatomları da yoktur. Her bir çift spinal sinir kendi seviyesindeki foramen intervertebraleden çıkar. Üst servikal seviye sinirlerin çıkışı yaklaşık transverstir. Servikal seviyede spinal sinir çıkışları kemik seviyesi ile uyumludur. Ancak C7 segmentleri, kemiğe göre 2 seviye üsttedir. Alt torakal ve üst lomber spinal kord segmentleri ile kemik seviyesi arası 3 segment vardır. Yani her bir spinal sinir kendi foramen intervertebralisinden geçmek için aşağıya doğru uzanır. Bu at kuyruğu benzeri yapıya kauda equina adı verilir. Spinal kordun koni şeklinde sonlanması konus medullaris, buradan aşağıya uzanan pia lifleri de filum terminale adını alır.

Spinal kord iki yerde genişler: İntumescentia servikalis (C4-T1 arası, brakial pleksusu oluşturan lifler çıkar), intumescentia lumbalis (T9-L1 arası, Lomber L1-4 ve sakral L4-S2 pleksusu oluşturan kökler çıkar) ¹⁴.

Spinal kord içte gri cevher, dışta beyaz cevherin olduğu, enine kesitte kelebeğe benzer yapıdadır. Gri cevherde hücre gövdeleri, bazı aksonlar, nöroglia ve kan damarları bulunur. Beyaz cevher ise miyelinli sinir lifleri, nöroglia ve kan damarları içerir. Beyaz cevher miktarı spinal kordun üst kısmında artar. Çünkü merkeze taşınan perifer uyarıların tümü üst servikalden geçer. Gri cevher miktarı ise innerve olacak kas miktarına bağlıdır ve doğru orantılıdır ¹⁴.

Spinal kordun ön tarafındaki yarık fissura mediana anterior, arka yüzündeki oluk sulcus mediana posterior, fissura mediana anteriorun sağ ve solunda sulcus anterolateralisler, sulcus mediana posteriorun sağ ve solunda sulcus posterolateralisler, sulcus mediana posterior ile sulcus posterolateralisler arasında sulcus intermedius posterior bulunur. Sulcus intermedius posterior vücut üst ve alt bölgelerinden gelen proprioseptif duyuları merkeze taşıyan fasciculus gracilis ve fasciculus cuneatusu ayırır. Sulcus posterolateralislerden arka kökler (duyu lifleri) spinal korda girer, sulcus anterolateralislerden ön kökler (motor lifler) spinal kordu terk eder ¹⁴.

Gri cevherde öne uzanan cornu anterior, arkaya uzanan cornu posterior, T 1-2 veya L3 seviyesinde yana uzanan cornu lateralis yer alır. Ortada epandim hücrelerince sarılan kanal kanalis santralis'tir. Epandim hücreleri serebro spinal sıvının akış yönünü belirler. Kanalis santralis önündeki gri cevher bandı comissura grisea anterior, arkasındaki comissura grisea posteriordur ¹⁵.

Beyaz cevher funiculus posterior-lateralis-anteriordan oluşur. Aferent yolların çaprazlaştığı (decussatio) comissura alba anterior fissura mediana anteriorun hemen arkasındaki beyaz cevherdir ¹⁵.

Spinal kordu saran en dıştaki zar duramater olup foramen intervertebraleeye kadar kökleri sarar. Epidural aralık, yağ dokusu ve venlerle doludur. Ortadaki zar araknoid, en içteki ise piamaterdir. Serebrospinal sıvı araknoid ve pia arasındaki subaraknoid aralıkta dolaşır. Pia konustan sonra aşağıya filum terminale adıyla devam eder. Dura ile araknoid S2 hizasına kadar uzanır. Spinal kord pia katlantıları olan ligamentum denticulatumlarla (ortalama 18-23 adet) dura dış yaprağına tutunarak sabitlenir. Spinal kord beyaz cevheri merkezden perifer, periferden merkeze uzanan akson demetlerinden oluşur ve üç tip yol mevcuttur ¹⁶.

1. Intersegmental yollar : (Refleks mekanizmalarında önemli.)
2. Çıkan yollar(afferent)

Funiculus posteriorda çıkan yollar :

(proprioseptif duyuları, vibrasyon, iki nokta duyarlılık, dokunma ve basınç duyuları). Sakral bölgeden gelenler medialde, servikal bölgeden gelenler lateralde, lomber ve torakal bölgeden gelenler ikisinin arasındadır. Fasciculus gracilis T-6 altından, fasciculus cuneatus T-6 üstünden taşırlar. İpsilateral yükselerek medulla oblongatada nukleuslarına ulaşırlar. Burada decussatio lemniscorum'da çapraz yapıp yükselen liflere medial lemniscus adı verilir. Yükselerek talamus VPL (ventral post lateral) nucleus ve oradan postsantral girusa ulaşırlar ¹⁶.

Funiculus anteriorda çıkan yollar:

a- Tr. Spinothalamicus anterior: Hafif dokunma ve basınç duyusunu merkeze taşır. Sakral ve lomberden gelen lifler lateralde, servikal ve torakalden gelen lifler medialde taşınır. M. Spinalise arka kökten giren duyular komissura alba anteriorda decussatio yaparak yükselir. Pons ve mezensefalonda medial lemniscus ile yakın ilişkidir. Mezensefalonda lateral ve medial bölümlere ayrılır. Büyük olan lateral parça talamusun posterior ve ventral posterolateral nucleusunda, medial parça ise aqueductus mezensefali etrafındaki gri cevher ve talamusun intralaminar nucleusunda sonlanır. Postsinaptik lifler kapsula interna ve korona radiata ile duyu korteksine ulaşır. Tek taraflı lezyonunda çok az dokunma duyusu kaybı görülür. (Aynı uyarıyı funiculus posteriorda taşır). Bilateral lezyonunda hafif dokunma duyusu kaybolur.

b- Tr. Spinotectalis: Baş, boyun ve gözün kaynağa doğru isteğimiz dışı hareketini sağlar.

c- Tr.spino-olivarius posterior:Nucleus olivarius aksesoriusta sonlanır.

d- Tr. Spino-olivarius anterior: Serebellumda sonlanır.

e- Tr. Spinoretikularis: Beyin sapı retikuler nucleuslarda sonlanır. Davranış, bilinç ve elektrokortikal aktivite modülasyonu ile ilgili yoldur.

Funiculus Lateraliste çıkan yollar:

a-Tr. Spinothalamicus lateralis: Ağrı ve ısı duyularını merkeze taşır. Sakral ve lomber uyarılar lateralde, torakal ve servikal uyarılar mediyalde taşınır. Ağrı uyarıları önde, ısı uyarıları arkada yer alır. Spinal korda arka kökten giren uyarılar komissura alba anteriorda girdiği seviye veya bir alt ve bir üstten karşıya geçerek duyu korteksine (talamustaki ventral posterolateral nükleus vasıtası ile) ulaşır. Unilateral lezyonlarda vücut karşı tarafında ağrı ısı duyu kaybı olur.

b-Tr. Spinocerebellaris posterior: Kas içciği, golgi tendon organı, dokunma ve basınç reseptörlerinden aldığı bilinçsiz proprioseptif duyuları serebelluma taşır. Postürün ince koordinasyonu ve ekstremiteler kaslarının hareketleriyle ilgisi yoktur. Çapraz yapmadan serebelluma ulaşır.

c-Tr. Spinocerebellaris anterior: Tr spino cerebellaris posterior ile benzer uyarıları taşır. Ancak comissura alba anteriorda çapraz yaparlar ve pedinkulus serebellaris seperiorda ikinci çaprazını yaparlar.

d-Tr. Cuneocerebellaris:

3- İnen Yollar (Piramidal, efferent yollar)

Somatik hareketler, visseral inervasyon, kas tonusu modifikasyonu, refleks ve duyu uyarılarının merkezi iletimi ile ilgilidir.

a-Tr. Corticospinalis:

Liflerin %30'u pirimer motor alandan, %30'u premotor alandan, %40'ı duyu korteksinden kaynaklanır. Bu lifler yelpaze şeklinde olup corona radiata adını alır. Capsula interna krus posteriorundan geçip mezensefalonda krus serebruma ulaşır. Ponsda eminensia piramidalisleri, medulla oblongatada piramidleri oluşturur. Beyin sapında 3,6 ve 12 kranialler ile yakın ilişkidir. Medulla oblongata alt sınırında %75-90 lif çapraz yapar. Bu lifler decussatio pyramiderum adını alır ve tr.corticospinalis lateralis oluşturur. Çapraz yapmayanlar ise tr.corticospinalis anterior olarak isimlendirilir. Tr. Corticospinalis lateralis liflerinin %55'i servikal, %20'si torakal ve %25'i lumbosakral seviyede sonlanır.

İnce, istemli hareketlerle ilgili bu yolun herhangi bir seviyede lezyonu paraliz ile sonuçlanır. Kas tonusu kaybı, antigravite, kas tonusu artışı, hiperaktif derin tendon refleksleri, abdominal ve kremasterik refleks kaybı ve Babinski (+)'liği gözlenir.

b-Tr. Tectospinalis: Çoğu lif C1-C4 arası sonlanır. Görme ve işitme uyarılarına bağlı postür refleksini düzenler.

c-Tr. Rubrospinalis:

d-Tr. Vestibulospinalis (Ekstansör kasları sitümüle eder)

e-Tr. Fastigiospinalis ^{16,17}.

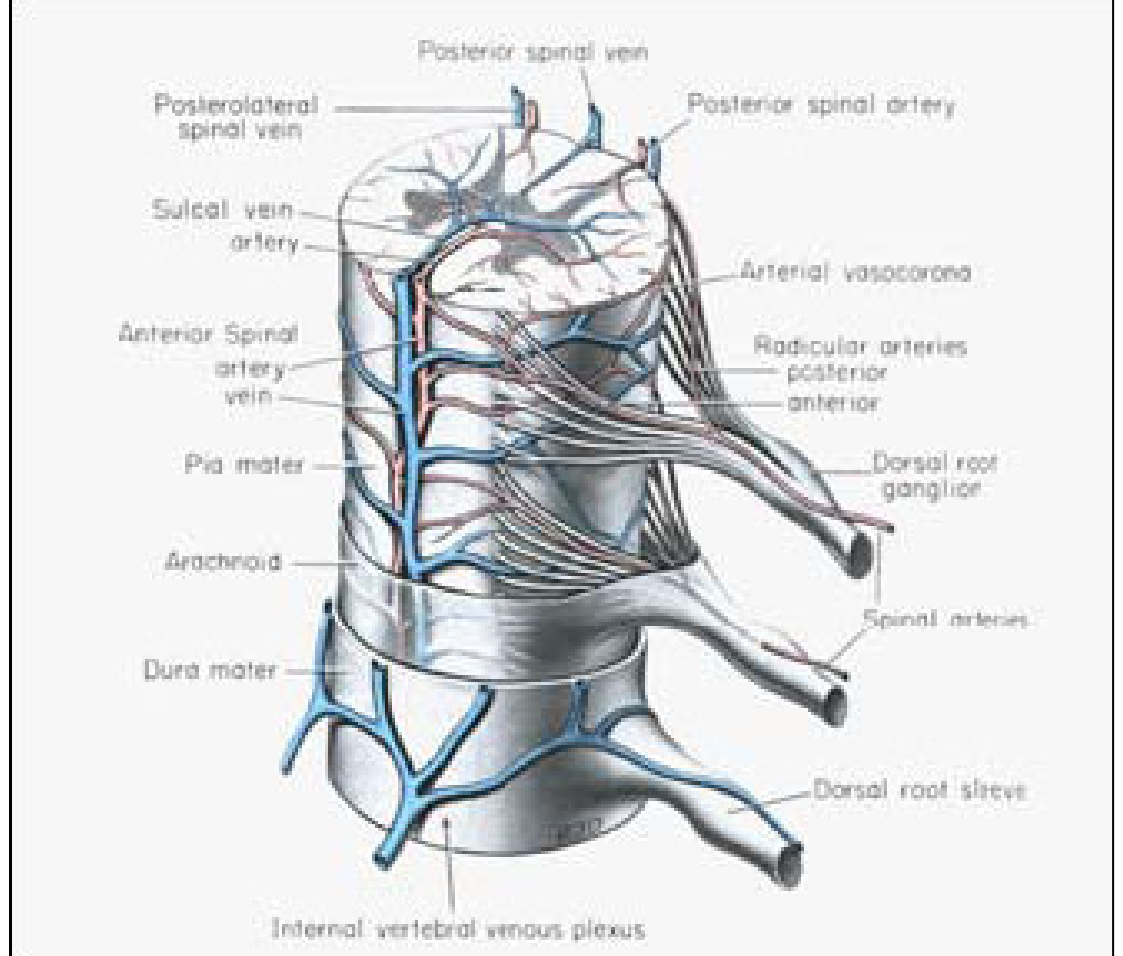
2. Spinal Kordun Arteriyel Beslenmesi

Peroperatif dönemde, spinal kordun hasar görmesine neden olan en önemli etken iskemidir. Bu nedenle spinal kordun arteriyel dolaşımının ve beslenme özelliklerinin bilinmesi, iskemik hasar mekanizmalarının anlaşılmasını kolaylaştıracaktır ¹⁸.

İnsan spinal kordu, 1 adet anterior spinal arter (ASA) ve 2 adet posterolateral spinal arter'le (PLSA) perfüze olmaktadır ¹⁹. Bunlar, üst bölgede vertebral arterlerden çıkarlar ve subaraknoid aralık içinde aşağıya doğru devam ederler. Bu seyir esnasında, birbirleriyle iyi belirlenemeyen, sayıları da tahmin edilemeyen sirkumferensiyel anastomotik kanallar vasıtasıyla ilişkidirler. Bazen, posterolateral spinal arterler postero-inferior serebellar arterlerden çıkabilmektedir. ASA, spinal kord kanının %75'ini sağlamaktadır. Genellikle anatomik devamlılığı olan düz bir damar şeklindedir. Oysa PLSA daha çok pleksus görünümündedir ¹⁹.

Ayrıca, aorta ve dallarından çıkan, sayıları 25-30 çift arasında değişen segmental damarlar da mevcuttur. Bunların ASA ile anastomoz yapabilme potansiyelleri vardır. Bunlardan 12- 14'ü direkt olarak aortadan diğerleri ise vertebral arterler, tiroservikal ve kostoservikal turunkuslar ve iliak arterlerden çıkmaktadır. Bu damarlar arkaya doğru seyrederek anterior ve posterior kollara ayrılırlar. Anterior dal

interkostal arter olarak göğüs duvarında devam eder (Abdominal bölgede karın duvarının posterolateral bölümünü ve bel bölgesini kanlandırırlar) ¹⁹.



Şekil 1- Spinal Kord Arteriyel Kanlanması

Posterior dal ise anterior ve posterior radiküler arterlere ayrılarak spinal arterlere ulaşırlar. Anterior radiküler arter, ASA ile birleşerek spinal kordun ve spinal korddan direk olarak çıkan sinirlerin beslenmesine katkıda bulunur. Segmental arterlerin bazıları da direk olarak spinal korda ulaşmaktadır. Spinal kordun üst bölümüne (C1-T2/T3 düzeyi) 3-5 adet anterior radiküler arter beslenme desteği verirken, midtorasik bölüme (T4—T7/T8) sadece bir adet anterior radiküler arter ulaşır, bazen o da yoktur. Spinal kordun alt torasik ve lomber bölümü ise (T8-L5) 3-5 adet anterior radiküler arterlerden beslenir. Bunlardan biri çok önemlidir ve "Adamkiewicz"

adını almıştır. Bu arter insanların %90' ında T8 -L3 düzeyinden ve genellikle de sol taraftan çıkmaktadır (%20 sağdan) ²⁰.

Geniş çalışma serilerine göre insanlarda Adamkiewicz arteri %15 olguda T5-T8, % 7 5 olguda T9-T12, %10 olguda ise L1-L2, düzeyinde aortadan çıktığı gösterilmiştir ²¹. Wadouh ve arkadaşları ²² bu arterin lomber spinal kord perfüzyonundaki önemini, ligatüre edildiği deneklerin %70'inde parapleji geliştiğini göstererek vurgulamışlardır. Dolayısıyla bu arterin çıktığı düzeyin bilinmesi büyük önem taşımaktadır.

3. Aortik Kros Klemplemenin Spinal Kord Üzerine Etkileri

Kros-klemp distalindeki organlarda iskemi gelişmektedir. Bu organlar kros-klempin yerine göre böbrekler, karaciğer, spinal kord ve barsaklardır. Spinal kord iskemiye en duyarlı organ olup, buradaki iskemik hasar, paraparezi veya parapleji ile sonuçlanabilmektedir ^{23,24}.

Hastalığın yaygınlığına ve morfolojisine, operasyon endikasyonuna, hastanın yaşına, kros-klemp süresine ve rekonstrüksiyon tipine bağlı olarak, bildirilen nörolojik komplikasyon oranı %6,5-40 arasında değişmektedir ^{25,26}.

Torasik ve torakoabdominal aortayı tutan hastalıkların cerrahi tedavisinde son zamanlarda mortalite ve morbidite sıklığında önemli düşüşler gözlenmesine karşın, parapleji veya paraparezi bu operasyonlardan sonra halen kayda değer oranlarda göze çarpmakta ve sorun olmaya devam etmektedir ^{27,28}.

Aort cerrahisinde spinal kord disfonksiyonunu önleyen tam etkili ve güvenli bir koruma yönteminin varlığından söz edilemez. Bu hasarı önlemeye yönelik pekçok çalışma yapılmıştır ve arayışlar hala sürmektedir. Bu amaçla, halen pasif şantlar ya da parsiyel bypass yardımıyla distal aorta perfüzyonun artırılması, serebrospinal sıvıyı drene ederek spinal kord basıncının düşürülmesi, önemli interkostal ve lomber arterlerin korunması veya reimplantasyonu, hızlı cerrahi,

operasyon esnasında cerraha spinal kord disfonksiyonu hakkında bilgi veren somatosensör ve evoke potansiyel ölçümü yaparak spinal kord fonksiyonlarının operasyon süresince izlenmesi, intratekal vazodilatatörler ile kollateral kan dolaşımının artırılması, lokal ya da sistemik hipotermi ile spinal kordun iskemiye olan toleransının artırılması ve çeşitli farmakolojik ajanlarla reperfüzyon hasarının azaltılması gibi birçok yöntem tek tek veya farklı kombinasyonlarda kullanılmaktadır^{29,30}.

4. Spinal Kord İskemisine Neden Olan veya Artıran Faktörler

Aort cerrahisinde, spinal kord iskemisine yol açan veya iskemiyi artıran etkenler şöyle sıralanabilir; Preoperatif hipotansiyon, aortik oklüzyonu takiben oluşacak distal aortik hipotansiyon, beyin-omurilik sıvısı basıncında artma, ileri yaş ve preoperatif renal disfonksiyon, spinal kordun beslenmesi açısından kritik olan interkostal ve lomber arterlerin devre dışı bırakılması, interkostal arterlerin trombotik veya embolik tıkanması, peroperatif hipotansiyon, postoperatif hipotansiyon, uzun kros-klemp süresi, uzun anevrizmal hastalık, yetersiz kollateral beslenme, yetersiz distal perfüzyon, kros-klemp düzeyi, post-iskemik resirkülasyon (reperfüzyon) hasarı²⁹.

5. Spinal Kord İskemik Hasarının Fizyopatolojisi

Spinal kord metabolik ihtiyaçları ve bunun için gerekli olan kan akımı arasında hassas bir denge vardır. Bazal şartlarda spinal kordun total kan akımı 30-35 ml/100 gr.doku/dk'dır³⁰. Enerji üretimi için gerekli olan oksijen ve diğer substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otoregülasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Spinal kord akımı 50-135 mmHg ortalama sistemik arter basıncında bu intrinsek kontrol mekanizmalarıyla güvenli bir şekilde sürdürülmektedir³¹. İskemi, kan

akımı yetersizliği nedeniyle dokuların ihtiyacı olan oksijen ve metabolik substratların karşılanamadığı patolojik bir olaydır. Nöral doku iskemiye çok duyarlı olup oksijen depo edemediği ve rejenere olamadığı için, oksijen desteği kritik değerlerin altına düştüğü zaman canlılığını sürdüremeyecektir. Hasarın şideti, hipoksinin süresi ve derinliğine bağlıdır. Hipoksi durumunda, hücre canlılığının devamı için gerekli olan enerji (ATP), glikojen depolarından glikoliz yoluyla yani anaerobik olarak üretilmeye başlar. Bu esnada, aerobik glikoliz neredeyse durma noktasına gelmekte ATP'nin sadece %7'si bu yolla üretilmektedir ³². Normal ısı derecesinde, 3-4 dakikalık iskemiye takiben ATP depoları tamamen boşalır, mitokondriyal oksidatif fosforilasyon durur. ATP düzeyi sıfıra yaklaştığında intraselüler iyonik homeostazis için gerekli olan ve ATP'ye bağımlı membran iyon pompaları çalışamaz olur ³³. İrreversibl selüler hasar sürecinin başlamasında kalsiyum iyon homeostazisinin bozulması en kritik noktadır. İskemi esnasında, intraselüler kalsiyum hızla çoğalmakta, kalsiyum seviyesindeki bu artış sitoplazmik proteazlar ve nükleazların salınımını aktive etmektedir. Bunlar yapısal proteinlerin ve DNA'nın hasar görmesinden sorumlu olan enzimlerdir. Kalsiyumun aktive ettiği fosfolipazlar, membran lipitlerini araşidonik asit ve diğer çeşitli vazoaktif metabolitlere dönüştürecektir. Endotelial ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür ki bu enzim reperfüzyon esnasında serbest radikal üretiminde rol alan önemli bir ajandır. Sonuç olarak, intraselüler kalsiyum konsantrasyonundaki yükselme, beraberinde her ikisi de şiddetle nörotoksik olan aspartat ve glutamat miktarının artmasına neden olur ³³.

6. Reperfüzyon Hasarı Fizyopatolojisi

Post-iskemik resirkülasyon veya reperfüzyon, iskemik dokunun oksijenlenmiş kan ile perfüze edilmesiyle, enerji desteğinin sağlanması ve selüler homeostazisin yeniden restorasyonu demektir ³². Ancak, reperfüzyon esnasında ortaya çıkan bazı toksik ajanlara bağlı lokal doku hasarı ve olumsuz sistemik etkiler,

son yılların popüler araştırma konularından biri olmuştur ³⁴. Braugher ve Hall ³⁵, oksijenlenmiş kan ile reperfüze edilen iskemik nöral dokuda, serbest radikallerin rolünü detaylı bir şekilde bildirmişlerdir. İskemi sırasında, ATP'nın hızla metabolize olması nedeniyle ksantin ve hipoksantin seviyeleri artmaktadır. Ortamda nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'ın indirgenmiş formu ve ksantin veya hipoksantin bulunduğu, moleküler oksijenin ksantin oksidaz aracılığıyla süperoksit ve diğer serbest radikallere dönüşmesi söz konusudur.

İskemik ortamda serbest radikal oluşumuna neden olan başka mekanizmalar da işlemektedir bunlar; doku hasarına bir cevap olarak oluşan aktif nötrofillerin yol açtığı respiratuar süreç, araşidonik asitin prostaglandin G2 ve H2' ye metabolize olması, demir gibi bazı metallerin ortamda bulunması halinde katekolaminlerin otooksidasyonudur. Serbest radikallerin zararlı etkileri, DNA hasarı, lipit peroksidasyonu sürecinin başlatılması, kollagen ve hiyalüronik asit gibi yapısal elementlerin parçalanması şeklindedir. Lipit peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulması, bazı kritik membran bağımlı enzim istemlerinin inaktivasyonu ve tromboksan A2 gibi vazokonstrüktif prostaglandinlerin artmasından sorumludur ³³. Prostaglandin üretimindeki bu olağandışılık, nihayet inflamatuvar hücrelerde ve platelet agregasyonunda artış, ardından mikrovasküler vazospazm ve trombozisle sonuçlanacaktır. Bu olay "no-reflow fenomeni" olarak ta anılır ³¹.

Reperfüzyon sırasında oluşan hiperemi, permeabilite artışı ve kompartman sendromunun da, spinal kord hasarından sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir ³².

Brone ve arkadaşları ³⁶, 30 dakika süren torasik aort oklüzyonunu takiben resirkülasyon aşamasında distal spinal kord akımında bazal değerlere göre önemli derecede artış olduğunu deneysel olarak göstermişlerdir.

Svensson ve arkadaşları ³⁷, nörolojik komplikasyon görülen deneklerde spinal kordun fazla hiperemik olduğunu saptamışlardır.

Jacobs ve arkadaşları³⁸ ise, reperfüzyon sırasında oluşan hiperemi ile kan-beyin bariyerinde albümine karşı geçirgenliğin artması sonucu ortaya çıkan spinal kord ödemi ve kompartman sendromunun bu komplikasyondan sorumlu olabileceğini ileri sürmektedirler. Diğer bir çalışmada da reperfüzyon sırasında spinal kordun hiperemik cevabının azaltılması gerektiği savunulmaktadır³⁹.

7. Spinal Kord İskemiden Koruma Yöntemleri

*Spinal kord kan akımının sürdürülmesi;

Hızlı cerrahi, distal aortik perfüzyon (gott şantı, femoral ven-femoral arter bypass), intratekal vazodilatör ajanlar, interkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu, serebrospinal sıvı basıncının azaltılması

**Spinal kordun iskekiye toleransının artırılması;

Hipotermi, anestezi ajanlar, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokerleri, eksituar aminoasit antagonistleri

***Reperfüzyon hasarının azaltılması;

Serbest radikal gidericiler, immün sistem modülasyonu, adenozin^{30,31}.

A.Spinal Kord Kan Akımının Sürdürülmesi

i. Hızlı Cerrahi

Hızlı ve becerikli cerrahi ve dolayısıyla kros-klemp zamanında ekibin deneyim eksikliğinden kaynaklanan uzamaların olmaması, iskemik komplikasyonların önlenmesinde belki de ilk adım olacaktır. Daha 1910' larda deneysel aort cerrahisinde kros-klemp zamanının 10-15 dk. arasında olması halinde iskeminin güvenle sonuçlandırılacağı bildirilmiş ve daha sonraki klinik uygulamalarda bu uyarı "clamp and go" tekniği olarak torasik ve torakoabdominal aort anevrizmaların onarımında

kullanılan ilk yöntemin adı olmuştur ⁴⁰. Livesay ve arkadaşları ¹ kros-klemp zamanının 30 dk'yı aşması halinde parapleji riskinin %3'ten %11'e yükseldiğini göstermişlerdir.

Svensson ve arkadaşları da ⁴¹ spinal kordun hasar görmesinde kros-klemp zamanının tek başına bir faktör olabildiğini bildirmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar kros-klemp zamanı 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 oluşmayabileceğini ileri sürmektedirler. Örneğin Hollier ve arkadaşları ⁴² 20 dk.'dan daha az kros-klemp uygulamasında 5 olguda parapleji bildirmekte, tersine Najafi ⁴³ 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 edilmemesinden kaynaklanmaktadır.

Katz ve arkadaşları ⁴⁴, aortik oklüzyon süresiyle nörolojik defisit sıklığı arasında direk 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 olmayacağına 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 ⁴⁵.

ii. Distal Aortik Perfüzyon

Distal aortik kan basıncının 60-70 mmHg seviyesinde tutulması halinde spinal kordun etkin olarak korunduğu deneysel olarak gösterilmiştir ⁴⁶. Distal aortik perfüzyon, kros-klemp süresince distal aortik perfüzyon basıncını yükselterek spinal kord kan akımını artırma amacını 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 şanti kullanarak kros-klempin distalinde kalan aort bölümüne proksimalden kan akımı sağlanmaktadır. Özellikle atrio-femoral bypass yöntemi giderek daha sık kullanılmaktadır. Distal aortik perfüzyon yöntemleriyle böbrek ve spinal kordun etkin şekilde korunduğu gösterilmiştir ⁴⁷.

iii. Intratekal Vazodilatatörler

Intratekal vazodilatatörler hakkında pekçok çalışma yapılmıştır. Yüz 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 önlenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu sayede spinal kord 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 düşünülen 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 ⁴⁸.

Svensson ve arkadaşları ⁴¹, maymun modelinde, Sun ve arkadaşları ⁴⁸ 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 ⁴⁹, köpek modelinde vazodilatatör etkisi bilinen %20 Fluosol- DA ve oksijene perflüorokarbonu intratekal vererek spinal kord hasarını önlediklerini bildirmektedirler.

iv. **Beyin-Omurilik Sıvısının (BOS) Drenajı**

Aortaya kros-klemp konunca, klempin proksimalinde intra-aortik basıncın yükseldiği, bunun sonucu kardiak ard-yükün ve BOS basıncının arttığı bilinmektedir.

Blaisdell ve Cooley⁵⁰, 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 bu da iki yolla spinal kordun 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 gösterilmiştir⁴⁰. "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. 50mmHg'lık perfüzyon basıncı, otoregülatuar sistemlerin normal spinal kord kan akımını devam ettirebileceği en alt sınırdır. Bu basıncın 50 mmHg'dan büyük tutulması gerekir. Bunun yapılamadığı 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 kompartmanlarda 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 önerilmiştir⁵¹. Günümüzde

yüksek riskli distal aort patolojilerinin cerrahi tedavisinde BOS drenajı standart olarak önerilmektedir ⁵². Torasik aortanın klempe edilmesi sırasında BOS drenajı sadece perfüzyon basıncının devamı üzerinde etki göstermez. Kros-klemp sırasında BOS içine nörotoksik maddelerin sekresyonu artar. BOS drenajı bu zararlı proteinlerin de beyin omurilik sıvısından uzaklaştırılmasını sağlar ⁵³.

B.Spinal Kordun İskemiye Toleransının Artırılması

Spinal kordun iskemiye toleransının artırılması amacıyla bölgesel veya sistemik hipotermi, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokerleri, eksitatuvar amino asit antagonistleri ve anesteziik maddeler kullanılmaktadır.

i. Kortikosteroidler

Steroidlerin koruyucu etkileri, membran stabilize etme, immün sistem modülasyonu ve serbest radikal temizleyici etkileri ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Fowl ve arkadaşları ⁵⁴, tavşanlarda 21-amino steroid olan U- 74006F vererek spinal kord hasarını önlediklerini rapor etmişlerdir.

ii. Kalsiyum Antagonistleri

Kalsiyum kanal blokerlerinin serebral iskemiden sonra, beyin kan akımını artırdığı ve böylece nörolojik fonksiyonları olumlu yönde etkilediği bilinmektedir.

Schitteck ve arkadaşları ⁵⁵ bir kalsiyum antagonisti olan nimodipinle spinal kord iskemisini de önlediğini deneysel olarak göstermişlerdir.

iii. Eksitatuvar Amino Asit Antagonistleri

Eksitatuvar amino asit antagonistlerinden n-metil d-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti MK-801'in tavşan spinal kord iskemi modelinde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir ³¹. Tobinaga ⁵⁶ tavşan modelinde MK-801'i intra-aortik vererek postoperatif spinal kord hasarının önemli ölçüde azaldığını rapor etmiştir.

iv. Anestezik 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 anestezik ajanların hayvan deneylerinde nöroprotektif oldukları gösterilmiştir ⁴⁰. Benzer olarak bir opiat reseptör antagonisti olan naloksanın, deney hayvanlarında nöroprotektif olduğu ve iskemik spinal kord hasarını önlemede yararlı olabileceği ileri sürülmektedir ³¹.

v. Hipotermi

Hipoterminin iskemik nöral doku ve spinal kord üzerindeki koruyucu etkisi deneysel ve klinik olarak iyi bilinen bir özelliktir ⁵⁷. 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 ⁵⁸.

Scott ve arkadaşları ²⁹ domuz modelinde aksesör hemiazigoz veninden adenozin içeren hipotermik izotonik 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 enerji tüketiminde düşme sağlar. Isının her 1°C düşmesinde nöral dokunun oksijen tüketiminin %5 azaldığı gösterilmiştir ⁵⁹. 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 ⁶⁰.

Normotermide yüksek enerjili fosfatlar hızlı bir şekilde tükenir. Bununla beraber Norwood ve arkadaşları ⁶¹ 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 etkilerini de azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca hipotermi membran stabilizasyonunu sağlar ve eksitatuvar nörotransmitterlerin salınımını azaltır. Total kardiopulmoner bypass ve derin hipotermik sirkülatuar arrest yönteminin, desandan torakal ve torakoabdominal aort anevrizmalarının tedavisinde spinal kordu korumak üzere kullanılması önerilmektedir ⁶². Ancak hemoraji, pulmoner sistem ve sinir sistemi komplikasyonları bu yöntemin yaygın kullanımını sınırlamaktadır.

C.Reperfüzyon Hasarının Azaltılması

Reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla serbest radikal temizleyicileri, immün sistem düzenleyicileri ve adenosin gibi birçok ajan kullanılmıştır. Aortik kros-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 ortamdaki uzaklaştırılması önem kazanmaktadır. Serbest oksijen radikal giderici olarak süperoksit dismutaz gibi enzimler, allopurinol, E vitamini, koenzim q, sistein, glutatyon,

albümin, serüloplazmin, transferin gibi çeşitli maddeler mevcuttur. Bu endojen ve eksojen radikal temizleyicisi ve inhibitörleri hakkında literatürde çok geniş bilgi mevcuttur ⁶³.

8. Spinal Kord Yaralanmalarının Medikal Tedavisi

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

Akut tedaviler nöroprotektif ilaçları içerir ve dört gruba ayrılır:

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

Antioksidanlar, hasara uğramış hücreler tarafından üretilen serbest radikaller veya reaktif molekülleri nötralize eder ⁶⁴. Spinal akson ve hücreler nörotransmitter reseptörlere sahiptir. Glutamat reseptör blokerleri gibi bazı nörotransmitter reseptör blokerlerinin spinal kord yaralanma modellerinde nöroprotektif etkisi olduğu bulunmuştur ⁶⁵. Fosfokinazlar endojen nöroprotektif mekanizmalar üzerine etkilidir. Fosfatazlar ise nitrik oksit sentaz, reseptör kanalları ve voltaja duyarlı iyonik kanalları aktive eder ⁶⁶.

İyileşme fazı ilaçları fonksiyonel geri dönüşün kapsam ve hızını artırır. Aksonların remiyelinizasyonu ve denerve dokuların plastisitesi iyileşmeye katkıda bulunur. İyileşme fazı ilaçları, hücre onarımı ve büyümesinde anahtar rol oynayan inflamatuvar faktörleri içerir.

Kronik tedaviler, rejenerasyon ve remiyelinizasyon yoluyla fonksiyonların restorasyonunu sağlar.

Restoratif tedavi üç kategoride incelenir:

- 1-Büyüme ve büyümeyi inhibe eden faktör blokerleri,
- 2-İntraselüler haberci modulatörler,
- 3-Nakledilebilen hücreler veya materyaller.

Birinci kategoride nörotropinler, rejenerasyonu stimüle eden diğer faktörleri ve büyümeyi inhibe eden proteinlere bağlı antikorları içerir. İkinci kategori ilaçları hücre büyüme ve farklılaşmasını modüle eden protein kinaz ve fosfatazları etkiler. Üçüncü kategori ilaçları ise genetik olarak modifiye fibroblastlar, astrositler ve oligodendroglialar gibi nakledilebilen hücreler veya materyalleri içerir. Bunların hızlandırıcı veya serbestleştirici faktörlerle aksonal büyümeyi hızlandırdığına veya rehberlik ettiğine inanılmaktadır.

A.Nöroprotektif Tedaviler

Yaralanma, vücut ve spinal kordda karmaşık yanıtlar başlatır. Bu yanıtlar hücrel yıkıntıların temizlenmesi ve doku onarımı gibi inflamatuvar mekanizmaların başlamasını içerir. Bu mekanizmalar aynı zamanda daha ileri doku hasarına neden olan toksik maddelerin serbestleşmesine neden olur. Bu durum ikincil hasar olarak adlandırılır. İkincil hasar mekanizması dört genel kategori içinde incelenir.

i. Serbest Radikaller

Normal kimyasal reaksiyonların üretilmesinde rol alan yüksek reaktif moleküllerdir. Yaralanma esnasında kimyasal reaksiyonların durmasına bağlı olarak birikir. Özellikle hasara uğramış mitokondrilerde oksijen serbest radikalleri veya superoksit serbestleşir. Superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz, normalde oksijen

serbest radikallerini nötralize eder ⁶⁷. SOD, superoksiti hidrojen peroksite, katalaz hidrojen peroksiti oksijen ve suya dönüştürür. Ek olarak beyin ve spinal kord askorbik asit, glutatyon ve vitamin E gibi antioksidanlardan yüksek oranda içerir ⁶⁸. Bunlar yüksek oranda serbest radikalleri ortadan kaldırırlar. Yaralanmış dokuda serbest radikal üretimi artar, endojen antioksidanlar tükenir ve SOD hasar verir. Aşırı miktarda serbest radikallerin birikmesi lipid ve proteinlere zarar verir. Bu durum fazladan serbest radikal üretilmesine neden olur. Serbest radikal hasarında uyarılabilir nitrik oksit sentaz ile aşırı üretilen nitrik oksitin de doku hasarına neden olduğu bilinmektedir ⁶⁹.

ii. Aşırı Kalsiyum Akımı ve Eksitotoksisite

Normalde Ca^{+2} iyonu ekstraselluler sıvıdadır. Hasarlanmış hücrede Ca^{+2} , membran delikleri, voltaj duyarlı Ca^{+2} kanalları, nörotransmitter reseptör kanalları yoluyla sodyum-kalsiyum değişimine neden olur. Kalsiyum iyonları fosfolipaz ve proteaz gibi enzimleri aktive ederek lipid ve proteinleri yıkar. Glutamat, bir eksitatör nörotransmitterdir. N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptör kanalları yoluyla Ca^{+2} ve Na^{+} değişimi yoluyla nöronların ölümüne neden olur. Glutamat ve diğer eksitatör amino asitler yaralanmış spinal kordda ekstraselüler aralık içine serbestlenir ⁷⁰.

Glutamat reseptör blokerleri, deneysel spinal kord hasarı modellerinde nöron koruyucu etkiye sahip olarak bulunmuştur ⁷¹. Opiatlar ekstraselüler glutamati serbestleştirir. Buna dayanarak opiat reseptör blokerlerinin akut spinal kord yaralanmalarında faydalı etkisi bulunmuştur ⁷². Rastlantısal olarak metil prednizolonun da nöronlarda glutamata bağlı toksisiteyi önlediği bildirilmiştir ⁷³.

iii. Eikosanoidler ve Sitokinler

Yaralanmış hücrelerde yıkılan membran özellikle araşidonik asit gibi serbest yağ asitlerini serbestleştirir. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz gibi enzimler

araşidonatı prostoglandin ve lökotrienlere dönüştürür ⁷⁴. Bu inflamatuvar maddeler yaralanmış spinal kordda serbest hale gelirler. Bunlar hücre şişmesi ve kan akım değişikliklerine neden olan çok güçlü faktörlerdir ⁷⁵. İndometasin ve glukokortikoid gibi antiinflamatuvar ajanlar yaralanmış spinal kordda eikosanoidlerin serbestleşmesini azaltır ⁷⁶.

iv. Programlanmış Hücre Ölümü

Nöronlar nörotropinlerden yoksun kaldığı zaman ölürlür. Bu sitokinler, düşük potasyum ve bazı hormonlardan dolayı olabilir. Bu tip hücre ölümü yeni protein sentezini gerektirir ⁷⁷. Sıklıkla bu durum programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılır. Yoğunlaşmış hücre kromatini ile birlikte hücreler büzüşmüşse apoptozis olarak adlandırılır, bu durum nekrozdan farklıdır ⁷⁸. Apoptozis de aşırı Ca^{+2} ve aktifleşmiş fosfataz girişi olur. Siklosporin-A ve FK 506 gibi fosfataz inhibitörleri apoptozisi önler. Glukokortikoidler programlanmış hücre ölümünün bazı formlarını önleyebilir ⁷⁹ Bir çok ilaç bu ikincil hasar mekanizmasını önler. Örneğin, çeşitli antioksidanların spinal kord hasarı örneklerinde nöroprotektif etkili olduğu bildirilmiştir ⁸⁰. Metil prednizolunun da serbest radikaller üzerinden etki gösterdiği ileri sürülmüştür. Glutamat reseptör blokerleri de yararlı bulunmuştur ⁸¹.

B.İyileşmeyi Arttırıcı Tedaviler

Hasarlı spinal kordun iyileşmesi, remiyelinizasyon ve reorganizasyon hızına bağlı olarak genellikle yavaştır. İyileşmeyi hızlandırıcı ilaçlar üç gruba ayrılır:

i. Potasyum Kanal Blokerleri

Miyelin kaybı aksonal uyarılabilirliği azaltır. Bazı ilaçlar ise demiyelinize aksonların uyarılabilirliğini artırır. Bunlardan en iyi bilineni 4-

aminopyridine(4-AP)dir. Aksonlardaki voltaj duyarlı K⁺ kanallarını bloke eder. Aksonlardaki sinyallerin amplitüt ve süresini artırır. 4-AP, yan etkilerinden dolayı uzun süreli kullanılamaz, kısa süreli tedavide yan etkileri tolere edilebilir ve iyileşme hızı ve oranını artırır⁸².

ii. Nörotransmitter Reseptör Agonistleri

Spinal aksonlar, GABA, norepinefrin ve serotonin (5-HT) gibi reseptörlere sahiptir. Çeşitli ilaçlar bu nörotransmitterlerin endojen düzeylerini arttırabilirler. 5-HT₂ reseptör agonisti quipazin, çeşitli adrenerjik agonistler ve GABA antagonistleri 4-AP'nin etkisine benzer olarak spinal aksonlar üzerinde kuvvetli eksitator etkiye sahiptirler. Bu reseptörlerin antagonistleri de özellikle GABA, 5-HT ve adrenerjik antagonistlerin deneysel spinal kord hasarı modellerinde nöroprotektif etkili olduğu yayınlanmıştır. 5-HT, lokomotor fonksiyon, duyu ve ağrı sistemi üzerine etkilidir⁸³.

iii. İnflamatuvar Faktörler

Beyin ve spinal kordun yaralanmalara uyumu ve reorganizasyonu sınırlıdır. İnflamasyon reorganizasyon için temel uyarıcıdır. GM-1 gangliozidin faydalı etkisi proinflamatuvar etkisine bağlanmıştır. İnflamatuvar ajanlar aynı zamanda nöronlara da zarar verdiklerinden dikkatli ve antiinflamatuvar ajanlarla birlikte kullanılmalıdır. Son çalışmalarda güçlü inflamatuvar endotoksin lipopolisakkaridin indometazinle birlikte nörolojik düzelme sağladığı bildirilmiştir. Diğer potansiyel ilginç terapötik ajan bir proinflamatuvar ajan olan interferondur. Multipl skleroz ve spinal kord yaralanmalarında nörolojik iyileşme üzerine etkisi olduğu bildirilmiştir. Serotonin reseptör inhibitörü olan mianserin'in akut yaralanmalarda nöroprotektif olduğu bildirilmiştir. Mianserin periferik inflamatuvar reaksiyonlarda nörotransmitter rol oynar.

Spinal kord yaralanmalarından sonra nöronları korumak ve iyileşmeyi sağlamak için farklı ilaçlar, etkili oldukları farklı fazlar için verilebilir. Amaç, rejenerasyon ve restorasyonu sağlamaktır^{84,85}.

C.Rejeneratif ve Restoratif Tedavi

Spinal rejeneratif tedavi spinal aksonların rejenerasyonuna yöneliktir. Spinal aksonlar periferel sinir uçlarında rejenere olurlar. Miyeline bağı proteinlerin inhibisyonu özellikle neurotrophin 3 (NT3) ile kombine edildiği zaman erişkin memeli spinal kordun aksonların rejenere olmasına izin verir⁸⁶. Elektromanyetik alanlar ve inflamatuvar piromen adrenokortikotropinlerle kombine edildiği zaman rejenerasyonu kolaylaştırdığı yayınlanmıştır⁸⁷. Fetal hücre transplantının genç hayvanlarda özellikle spinal yollarda rejenerasyon yaptığı bilinmektedir. Astrosit ve schwann hücreleri gibi çeşitli moleküllerin santral aksonal rejenerasyona izin verdiği belirtilmiştir. En son olarak inflamasyon, aksonların rejenerasyonunu ilerletir⁸⁸.

Schwann hücreleri, genç veya fetal astroglial hücreler, inflamasyon ve miyeline bağı inhibitör faktörler spinal kordda rejenerasyon yeteneğine sahiptirler. Bu rejenerasyon bazı seçilmiş büyüme faktörlerinin etkisiyle olmaktadır. Özellikle transplantasyon için yeni tekniklerin gelişmesi ve genetik olarak modifiye hücrelerin geliştirilmesi ile yaralanma bölgesinde selektif büyüme faktörlerinin etkilenmesine bağı olarak rejenerasyonun artırılması hedeflenmektedir. Nakledilen hücreler doğrudan remiyelinizasyonu etkiler. Çeşitli çalışmalarda nakledilen oligodendroglial hücrelerle sıçan spinal kordunda remiyelinizasyon başarılmıştır⁸⁹. Schwann hücreleri aksonal remiyelinizasyon ve rejenerasyonu sağlar, sinir büyüme faktörünü salgılar, selüler adezyon hücrelerini serbest bırakır ve spinal aksonlarda hızlı remiyelinizasyonu sağlar.

i. Spinal Kord Hasarında Potansiyel Olarak Etkili Olabilecek İlaçlar

- 1- Metilprednizolon
- 2- Ganglioizid (GM-I)
- 3- Larazoidler (Trilazad Mesylat)
- 4- Opiat Antagonistleri (Naloksan)
- 5- Eksitatör Aminoasit Antagonistleri
- 6- Kalsiyum Kanal Blokerleri
- 7- Potasyum Kanal Blokerleri
- 8- Serbest Radikal Tutucuları
- 9- Antiinflamatuvar Ajanlar
- 10- Nörotransmitter Reseptör Agonistleri
- 11- Nörotropik Faktörler
- 12- Fetal Doku Transplantasyonu
- 13- Nötralizan Antikorlar
- 14- Melatonin
- 15- Hiperbarik Oksijen
- 16- Sistemik Hipotermi

Spinal kord yaralanmasının fizyopatolojisi ve tedavisindeki son gelişmelere rağmen, tam nörolojik kaybı olan spinal kord yaralanmalı hastaların klinik sonuçları tatmin edici düzeyde değildir. Klinik olarak tartışmalı da olsa metilprednizolon dışında etkinliği kanıtlanmış başka bir ajan henüz bulunamamıştır. GM-1 ganglioizidin iyileşme fazında, 4-AP'nin, kronik spinal kord hasarında iyileşmeye olumlu etkisi olduğu bildirilmiş, trilazad ile ilgili çalışmalarda da olumlu veriler saptanmıştır.

9. Enerji Eksikliği Sonucu İskemide Gelişen Olaylar

İskemi, kan akımının, hücresel 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 ettirebilmektedirler. Santral sinir sistemi vücutta, kısıtlı anaerobik metabolizması ve glikojen depoları nedeniyle iskemide en duyarlı dokulardan biridir. Enerji eksikliği ile devreye giren iskemik kaskat bir dizi sekonder olayı tetiklerse de iskeminin gidişini etkileyen pek çok faktör nedeniyle hücre ölümü kaçınılmazdır. İskemi sonucunu belirleyen en önemli iki faktör; iskeminin derinliği ve süresidir ⁹⁰. İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iske mi 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. Bu nedenle reperfüzyon, bazı yazarlarca "iki ucu keskin bıçak" şeklinde tanımlanmaktadır ⁹¹.

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

Aerobik koşullarda bir mol glukoz, glikoliz ile iki mol piruvata dönüşürken iki mol ATP elde edilmektedir. Oksijen varlığında iki mol piruvat, piruvat dehidrogenaz (PDH) enzimi ile asetil-KoA'ya metabolize edildikten sonra, krebs döngüsü ve ardından indirgen eşdeğerlerin mitokondrial elektron transport zincirinde, moleküler oksijenin suya indirgenmesi sırasında 36 mol ATP elde edilmektedir ⁹².

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



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



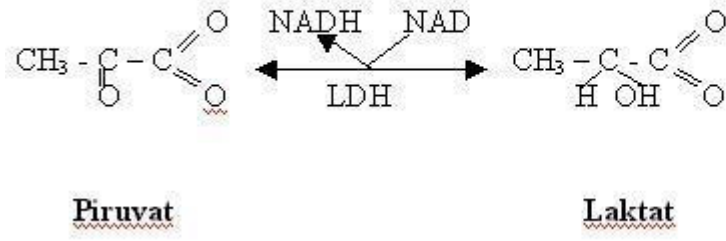
Daha sonra ATP tamamen tükenmektedir⁹³.

İskemide enerji eksikliği sonucu gelişen olaylar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

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

A.Asidoz

Kısmi iskemide veya iskemi öncesi hiperglisemi durumlarında, oksijen yokluğunda glikoz varlığına bağlı olarak, kısa bir süre için anaerobik glikoliz devreye girmektedir. Glikoliz sonucu oluşan piruvat, laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi ile laktata indirgenir [Reaksiyon 3].



[Reaksiyon 3]

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.

Deneysel çalışmalarda, uygulanan iskemi modeline ve iskeminin derinliğine göre hücre içi pH değerleri 6.08 - 6.64 arasında değişmektedir ⁹². Laktik asit 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 ⁹⁴.

B.Makromolekül Sentezinin Durması

ATP konsantrasyonunun azalması ile hücrenin temel enerji gerektiren makromolekül sentez işlemi giderek yavaşlamaktadır. Fosfolipit, polisakkarit, protein, nükleik asitlerin spontan veya enzim-katalizli degregasyonlarının 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 ⁹⁴.

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. Thilmann⁹⁵ ve Heiss⁹⁶ 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.

C.İyon Dengesinin Bozulması

Sinir hücresi membranında iyon trafiği başlıca üç tip transport sistemi ile gerçekleşmektedir:

**Aktif transport sistemi* : Direk veya indirek 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 kanallardır⁹⁷.

Hücre membranında bulunan Na⁺-K⁺ ATPaz pompası, ATP hidrolizi ile üç sodyum atomunu (Na⁺) iki potasyum (K⁺) atomu karşılığında hücre dışına çıkarırken, kalsiyum pompası olan Ca²⁺ATPaz ise iki hidrojen iyonuna (H⁺) karşılık bir kalsiyum (Ca²⁺) iyonunu hücre dışına çıkarmaktadır. Böylece ekstraselüler Na⁺ ve Ca²⁺ 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 gradiyenti, 3Na⁺-Ca²⁺ ve Na⁺-H⁺ antiporterleri için enerji kaynağını 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 gradiyenti ile oluşmaktadır.

Hücreye enerji sağlandığı sürece aktif ve pasif transport sistemleri uyum içinde çalışarak, iyon dengesini sağlamaktadırlar. 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-repolarizasyonu ile gerçekleşmektedir. Sinir hücresinin bu elektriksel aktivitesi de elektroensefalogram (EEG) dalgaları ve somatosensoriel uyarılmış potansiyeller (SEP) ile gösterilebilmektedir ⁹³.

Sinir hücresinde iyon dengesi üç aşamada bozulmaktadır. Temel enerji eksikliğinin henüz başlamadığı *ilk dönemde*; ekstraselüler potasyum konsantrasyonu yavaş yavaş yükselmektedir. Aynı dönemde hidrojen iyonunun bir membran katyon kanalından kısmen hücre dışına çıkması, hücre içinde birikmeye başlayan laktik asitin noniyonik difüzyon ile kısmen hücreyi terk etmesi ve CO₂ birikimine bağlı olarak hücre dışı pH'sı düşmektedir. Bu dönemde ekstraselüler 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 ⁹².

İkinci dönemde iyon pompalarının bozulmasına bağlı olarak potasyum hızla hücreyi terk ederken sodyum, klor ve kalsiyum iyonları hücre içine alınmaktadır.

Symon ⁹³, potasyum atılımındaki artış ile, zaten azalmış hücre enerji düzeylerinin daha fazla iyon dengesini sağlayamayacak düzeylere indiğini ve bu noktanın aynı zamanda ekstraselüler kalsiyum düzeylerinin aniden düştüğü zamana uyduğunu göstermiştir. Bu, ileri enerji eksikliğinin ve membran depolarizasyonunun görüldüğü dönemdir. Depolarizasyonda pompalar devre dışı kalmaya başladıkları için

iyon akışı, iyonların konsantrasyon gradiyenti yönünde basit membran deliklerinden geçişleri ile sağlanmaktadır.

İyon dengesinin bozulmasının *üçüncü aşamasında* iyon pompalarının bozulmasının yanısıra hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun yükselmesine bağlı olarak, membran geçirgenliğinin artması ile ortaya çıkan iyon kaçakları oluşmaktadır. İskemi nedeniyle zaten azalmakta olan ATP bu iyon kaçaklarının önlenmesi için daha da fazla kullanılmakta ve bir kısır döngü içinde hızla tüketilmektedir ⁹².

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

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

i. Hücre Dışından Kalsiyum Girişi

Nöronda presinaptik uçtan kalsiyum girişi ile başlamaktadır. Hücrenin temel enerji kaynağı ATP'nin tükenmesi sonucunda aktif sodyum transport pompaları ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz, $3\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ antiporter ve $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ 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 amino asitlerin presinaptik uçtan sinaps aralığına salınması gerçekleşmektedir ⁹².

Değişik hayvan modellerinde iskeminin ilk dakikalarında monoaminerjik nörotransmitter (dopamin, 5 hidroksitriptamin), asetilkolin, uyarıcı amino asitler (glutamat, aspartat) ve inhibitör amino asitlerin (glisin, -aminobitürik asitler) salındıkları gösterilmiştir ⁹⁸. Nörotransmitter salınma miktarı, iskeminin

derinliğine ve tipine, ayrıca beyinin hangi bölgesini ilgilendirdiğine bağlıdır. Beyinin iskemiye özellikle duyarlı bölgelerinde, glutamat reseptörlerinin fazlalığının, duyarlılığın bir nedeni olabileceği düşünülmektedir ⁹⁹.

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 yanısıra, 2Na^+ - glutamat kotransporterleri yönünün değişmesi sonucu geri alım bozukluğu ile meydana gelen bir 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 ⁹².

Nöronda postsinaptik uçtan kalsiyum girişi üç şekilde gerçekleşmekle birlikte en önemli yol glutamat reseptörlerinin bulunduğu agonist ile aktive olan iyon kanallarıdır ¹⁰⁰. 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-izozopropiyonik 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 salınıncı posnaptik uça 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 posinaptik uca iletilmiş olur. NMDA tipi glutamat reseptörlü iyon

kanalları hem monovalan katyonların hem de kalsiyumun girişini sağlamaktadır. Postsinaptik uçtan kalsiyum girişinde ikinci yol, depolarizasyon ile postsinaptik uçta bulunan L ve T tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanallarıdır. Son yolda ise; $3\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ antiporter yönünün değişmesine bağlı olarak bozulan sodyum gradiyenti ile oluşan depolarizasyon, normal koşullarda kalsiyumun hücre dışına çıkarılmasında görevli olan $3\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ antiporterinin yönünü ters çevirerek hücre içinde kalsiyum artışına neden olmaktadır⁹⁴.

Ladunki¹⁰¹ $3\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ antiporter fonksiyonunun bozulmasında Na^+-H^+ antiporterini stimüle eden hücre içi asidozunun rol oynadığını ileri sürmektedir

ii. Hücre İçi Kalsiyum Depolarından Kalsiyum Salınımı

Diğer hücrelerde olduğu gibi, sinir hücresinde de belli uyarılara yanıt olarak hücre içi depolardan hücre membranı reseptörü aracılı kalsiyum salınımı gerçekleşmektedir⁹². Asetilkolin ve bazı peptitler hücre membranında bulunan spesifik reseptörler için uyarıcı agonist görevi yapmaktadırlar. Agonistin G proteini aracılığı ile fosfalipaz C (PLC) ile eşlenmiş olarak bulunan reseptöre bağlanması, fosfotidil inozitol bifosfat (PIP2)'in diasilgliserol (DAG) ve inozitol trifosfat (IP3)'a ayrılmasına neden olmaktadır. IP3, endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımını gerçekleştirmektedir⁹². Bazı hücrelerde ise glutamat, kuiskalat tipi reseptörlere etki ederek hücre içi depolardan kalsiyum salınımına 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 oluşturmaktadır⁹². Bazı görüşlere göre, iskemide kalsiyum hücre dışından hücre içine girmeden önce hücre depolarından salınmaya başlamaktadır. Bu nedenle hücre içi depolardan kalsiyum salınması ile hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı, iyon dengesizliğinde önemli rolü olan membran geçirgenliğinin artmasına zemin oluşturmaktadır⁹².

iii. Intraselüler Kalsiyum Düzeyini Kontrol Eden Mekanizmaların Bozulması

Normal koşullarda VSCC ve reseptör agonisti ile işleyen kalsiyum kanalları ile hücre içine giren veya intraselüler 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 asidozda kalsiyum, bu bağlanma bölgelerinden salınmaktadır. Hücre içi kalsiyumun bir diğer tamponlanma şekli de hücre içi organeller tarafından tutulma yoluyla. Kalsiyumun endoplazmik retikulum, mitokondri gibi organellerce tutulması enerji gerektiren bir olaydır. Normal koşullarda, mitokondrinin tutuluma katkısı çok azdır. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu hızla artınca mitokondri büyük miktarlarda Ca^{2+} 'u tutar. Bunun için mitokondri iç membranının elektriksel potansiyeli gerekmektedir. Bu potansiyel de sadece O_2 ve ATP varlığında oluşturulabilmektedir. Mitokondrinin patolojik miktarlarda Ca^{2+} tutması ileride sözü edilecek olan "mitokondriyal hasarı" oluşturan en önemli nedenler arasındadır ⁹².

İskemide hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonunun artışı erken dönemde fosfolipaz, lipaz, lizozomal enzimlerin de dahil olduğu proteazlar ve endonükleaz gibi degrade edici enzim gruplarının aktivasyonuna neden olmaktadır ¹⁰².

İskemide hücre içinde serbest kalsiyum artışı ile birlikte başlıca;

* *Lipoliz*

** *Proteoliz*

*** *DNA hasarı*

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

*** Lipoliz**

Fosfolipazlar sitozol, plazma ve mitokondri membranlarında bulunan enzim ailesidir. Fosfolipitlerden fonksiyonel grupları hidrolize ederler. Böylece, membran fosfolipitlerinin lipolizi ile ortamda serbest yağ asitleri (SYA) artmaktadır. Ca^{2+} ile aktive olan fosfolipaz A2 (PLA2) enziminin, fosfolipitlerin beta pozisyonundan kopardığı araşidonik asit birikimi, bu yağ asitinin reperfüzyon döneminde prostoglandin ve lökotrienlere metabolizmaları sırasında oluşturdukları serbest radikaller nedeni ile, iskemik hasarın ilerlemesindeki temel etiyolojik faktörlerdendir. Siesjo'a ⁹⁴ göre fosfolipazın Ca^{2+} ile aktivasyonu muhtemelen PLC nin agonist ile aktivasyonuna sekonder olarak gelişmektedir. Normal koşullarda mebran fosfolipitleri bir dizi enerji bağımlı reaksiyon ile yenilenmektedir. Bu nedenle intraselüler SYA konsantrasyonu düşük düzeylerde tutulmaktadır. İskemide yukarıda sözü edildiği gibi enerji depolarının tükenmesi nedeni ile bu yenilenme gerçekleşmemektedir. Kalsiyum tetikli membran fosfolipit kaybı büyük olasılıkla membran protein/lipit oranlarının bozulmasına bağlı geçirgenlik artışına neden olarak, iskemik hücreye Ca^{2+} girişini daha da hızlandırmaktadır. Bu oranın intraselüler 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 ¹⁰³. Değişik yazarlara göre biriken SYA reperfüzyonda serbest radikal kaynağı olmalarının yanısıra iskemi döneminde de serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır. Katsura ve ark. ¹⁰⁴ 'a göre , derin iskemide SYA konsantrasyonunu artıracak kadar ileri düzeydeki fosfolipit 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 ¹⁰⁵. 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.

b. Nötral proteazların aktivasyonu: Kalsiyuma bağımlı nötral proteazlar nöroflamanların ve hücre iskeletinin diğer protein içeren bileşenlerinin yıkılımından, dolayısıyla tübülün bütünlüğünden sorumludur. Marimato ve ark.¹⁰⁶ gerbiller üzerinde yaptıkları çalışmalarda, 3 saatlik uzun ve 30 dakikalık kısa iskemi sonunda nötral proteaz aşırı aktivasyonu nedeni ile poliribozomların disagregasyonunu, dolayısıyla polipeptit sentezinin durduğunu gözlemlemişlerdir. Poliribozomlar kısa süreli iskemiye maruz kalan hayvanlarda normale dönerken, üç saatlik iskemi dönüşümsüz poliribozom disagregasyonuna 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 süre gelen hücre hasarını hızlandırarak, dönüşümsüz hasar oluşumunda rol oynadığı savunulmaktadır. İşlekel ve ark.¹⁰⁷ sıçan beyinde kısa süreli derin iskemi reperfüzyon sonrasında katepsin L aktivitelerini, penumbral iskemi reperfüzyon ve kontrol gruplarına göre yükselmiş olarak

bildirmişlerdir. Seyfried ve ark.¹⁰⁸ 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 fragmantasyonunun, apoptotik hücre ölümüne benzer bir durum olabileceği, bunun da sadece beyin iskemisine özgü olan gecikmiş nöron ölümünden sorumlu olabileceği öne sürülmektedir¹⁰⁹.

****** Mitokondrial Elektron Transport Zinciri Hasarı**

İntraselüler Ca^{2+} artışını tamponlayan mekanizmalar arasında bulunan mitokondride kalsiyum tutuluşu 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 da bozulmaktadır. Böylece hücrede ATP eksikliği ile başlayan iskemik kaskatın gelişiminde, intraselüler Ca^{2+} artışının bir sonucu olarak ATP sentezi giderek azalmakta ve olaylar kısır bir döngü içine girmektedir⁹².

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 metabolitleri 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 ¹¹⁰.

10. 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 ¹¹⁰. Reperfüzyonda çok çeşitli hücre, organel ve enzimler serbest radikal kaynağını oluşturmaktadır. Bu kaynakları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

- Mitokondriyal elektron transport zinciri (METZ)
- Vasküler endotel
- Kan hücreleri
- Plazma ve organel membranları
- Nitrik oksit sentaz (NOS) aktivasyonu

A. Mitokondrial Elektron Transport Zincirinden Oksijen Kaçaklarının Artması

Normal koşullarda METZ'de oksijenin kısmi indirgenmesi ile oluşan serbest radikallerin %1-5 olduğu belirtilmiştir. Reperfüzyonda gelen ani ve yüksek konsantrasyondaki moleküler oksijenin iskemi sırasında birikmiş indirgen eşdeğerler (NADH, FADH₂) ile kısmi indirgenmesi sonucunda, serbest radikal iletimi ve oksijen kaçağındaki fizyolojik oran artmaktadır ¹¹¹.

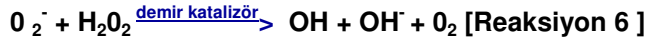
B. Vasküler Endotel Kaynaklı Ksantin Oksidaz (XO) Reaksiyonu

Beyinde XO'nun önemli bir kısmı mikrovasküler endotel hücresi içinde bulunmakla birlikte sinir hücresinde de (özellikle mitokondride) az miktarda bulunduğu savunulmaktadır ¹¹⁰. İskemi döneminde Ca²⁺ bağımlı proteazlarca veya sülfidril gruplarının oksidasyonu ile ksantin dehidrogenazın, ksantin oksidaza dönüşmesi

sonucunda dokuda ksantin oksidaz oranı %10 luk fizyolojik oranın üzerine çıkmaktadır. Yine iskemide ATP'nin hidrolizi ile ortaya çıkan purin 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 (O_2^-) oluşmaktadır [Reaksiyon 4].



Oluşan süperoksit radikali H_2O_2 ve $\cdot\text{OH}$ 'ni oluşturmaktadır [Reaksiyon 5, Reaksiyon 6]



C.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. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, beyinde iskemik hücrelerin, nötrofil ve trombositlerin vasküler endotele adezyonuna dolayısıyla yangısal 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 ¹⁰². Reoksijenasyon ile aktive olan ve lökosit akümüülasyonunda görev üstlenen diğer ajanlar ise, kompleman 5a (C5a) kompleman 3a (C3a), araşidonik asit metabolitleri, özellikle lökotrien B4 (LB4), nitrik oksit (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 ¹⁰².

Kemotaktik faktörlerin sentezi ve salınması ile birlikte, hem nötrofil hem de endotel hücresinde lokalize olan adezyon moleküllerinin upregülasyonu da başlamaktadır. Nötrofil-endotel etkileşimini sağlayan adezyon molekülleri, glikoprotein yapısındadırlar. Nötrofiller üzerinde bulunan bazı adezyon molekülleri; lökosit β_2 integrinler (CD11/CD18) ve lökosit adezyon molekülü (LAM-1 veya L-selektin) dir. Endotel hücresi üzerinde bulunanlar ise; interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü 1 (ELAM-1 veya E-selektin) ve granüle membran protein - 140 (GMP-14 veya p-selektin) dir ¹¹².

Nötrofiller, adezyon molekülleri aracılığı ile etkileşime girdikleri endotel hücreleri arasında ilerleyerek (diapedez olayı) ekstrasvasküler 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^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hipoklorik asit ($HOCl$) ve kloraminleri ($R'RNCI$) oluşturarak, ileri doku hasarına neden olurlar ¹¹².

D.Plazma Ve Organel Membranlarında Araşidonik Asit Kaskadı

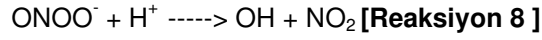
İskemi sırasında membran fosfolipitlerinin artmış lipolizi ile biriken araşidonik asitin reperfüzyonda hızlanmış metabolizması sonucu hidroperoksit prostaglandin G_2 (PGG_2), hidroperoksieikozotetraenoik asit ($HPETE$) ve prostaglandin H_2 (PGH_2) oluşum basamaklarında süperoksit anyon radikali oluşmaktadır ¹¹³.

Lipoliz, iskeminin derinliği ve süresiyle ilişkili olarak hem plazma hem de organallerin membranlarında gerçekleşmektedir. İşlekel ve ark. ¹¹⁴ sıçan beyinde derin iskemide lizozomal membranlarda lipoliz ve serbest radikal oluşumu nedeni ile, lizozomal enzimlerden asit fosfataz ve katepsinin sitoplazmaya sızdıklarını göstermişlerdir.

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi hücre içi antioksidanların aktivitelerindeki azalmanın, reperfüzyon ile organel membranlarından ayrılan araşidonik asitin metabolizma ürünleri olan serbest radikallerin hücre içindeki artışını gösterdiği öne sürülmektedir ¹¹⁵.

E.Nitrik Oksit Sentaz (NOS) Aracılı Serbest Radikal Oluşumu

Reperfüzyonda, “inducible” NOS aktivasyonu ile nitrik oksit (NO[•]) yapımı artmaktadır. NO[•]’in O₂⁻ ile reaksiyona girerek oluşturduğu peroksinitritin (ONOO⁻) parçalanması ile ortaya hidroksil radikali (OH[•]) çıkmaktadır [Reaksiyon 7, 8] ¹⁰².



iskemide sonuç

Spinal korddaki iskemi sırasında hücre düzeyinde giderek ortaya çıkan enerji eksikliği, asidoza, fosfolipit, polisakkarit, 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 kümülatif etkileri ile ortaya çıkan iskemi-reperfüzyon hasarına uğramaktadır.

11. Pineal Bez ve Melatonin

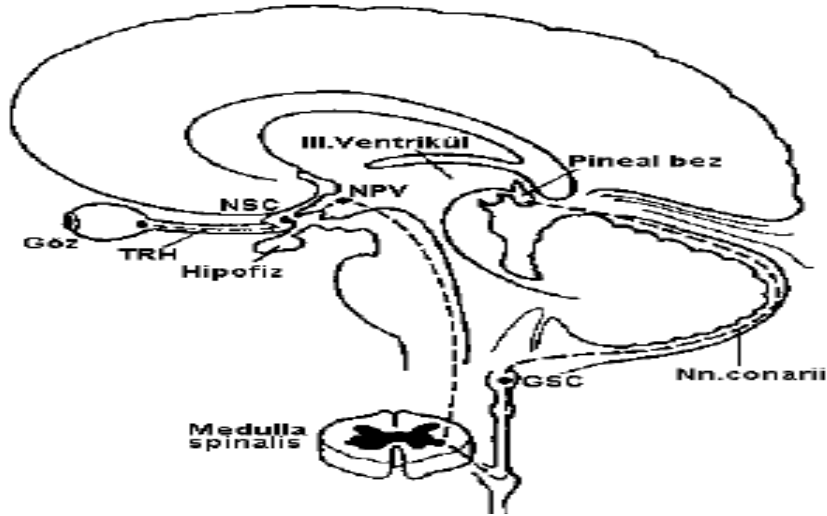
A. Tarihçe

Pineal glandın varlığı eski zamanlardan beri bilinmektedir. Pineal gland ile ilgili gelişmeler üç büyük döneme ayrılabilir. Birinci dönem; İ.Ö. 3. yüzyıl civarında Herophilus tarafından pineal glandın bulunmasıyla başlar. Gallen insan pineal glandını çam ağacının tepesine benzettiği Latince kökenli “conarium” kelimesini kullanmıştır. Bu kelime pineal sinirleri tanımlamak için “nervi conarii” olarak kullanılmıştır. Pineal kelimesi Latince’de çam ağacı kozalağı anlamına gelen “pinea” kelimesinden gelmiştir. Vesalius (1514-1564) pineal glandın topografik yapısını dikkatlice incelemiştir. Descartes (1596-1650) pineal glandın “ruhun oturduğu yer” olduğuna inanıyordu. İkinci dönem; Kolliker, memelilerin pineal bezinde sinir liflerinin varlığını gözlemlemiştir (1850). Cajal, fare pineal bezinde demet yapan sinir liflerini bulmuş ve sempatik orjinli olduğunu iddia etmiştir (1904). Üçüncü dönem son 50 yılı kapsar. En önemli gelişme Lerner ve arkadaşlarının pineal ekstrelerde bulunan, amfibienlere verildiğinde cilt renginin açılmasına neden olan potansiyel pineal hormonu izole etmeleridir. Lerner bu maddeyi Yunanca’da siyah anlamına gelen “melas” ve iş anlamına gelen “tosos” kelimelerini birleştirerek “melatonin” olarak isimlendirmiştir.

B. Epifiz Bezinin (Pineal Gland) Yapısı

Epifiz bezi küçük, tek bir beyin uzantısıdır. Pineal gland, posterior komissür ve dorsal habenular komissür arasında, üçüncü ventrikülün posterior

duvarına yapışıkır. Boyutu ve pozisyonu türler içinde dahi farklılık gösterir. Epifiz bezinin vücut ağırlığına oranı, diğer türler ile karşılaştırıldığında insanda küçük bir orana sahiptir. Arteriyel beslenme, posterior choroıdal arterler yoluyla olur, venöz dolaşım ise internal serebral venler yoluyla sağlanır. Çoğunlukla süperior servikal gangliından sempatik innervasyonu vardır. Epifiz bezi memelilerde sekretuar, balıklarda ve amfibienlerde fotoreseptif, sürüngenlerde ve kuşlarda ise hem fotoreseptif hem de sekretuar fonksiyonları üstlenmiş bir organdır. Temel hücresi pineolosittir. İnsanlar dahil bazı türlerde kalsifiye olması fonksiyonunun azaldığını göstermez ¹¹⁶. Bir çalışmada 332 çocuğun beyin magnetik rezonans (MR) görüntüleri değerlendirilmiş ve 332 çocuktan sadece 277'sinde (%83) pineal bezi tanımlanabilmiştir. Tanımlanabilen bezlerden, pineal bezin transaksıyel çapının ortalama büyüklüğünün yaşa bağılı olarak değişmediğı ve 277 pineal bezden 74'ünün (%26.7) kist içerdiği saptanmıştır. Pineal kistin yaş gruplarına göre dağılımının eşit olduğı ve pineal bezlerin 10'unda (%3.6) birden fazla kist olduğı gözlenmiştir ¹¹⁷.



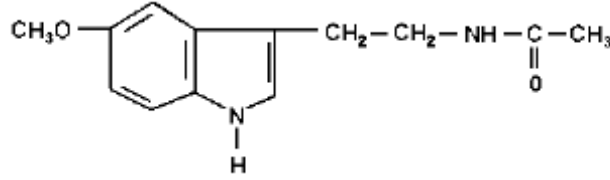
Şekil 2: Pineal Bezin innervasyonu. **TRH:** Tractus retinohypothalamicus, **NSC:** Nucleus suprachiasmaticus, **NPV:** Nucleus paraventricularis, **GSC:** Ganglion cervicale superior.

Pineolosit hem paranöron hem de APUD (amin prekürsörlerini alan ve dekarboksile eden) hücre serisine ait özellikler taşır. Pineolositler yoğun çekirdekliırler; granüler ve

agranüler veziküller içeren aktif sekretuar oluşumlara sahiptirler. Salgıladıkları esas hormon melatonin (5-metoksi- N-asetiltryptamin)'dir ¹¹⁶.

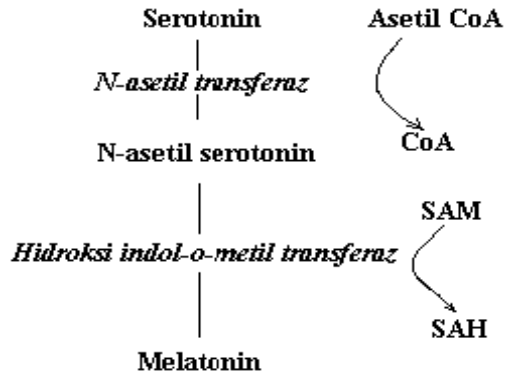
C.Melatonin Sentez ve Metabolizması

Melatonin, epifiz bezinde triptofandan sentezlenir ve plazmada proteinlere bağlıdır. Karaciğerde metabolize olur ve başlıca metaboliti 6-Hidroksimelatonininsülfat (6-HMS)'dir. İnsanlarda ekzojen melatoninin kısa bir metabolik yarı ömrü (20-60 dk.), büyük bir hepatik geçiş etkisi vardır ¹¹⁸.



Şekil 3. Melatoninin Kimyasal Yapısı.

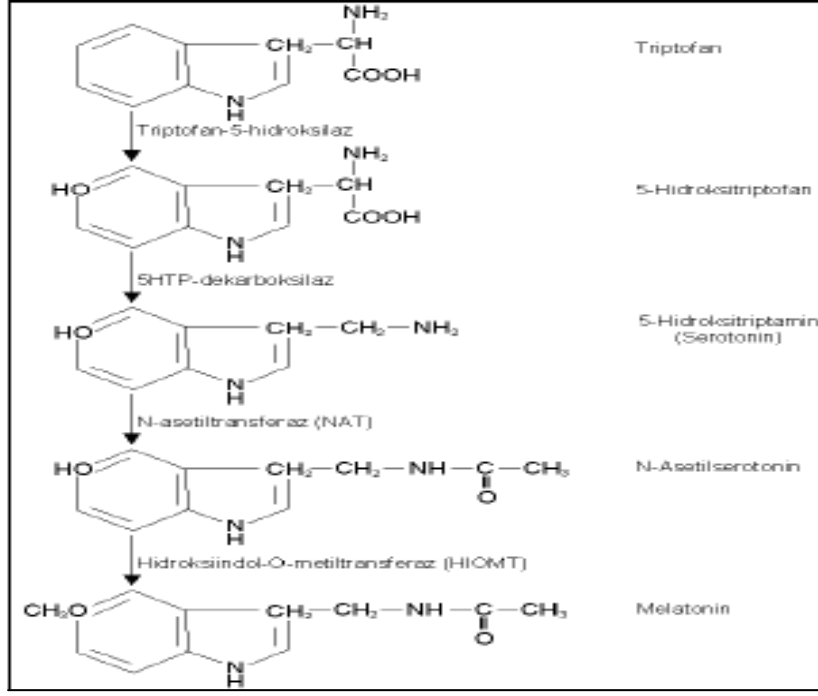
Bir çalışmada deneklere intra venöz melatonin verilerek serum ve tükürükteki melatonin düzeyleri ile idrardaki 6- HMS düzeyi ölçülmüş; puberte öncesi çağıdaki çocukların melatoninini yetişkinlere göre daha hızlı metabolize ettikleri saptanmıştır. Tüm çalışma genelinde serum ve tükürük melatonin değerleri arasındaki oranın denekler arasında 55 kata varan değişiklikler sergilediği gözlemlenmiştir ¹¹⁹. Bu farklı oranlar farmakokinetik çalışmalarda melatonin kullanırken dikkat edilmesi gerektiğini göstermektedir.



Şekil 4: Pineal gland da seratoninden melatonin oluşumunun metabolik yolu, (**CoA**= co-enzim A, **SAM**= S-adenosilmetiyonin, **SAH**= S-adenosilhomosistein)

D.Melatonin Sentezinin Nöral Kontrolü

Pineal denervasyon ve ganglionektomi melatoninin ritmik sentezini bozar. Norepinefrin, melatonin sentezini, alfa-1 stimülasyonun güçlendirdiği beta-1 reseptör aracılığıyla sağlar. İkinci mesajcı olarak cAMP aracılığıyla N-asetil transferaz aktivitesini arttırır. Epifiz, retina ve suprakiazmatik nükleus (SKN) ışığın görme dışı etkilerinin algılanmasında ve değerlendirilmesinde temel yapılardır. Retinal fotoreseptörler, çevreden gelen ışığı retinohipotalamik trakt ile SKN'a taşınan elektriksel iletilere çevirirler. Bu monosinaptik retinal yol tüm büyük memelilerde gösterilmiştir. SKN, medial-ventral hipotalamusta yerleşmiş, günün uzunluğunu yorumlayan küçük nöron demetlerinden oluşur.



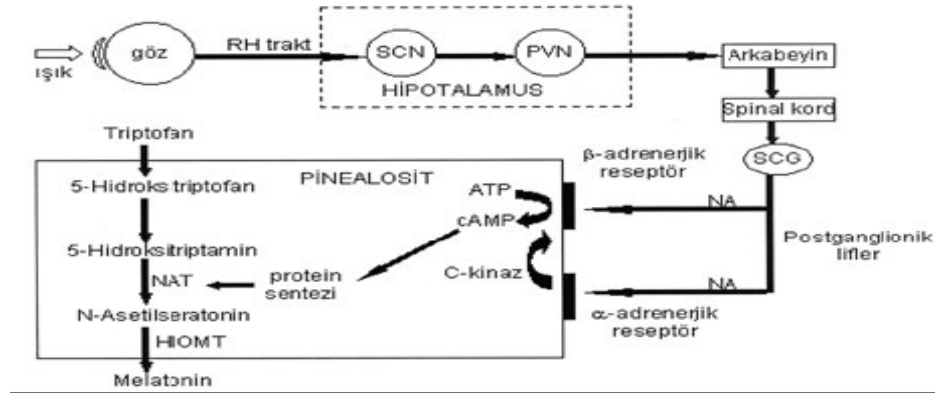
Şekil 5: Melatoninin Biyosentezi

E.Melatoninin Etki Yerleri

I-125 ile işaretlenmiş melatonin çalışmaları insan beyinde melatoninin başlıca birikim yerlerinin SKN ve pitüter bezin pars-tüberalisi olduğunu göstermiştir. I-125 ile işaretli melatonin kullanılarak yapılan bir in vitro otoradyografi çalışması melatonin reseptörlerinin dağılımının türe spesifik olduğunu ve yalnızca hipofizer pars tüberalisin, bütün fotoperiyodik türlerde l-melatonin bağlanması için tutarlı bir yerleşim yeri olduğunu göstermiştir ¹²⁰. Bu bulgu, pars tüberalisin melatoninin endokrin sistem üzerine etkilerinin iletilmesinde major bir rol oynadığını düşündürmektedir.

cAMP üretiminin inhibisyonu melatonin reseptörlerinin genel bir özelliği olabilir. İn vitro fizyolojik dozlarda melatonin, cAMP üretimini zamana ve doza bağlı bir şekilde inhibe eder ¹²¹. Melatonin reseptörleri; Mel-1a, Mel-1b ve Mel-1c olmak üzere üç tiptir. Mel-1a reseptör geni insan kromozomunda 4q35.1

lokalisasyonunda kodlanmıştır. Ekspresyonu SCN ve pars tuberaliste sınırlıdır. Sirkadien ve reproduktif etkilerinin bu reseptör aracılığı ile gerçekleştiği düşünülür. Mel-1b reseptör geni insan kromozomunda 11q21-22 bölgesinde kodlanmıştır. Beyin ve retinada eksprese olur ve her iki bölgede de dopaminerjik fonksiyonlar ile ilişkili olduğu düşünülür. Mel-1c geni ise insanda saptanmamıştır. İn vivo ve in vitro olarak 6- ve 2- bölgelerinden halojenlenmiş melatoninler iyi agonistlerdir. Melatoninin bu güne kadar saptanabilmiş spesifik bir antagonisti yoktur ¹²².



Şekil 6: Pineal gland'da melatonin sentezinin kontrolü. **SCN;** Suprakiazmatik nükleus, **RH;** retinohipotalamik, **PVN;** Paraventriküler nükleus, **SCG;** Superior servikal ganglion, **NA;** Norepinefrin, **NAT;** 5-Hidroksitriptamin-Nasetiltransferaz, **HIOMT;** Hidroksiindol-O-metiltransferaz.

F.İnsanda Melatonin Üretimi

Normal insanlarda melatonin gece salgılanır. Postmortem çalışmalarda melatonin düzeyinin gece ölen kişilerde daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Yetişkinlerde ortalama plazma melatonin seviyesi 60-70pg/ml ve başlıca metaboliti olan 6- HMS'nin maksimum plazma konsantrasyonu 80- 100pg/ml arasındadır. Plazma melatonin konsantrasyonu gece saat 02:00 ile 04:00 arasında pik

değerlerine ulaşır. Erişkinde sekresyon genelde saat 21:00-22:00 arası başlar, saat 07:00-09:00 arası sona erer. 6-HMS'nin ortaya çıkış ve pik düzeye ulaşma zamanı bu sürelerden 1-2 saat, sabah düşüşü ise 3-4 saat geç olur. İnsanda 6-HMS'nin %70-80'i gece idrarında (24:00-08:00) atılır¹²³.

Normal insan melatonin ritminin en karakteristik özelliği normal bireylerde günlük ve haftalık olarak tekrarlanabilir olmasıdır. Birey içerisinde değişmezliğe rağmen bireyler arasında ritmin amplitüdü açısından çok büyük bir değişkenlik vardır¹²³.

G.Yaşa Göre Melatonin Düzeyi

Doğumdan kısa süre sonra vücut sıvılarında çok az melatonin ya da 6-HMS ölçülebilmektedir. Melatonin ritmi hayatın 6-8. haftasında ortaya çıkmaktadır¹²⁴.

Melatoninin plazma konsantrasyonu ilerleyen yaşla hızlı artar ve ortalama 3-5 yaş civarında pike ulaşır. Artış gece daha yüksek olur ve puberteden önce belirgin bir düşüş olur. 35-40 yaşlarına kadar bu değerler rölatif olarak değişmeden kalır ve ileri yaşlarda amplitüdde nihai bir düşüş olur¹²⁵.

Erişkinde cinsiyet, boy ya da vücut ağırlığına göre sekresyonda tutarlı bir değişiklik saptanmamıştır. Bir çalışmada insan ömrü süresince serum melatonin düzeylerinde görülen potansiyel değişiklikler yaşları 3 gün ile 90 yaş arasında değişen 367 denekte incelenmiştir. Nokturnal serum melatonin konsantrasyonları ortalamasının ömrün ilk 6 ayında düşük olduğu, 1-3 yaşında zirve noktasına ulaştığı ve daha sonra hızlı bir düşüş olduğu, 15-20 yaşlarından sonra çok düşük seviyelerde seyrettiği gözlenmiştir. Çocuklarda ve ergenlerde (1-20 yaş) görülen nokturnal melatonin düşüşünün vücut ağırlığıyla ve vücut yüzey alanı ile korelasyon içinde olduğu fakat daha ileri yaşlarda bu korelasyonun devam etmediği saptanmıştır. Çocuk ve ergenlerin serum melatonin düzeyleri ile vücut ağırlıkları arasındaki bu negatif

korelasyon, bu periyotta serum melatonin seviyesinde gözlenen düşüşün vücut ebatlarının artmasından kaynaklandığını düşündürmüştür. İleri yaşlardaki düşüşün diğer faktörlere bağlı olduğu düşünülmüştür ¹²⁶.

H.Melatonin Sentezinde Aydınlık-Karanlık Kontrolü ve Fotoperiyodizm

Mevsimsel fonksiyonların günün uzunluğu ile ilişkilendirilmesine fotoperiyodizm denir. Fotoperiyodik memelilerde fotoperiyodik değişimin algılanması için sağlam bir epifiz bezine ihtiyaç olduğu artık iyi bilinmektedir. Melatonin tüm türlerde gece sentezlenir ve salgılanır. Sirkadiyen bir ritme uyar. Memelilerde bu ritmi SKN belirler. SKN lezyonlarında, melatoninin salgısının sirkadiyen ritmi kaybolur. Sirkadiyen ritim temelde aydınlık-karanlık siklusunu izler ¹²⁷.

Bir çok türde melatonin sekresyonu gecenin uzunluğu ile ilişkilidir. Gece ne kadar uzarsa melatonin salgılanması o kadar uzun sürer. Işık, karanlık fazın başında ve/veya sonunda sekresyonu baskılar ve ritmi düzenler. Melatoninin salgılanması mevsimlik farklılık da gösterir. Yazın daha geç salınırken, kışın salınım daha erken başlar. Uzun süreli melatonin sekresyonu kısa günlerde, kısa süreli melatonin sekresyonu uzun günlerde görülür. Gün uzunluğu ve sinyalin yorumu söz konusu olan canlı türünün fizyolojisine bağlıdır. Hayvanlarda kısa gün melatonin sinyalinden önce bir uzun günler sürecinin olması üreme siklusunu geliştirir. Kısa süreli ama yeterli miktarda ışık maruziyeti melatonin salgısını baskılar. İnsanlarda geceleri melatonin salgısını baskılayacak doz 2500 lux.'tür ve en etkilisi yeşil ışıktır ¹²⁸.

I.Melatoninin Puberteye Etkisi

Melatoninin sekresyon periyodu, bazı canlı türlerinde puberte zamanını belirler. Fakat bunun için yeterli derecede fiziksel gelişime ulaşılması

gerekir. Bazı canlı türlerinde melatonin plasentayı geçer ve anneye yapılan enjeksiyonlar post-natal reproduktif gelişimini sağlayabilir ¹²⁹.

Bazı hayvanlarda in vitro olarak melatonin GnRH ile uyarılmış LH salgılanmasını inhibe eder. Bu gözlemler doğrultusunda insanların pubertal gelişiminde melatoninin rolü olabileceği iddia edilebilir. Fakat yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ergenlik başlangıcı bozuklukları olan 39 denek ile 57 normal ve ergen çocuk ile yapılan bir çalışmada testosteron , östrodiol, bazal LH ve LHRH uyarısına zirve LH cevabı ile melatonin zirvesi veya zirve zamanı arasında belirgin bir korelasyon saptanmamıştır. Sonuçlar melatoninin çocuklukta hipotalamik-pitüter-gonadal aksı dizginlediği hipotezini desteklememiştir ¹³⁰. Bir çalışmada hipogonadotropik hipogonadizm (HH) ve gecikmiş puberteli (GP) erkek hastalarda gece melatonin sekresyonu izlenmiş ve normal ergenlik geçiren erkek hastalarla karşılaştırmıştır. Ortalama nokturnal melatonin düzeyleri ve zirve melatonin değerleri HH'lilerde ve GP'lilerde kontrollere kıyasla çok yüksek çıkmıştır. Melatonin zirve zamanı ve nokturnal melatonin artışının başlangıç zamanı HH ve GP'lilerde daha erken görülmüştür. Bu çalışmada melatonin seviyeleri ile LH ve prolaktin seviyeleri arasında herhangi bir korelasyona rastlanmamıştır. Bu veriler melatonin salgısının GnRH eksikliği olan erkek hastalarda arttığını göstermektedir. Melatonin ve LH seviyeleri arasında bir korelasyonun olmaması bu hastalarda direk bir melatonin-gonadal-steroid bağlantısını düşündürülebilir ¹³¹. Yaşları 1-18 arası 38 çocukta melatonin konsantrasyonunu kıyaslanarak yapılan bir çalışmada nokturnal melatonin konsantrasyonunun yaş ilerledikçe azaldığı saptanmış ve bu düşüşün büyük ölçüde ergenlik gelişimiyle ilgili olduğu ve bebeklikten itibaren başladığı vurgulanmıştır. Bir başka çalışmada 8 kız ve 8 erkek çocuğu Tanner ergenlik aşamasına göre sınıflandırılmış ve melatonin ritminin kronolojik yaştan ziyade ergenlik yaşı ile ilgili olduğu gösterilmiştir ¹³². İnsanda melatonin salgılanması ve adrenarş arasındaki bağlantıyı incelemek için 62 normal denekte ve pubertenin başlangıcı konusunda düzensizlik yaşayan 41 denekte adrenarş aşamalarına göre ortalama melatonin zirve

seviyesi incelenmiş ve adrenarşın insandaki pineal – ergenlik ilişkisinde herhangi bir rolünün olmadığı sonucuna varılmıştır. Yayınlanmış bir vakada; primer amenore, kısa boyluluk ve gecikmiş pubertesi olan 17 yaşındaki bir kız çocuğunda kraniofarinjioma tanısı konmuş ve hormon tedavisi verilmiştir. İlk iki siklusta günde 5mg ve sonraki 4 siklusta günlük 10mg etinilöstradiol verilmiş ve tedaviye gestagen eklenmiştir. Tedavinin başlamasından 1, 2 ve 6 ay sonra üriner 6-HMS düzeylerinde belirgin bir düşme saptanmış ve bu büyüklükteki bir düşüş ya tedaviyle ya da uyarılmış gelişim değişikliklerinin sonuçlarıyla doğrudan bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır ¹³³.

J.Melatoninin Menstruel Siklusa Etkisi

İnsan melatonin ile ilgili ilk raporlardan bazılarında ovulasyondan hemen önceki sabaha ait preovulatar serum melatonin konsantrasyonunun düşük olduğunu ve bunun preovulatar LH pikini kolaylaştırdığı öne sürülmüştür ¹²³. Ancak yeni çalışmalar normal siklusun seyri boyunca melatonin sekresyonun fazının ve amplitüdünün değişmediğini göstermektedir ¹³⁴.

İnsan üremesindeki sirkadiyen ve mevsimsel etkileri göz önünde bulundurulduğunda insan menstruel siklusunda melatoninin olası fonksiyonunu dışlamak güçtür. Sabah saat 08:00' de verilen farmakolojik miktardaki oral melatonin ile erken folliküler faz LH pulslarının amplifikasyonu sonucu daha direk kanıtlar elde edilebilir. Bir çalışmada erken folliküler fazdaki kadınlara 100 mg tek doz veya üçe bölünmüş dozlar halinde 2.5 mg (sabah saat 8' de 1 mg, 10' da 0.75 mg, 12' de 0.75 mg) melatonin verilmiş ve LH, FSH ve ovarian steroidlerdeki değişimi incelenmiştir. LH pulslarının frekansı değişmezken amplitüdü artmıştır. FSH ve ovarian steroidler üzerinde ise bir değişiklik olmamıştır ¹³⁵. Primer hipotalamik amenorede melatonin sekresyonunun amplitüdü artmıştır ancak bunun bir sebep-sonuç ilişkisi içinde olması gerekmez. Bir çalışmada adet gören ve göremeyen, depresyonu olmayan anoreksiya nervosa ve blumiya nervozalı kadınlar ile normal adet gören kadınların serum

melatonin profili karşılaştırılmıştır. Zirve melatonin seviyesi, melatonin zirve zamanı, nokturnal serum melatonin sekresyonunun başlangıç ve bitiş zamanı her üç grupta da aynı bulunmuştur. Dahası hastalar adet dönemleri olan ve olmayanlar diye ayrıldığında melatoninin sekresyonunda değişikliğe yol açan herhangi bir parametrede belirgin bir farklılığa rastlanmamıştır ¹³⁴. Bu verilerle, pineal melatonin salgılanmasının yeme bozukluğu olan kadınlarda (depresyon faktörü söz konusu değilken) değişmediği ve bu grupta amenorenin sıklıkla görülmesine melatoninin yol açmadığı vurgulanmıştır.

Fonksiyonel hipotalamik amenoreli kadınlar ile normal adet gören folliküler fazın başında olan kadınların 24 saatlik serum melatonin düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada hipotalamik amenoreli kadınlarda nokturnal melatonin salgısı normal kadınlara göre daha erken başlamış, daha geç bitmiş ve melatonin düzeyi 3 kat fazla çıkmıştır ¹³⁶.

Siklustaki kadınlarda günlük yüksek dozlarda melatoninin kronik uygulaması plazma LH'sını belirgin olarak baskılamış ama 4 aylık tedaviden sonra bile estradiolü inhibe edememiştir. Bu yükseklikte melatonin dozuyla suboptimal noretisteron (sentetik bir progestin "minipill") kombinasyonu kadınlarda ovulasyonu inhibe eder ve yan etkiler olmadığında klinik olarak faydalı olduğu kanıtlanabilir. Bir çalışmada melatonin ve progestin kombinasyonunun birbirleriyle sinerjik etki göstererek overian fonksiyonu engelledikleri ve yan etkilerinin azlığı nedeniyle bu kombinasyonunun doğum kontrol hapları yerine de geçebileceği gösterilmiştir ¹³⁷.

Bir başka çalışmada menopoz öncesi veya menopoz sonrası kadınlar ile uterin leomyomalı kadınların serum melatonin konsantrasyonları ölçülmüş, menopoz öncesi kadınlarda serum melatonin düzeyi 15 yaşından 45 yaşına doğru bir düşüş göstermiş ve 46 yaşından 50 yaşına doğru artmıştır. Menopoz sonrası kadınlarda menopoz sonrası 15 yıla kadar aşamalı bir düşüş saptanmıştır. 40-50 yaş arası menopoz öncesi kadınlarda nokturnal melatonin konsantrasyonu ve serum 17 β -östradiol konsantrasyonu arasında belirgin bir negatif korelasyon gözlenmiştir.

Menopoz sonrası kadınlarda ağızdan günlük olarak verilen östrojen, nokturnal serum melatonin konsantrasyonunu düşürmüştür. Uterin leomyomalı menopoz öncesi kadınlarda ooforektominin neden olduğu düşük östrojen durumu nokturnal melatonin konsantrasyonunun artmasına neden olmuştur. Bu veriler menopoz sırasında görülen nokturnal melatonin salgısındaki geçici artışın düşük östrojen ortamıyla alakalı olabileceğini göstermektedir ¹³⁸.

Menstruel siklus esnasındaki sıcaklıktaki ovulatuar artışa melatonin amplitudundaki rapor edilmiş düşüş eşlik etmektedir. Fakat melatonindeki düşüş sabit bir gözlem değildir ¹³⁹.

K.Melatoninin Uykuyla İlişkisi

Gece ve uykudaki melatonin üretiminin belirgin korelasyonları vardır. Uykudan mahrum kalmak melatoninin ritmini değiştirmez ve loş ışık sekresyonu etkilemez. Çoğu çalışmada uykunun evrelerine göre detaylı melatonin profilleri çıkarılmaya çalışılmış, ancak bir ilişkiye rastlanılamamıştır. Fazda ilerlemelere ve gecikmelere yol açacak şekilde zamanı ayarlanmış melatonin tedavisi hem gerçek hayatta hem de reanimasyon koşullarındaki “jet lag” etkisinin hafifletilmesinde kullanılmaktadır. Saha çalışmaları göstermektedir ki uygun şekilde ayarlanmış tedaviyle hem doğu hem de batı yönündeki “jet lag” etkisi ortalama % 50 oranında azaltılabilir ¹²³.

Zaman birimlerinin sayısı arttıkça ilerlemenin daha da büyük olduğu görülmüştür ¹⁴⁰. Melatoninin zaman noktaları arasındaki seyahatlerin neden olduğu stresi azalttığını göstermek için yapılan bir çalışmada parlak ışıktan faydalanarak altı zaman noktası boyunca doğuya doğru katedilen mesafe taklit edilmiş ve deneklere beş gün boyunca 10 mg melatonin verilmiştir. Her gün yapılan ankette plasebo grubuna göre melatonin verilen grupta stresin (yorgunluk, asabiyet, şaşkınlık, depresyon ve gerginlik) daha az olduğu saptanmıştır ¹⁴¹.

Vardiyalı işçilerde plasebo ile karşılaştırıldığında gece çalışılan hafta süresince arzulan yatma vaktinde verilen melatoninin gece vardiyası işçilerinde , artan uyku ve gün içi uyanıklılığa neden olduğu gösterilmiştir ¹⁴².

Geciken uyku evresi uykusuzluğu olan hastalar toplumsal olarak kabul edilen uyku vakti olan gece vakti uyuyamazlar. Bu durum faz ilerlemelerine neden olmak için sabah erken verilen parlak ışıkla başarılı bir şekilde tedavi edilebilir. Akşam verilen melatonin (saat 22:00'de 5mg) uyku zamanını önemli ölçüde öne alır ¹⁴³.

Sonuçta bu ritim bozukluğu için hem melatonin hem de parlak ışık tedavi seçeneği olabilir. Arzulan yatma vaktinde melatonin (5mg) uyku sorunu çeken kör deneklerin üçte biri üzerinde fayda sağlamıştır. Başlıca etki uyku başlangıç zamanının sabitlenmesidir ¹⁴⁴.

L.Melatoninle İlgili Diğer İlişkiler

Gözlemler belirgin sirkadiyen ritmi olan herhangi bir değişkenin melatoninle korelasyonu olacağını düşündürmektedir. Bunların arasında kortizol, prolaktin, TSH, immün sistem göstergeleri düşünülebilir.

Farmakolojik bir melatonin dozunun değişik hormon seviyelerindeki etkisini görmek için sağlıklı erkeklerde üç deney halinde bir çalışma yapılmıştır. Birinci deneyde 80 mg. kristal melatoninin oral verildiği gönüllü deneklerde melatonin seviyeleri 1500 katına yükselmesine rağmen tedavinin ardından sadece PRL önemli ölçüde ve tutarlı bir şekilde artış göstermiş, LH, FSH ve testostosterone ait serum seviyelerinde artış saptanmamıştır ¹⁴⁵. İkinci deneyde iki denekte melatonin verilmeden 6 saat önce ve verildikten (80 mg, p.o.) 6 saat sonra pulsatil LH salgılanması gözlemlenmiş ve LH'a ait amplitüd ve frekansta melatonin kaynaklanan hiçbir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir ¹⁴⁵. Üçüncü deneyde gönüllü deneklere, oral melatonin verilmesinden ve plasebo verilmesinden sonra serum PRL seviyeleri plaseboya kıyasla melatonin verildikten sonra çok daha yüksek çıkmıştır.

GH'de hafif bir yükselme eğilimi gözlemlenmesine rağmen TSH ve kortizol konsantrasyonlarında ise bir değişiklik saptanmamıştır. Akut farmakolojik bir melatonin dozu serum PRL seviyelerini arttırmakta, GH'yi az miktarda arttırmakta; TSH ve kortizolü etkilememektedir ¹⁴⁵.

Karanlıkta uyurken veya loş ışıktaki uykudan mahrum bırakıldığında melatonin seviyelerinin farksız olduğu bir infüzyon rejimi kullanılarak yapılan çalışmada, melatoninin nokturnal TSH ve kortizol salgısı üzerine etkisi araştırılmış ve normal insanlarda TSH veya kortizolün düzenlenmesinde melatonin infüzyonunun rolünün olmadığı gösterilmiştir ¹⁴⁶.

M.Melatoninin Psikiyatrik Açıdan Önemi

Bir çok farmakolojik anti-depresan tedavi ajanı, serotonin ve katekolamin reseptörleri üzerine doğrudan etkiyle veya temel pineal nörotransmitter olan norepinefrin ve prekürsörleri triptofan ve serotoninini arttırarak melatonin salgısını uyarır ¹⁴⁷.

Melatonin üretimindeki bir artışla tedaviden görülen fayda arasında bir bağlantı olabilir. Sirkadiyen anormalliklerin depresyon ve maniye neden olduğu öne sürülmektedir. Depresyonda kortizol artışıyla ters ilişkili olarak melatonin ritminin amplitüdünde bir düşüş yaşandığına dair kanıtlar vardır ve tüm çalışmalarda ortak olmamakla birlikte manide bir artış gözlemlenmiştir. Kış mevsiminde mevsime bağlı depresyon (SAD) hastalarında melatonin ritminde normallere göre istisnai bir gecikme vardır ¹⁴⁸. Bu gözlem kayda değer olmasına rağmen tam olarak kanıtlanamamıştır. SAD hastaları için önerilen asıl tedavi sabah ve akşamları üç saat boyunca parlak tam spektrum ışık (2500lux) kullanmak suretiyle yapay bir uzun yaz günü yaratmaktır ¹⁴⁹. Melatonin hipotezine göre böyle bir ışık tedavisi melatonin salgısının süresini kısaltacaktır ve böylelikle bir yaz günü uzaması sinyalini harekete geçirecektir.

N.Melatonin ve Yaşlanma

Yaşam süresinin melatoninle uzatılabilmesinin, bağışıklık sisteminin olumlu yönde düzenlenmesinden veya beyin opioid sistem aracılığıyla melatoninin stres giderici özelliklerinden ileri geldiği gibi görüşler vardır. Melatoninin yaşlanma belirtilerini azaltacağını savunan başka bir görüşe göre; yaş ilerledikçe, melatoninin serum düzeyindeki azalma gibi, sirkadiyen spontan uyarı sistemi de azalan bir amplitüde sahiptir. Ekzojen melatoninin sirkadiyen spontan uyarı sisteminin amplitüdünü yine bu sisteme geri besleme sağlamak suretiyle arttıracığı savunulmaktadır¹⁵⁰.

O.Melatonin ve Kanser

Meme kanserinin 1978'de melatonin eksikliğinde gelişen bir hastalık olduğunun ileri sürülmesinden sonra¹⁵¹ kanser hastalarındaki melatonin sekresyonunu belirlemek için bir çok klinik çalışma yapılmıştır. Bazı insan hücre türlerinde pineal bez ve melatoninin anti-tümör etkileri bildirilmiştir¹⁵².

P.Pineal Hiperplazi ve Hipoplazi

Meme kanseri ya da malign melanom sebebiyle ölen hastaların pineal bezlerinin diğer kanserlerden ölen hastalarinkine göre daha ağır olduğu saptanmıştır. İnsülin rezistansı ile birlikte seyreden ve çok nadir görülen Familial İnsülin Rezistansı Sendromu'nda çok büyük pineal bezler tarif edilmiştir¹⁵³.

Ani infant ölüm sendromuna (SINDS) küçük pineal bezler ve düşük serum melatonin düzeyi eşlik eder. SIDS genellikle geceleri olur ve buna uyku anormallikleri eşlik edebilir¹⁵⁴.

Q.Pineal Tümörler

Pineal tümörler heterojendir; germ hücrelerinden (teratomlar, germinomlar, koryokarsinomlar, endodermal sinüs tümörleri, miks germ hücreli tümörler), pineal parankimal hücrelerden (pineoblastom ve pineositom) ve destekleyici stromadan (gliomalar) köken almaktadır ¹⁵⁵. İntrakranial yer kaplayan lezyonların % 1'inden azını oluştururlar. Germinomlar radyoterapiye iyi yanıt verirken diğer türlerde tedavide sıklıkla cerrahidir.

Ayırıcı tanıda BOS'ta tümör markerleri (AFP ve β hCG) ile birlikte BOS sitolojisi ve görüntüleme kullanılır. En sık semptomlar hidrosefaliye sekonderdir (baş ağrısı, kusma ve bulantı) ve bu görme bozuklukları, diyabetes insipidus ve üreme anomalilerinden oluşan bir triadla birlikte ¹⁵⁶.

Pineal tümörlere hem puberte prekoks hem de gecikmiş puberte eşlik edebilir. Puberte prekoks daha sık olarak teratom eşlik eder. Erken pubertal gelişim çoğu vakada doğrudan ektopik b—hCG (β hCG, b-LH'ya ideniktir.) üretimine atfedilebilir. Erkeklerde tek başına LH testosteron üretimini uyarabilir; oysa kızlarda overial folikül gelişimi ve östrojen üretimi için hem LH hem de FSH gereklidir.

12. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit (NO) birçok organda özel düzenleyici fonksiyonlara sahip olan, oldukça reaktif bir serbest radikaldir. 1985'den beri NO birçok araştırmanın konusu olmuştur ve sonuçta kardiovasküler, pulmoner, gastrointestinal, immün ve merkezi sinir sistemlerinde çok önemli işlevlerinin olduğu gösterilmiştir ¹⁵⁷. Buna karşın NO sentezinin engellenmesi, aterosklerozis, pulmoner hipertansiyon, pilorik stenoz ve renal yetmezlik ile birlikte olan hipertansiyon gibi birçok patofizyolojik durumlar için temel oluşturmaktadır.

Tek bir nitrojen atomu ile tek bir oksijen atomunun kombinasyonu memeli hücrelerin en küçük ürünüdür. Bu da bir elektron ile birleşerek bir molekül oluşturur ve elektronu vermek, paylaşmak için başka bir molekül arar. Hedef moleküller oksijen, diğer radikaller, tiol grupları ve metallerdir. NO'nun yarılanma süresi birkaç saniye kadar kısadır. NO'nun oksijen ile reaksiyonu NO'nun nitrit ve nitrata oksidasyonu ile sonuçlanırken, NO'nun diğer radikaller, tioller ve metallerle reaksiyonu molekülü inaktive eder ¹⁵⁸.

NO'nun süperoksit ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkan peroksinitrat, nitrojen dioksit veya hidroksil gibi radikallerin hedef hücrelere hasar verme özellikleri vardır. Buna zıt olarak NO detoksifikasyon mekanizmalarını da başlatabilir. NO prostetik demir grupları veya proteinlerdeki tiol grupları ile reaksiyona girdiğinde hedef enzimleri aktive veya inaktive eder. NO temel hedef enzimlerinden guanilat siklazı aktive eder, bu enzim de hücresel siklik guanozin mono fosfat (cGMP) konsantrasyonunu artırır ¹⁵⁸. Bu enzimin NO tarafından aktivasyonu vasküler sistemde vazorelaksasyon ve santral sinir sisteminde (SSS) nörotransmisyon ile sonuçlanır.

Yüksek NO sentezlenmesi durumunda birçok enzim inhibe olur. NO'nun etkileri çoğunlukla lokal olmasına rağmen hedef hücrenin komşu hücrelerine de hızla ulaşabilir. NO endotelde L-arginin amino asitinin oksitlenmesi ile oluşmaktadır ¹⁵⁸. Bu olay nitrik oksit sentetaz (NOS) adlı bir enzim tarafından gerçekleştirilmektedir ve bu enzimin iki izoformu vardır. Bunlardan biri yapısal NO-sentetazdır (cNOS), daha çok endotelde bulunur, etkisi kalsiyuma bağımlıdır ve yavaştır. Diğer i indüklenabilen NO sentetazdır (iNOS), lökositler, makrofajlar, sitokinler ve lipopolisakkaritler (endotoksinler)'in etkisi ile aktive olur, etkisi 2 saatte başlar, 24 saat devam eder ve kalsiyuma bağımlı değildir. Her iki izoform da klonlanmış ve monoklonal antikorları elde edilmiştir. Bu enzimlerin etkisi alfa-metil-L-arginin ve N-nitro-L-arginin-metilester gibi arginin analogları ile kuvvetle inhibe olur ¹⁵⁹.

Çözünebilir guanilat siklaz inhibitörü olan metilen mavisi, oksihemoglobin, cGMP oluşumunu durdurarak NO ve NO salıverilmesine neden olan tüm ekzojen ve endojen maddelerin etkilerini bloke ederler.

NO birçok nonvasküler dokuda sentez edilir ¹⁵⁷. Trombositlerde L-arginin'den NO oluşumu, trombosit agregasyonu üzerine negatif feedback etkisi gösterir. Nötrofil ve makrofajlarda oluşan NO ise tümör hücrelerine ve intraselüler parazitlere karşı immün reaksiyonlarda, sitotoksitede mediatör bir rol üstlenir. NO aynı zamanda, adrenal bezde, renal epitelyal hücrelerde ve mast hücrelerinde oluşur ancak fonksiyonu açık değildir. NO sentetaz enzimleri, değişik hücrelerde farklılıklar gösterir. Bunun sonucu olarak L-arginin analoglarıyla NO sentetaz inhibisyonu da değişik dokularda farklı duyarlılık gösterir. Vasküler endotelyumdaki NO sentetaz enzimi uyarıcı ajanlar olmaksızın hazır ve aktiftir ¹⁵⁸. Bunun tersine olarak makrofajlarda NO'nin sentezi ancak makrofajların sitokinlerle uyarılmasıyla olur ¹⁵⁷.

NO pekçok mitokondriyal elektron transport enzimlerinin aktivitesini inhibe eder ¹⁵⁸. Buna ek olarak hepatositlerden olan NO üretimi gliseraldehit- 3 fosfat dehidrogenaz enzim aktivitesini azaltır. NO'nin potansiyel hepatosit koruyucu veya hepatotoksik etkileri yeni açıklanmıştır. Endotoksin ile invivo olarak geliştirilen hepatosit hasarında NO sentezinin inhibisyonunun hepatotoksiteyi arttırdığı gösterilmiştir ¹⁵⁷. Bu oluşumda serbest oksijen radikalleri rol oynar. Oysa Kuo ve ark. ise sitokin aracılı NO sentezinin inhibisyonunun hepatositlerde depolanmış olan glutasyonu azaltması sonucu esas serbest oksijen radikal detoksifikasyon sisteminin etkisiz hale geldiğini göstermişlerdir ¹⁶⁰. L-argininin ratlarda karaciğer iskemi-reperfüzyon modelinde, lipid peroksidasyonunu önlediği, sitoprotektif etki ile karaciğer doku hasarını azalttığı gösterilmiştir ¹⁶¹.

Yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki hepatosit NO üretimi, ilaç toksisitesinde ve karaciğer allogreft reddinde, iskemi-reperfüzyon hasarında olduğu üzere serbest radikallere karşı karaciğeri koruyucu olabilir.

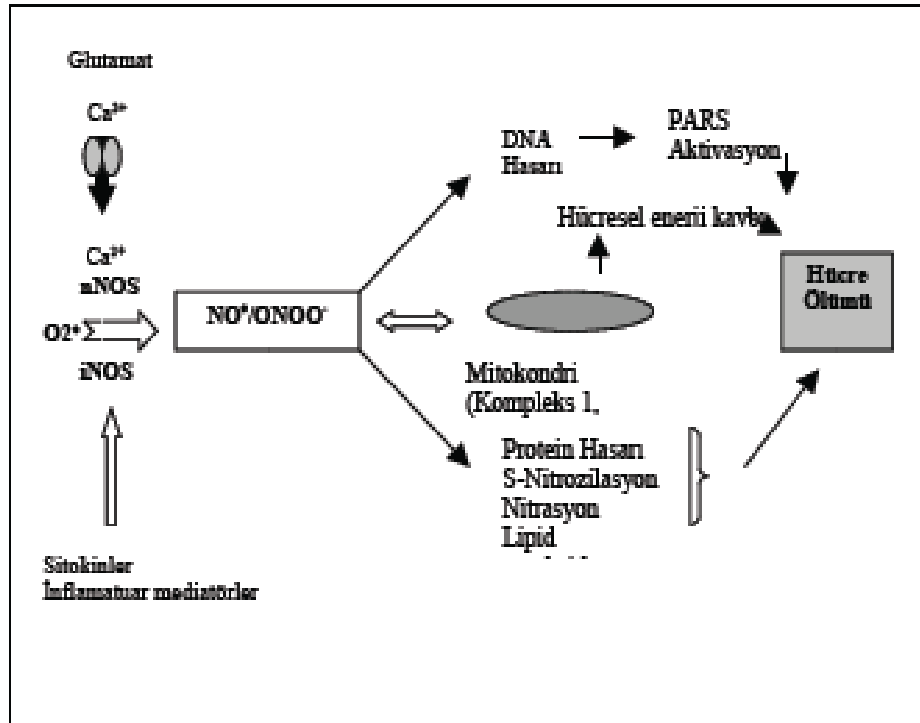
Pankreasta NO için ilave fonksiyonlar da keşfedilmiştir. Köpeklerde NO inhibisyonu nöral yollar aracılığı ile oddi sfinkterinin bazal myojenik fonksiyonunu düzenler ¹⁶².

Yakın zamanda bu buluşlar insanlarda yapılan ERCP ile ikiye katlanmıştır. Bununla beraber yapılan çalışmalarda Tip-I diabetes mellitus'da pankreatik adacıklarda NO'in toksik etkilerini göstermiştir ¹⁵⁷.

Düşük doz streptozosin ve NO inhibitörleriyle yapılan fare deneylerinde hiperglisemi büyük ölçüde azaltılmıştır ¹⁶³. Bundan başka iNOS inhibisyonu diabetes mellitus'da hiperglisemik atak sıklığını azaltmıştır. Pankreas adacık hücrelerinde NO'in konsantrasyonuna bağlı olarak hücre lizisinin görüldüğü tespit edilmiştir ¹⁶⁴.

Deneyssel ve klinik araştırmalara göre insülin çalışmaları ile ilgili interlökin-1 supresyonu NO'e bağımlı insülinin üretimi ile ilgilidir ¹⁶³. Bugünkü bilgilere göre düşük seviyedeki NO, adacık hücrelerinde insülin üretimini regüle ederken, yüksek seviyeleri toksik etki gösterir.

Sonuç olarak NO, kardiovasküler, pulmoner, gastrointestinal, hepatobiliyer, immün ve santral sinir sisteminde birçok biyolojik fonksiyonlarda rol oynayan önemli bir mediatördür. NO formasyonunun selektif olarak inhibe edilmesi istenen durumlar ve NO salınımının artmasının faydalı olduğu durumlar vardır. Vücuttaki NO eksojen NO kaynakları verilerek arttırılabilir. Endojen NO salgısını, arttırmadaki diğer bir yaklaşım daha fazla substrat veya kofaktör sağlamaktır. Tedavi yaklaşımında ki temel hedef, kronik lokal patolojik durumlarda iNOS salgısını azaltmak, sistemik düzeyde cNOS izoformunun fonksiyonunun devamını sağlamak olmalıdır. Bu yüzden lokalizasyona spesifik inhibisyon yapılmalıdır. NO donörleri ile birlikte iNOS'a spesifik inhibitör kullanımı bir tedavi yaklaşımı olabilir.



Şekil 7 : NO ve/veya peroksinitrit ilişkili nörotoksitite

III. MATERYAL VE YÖNTEM

1. Deney Grubu

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Toplam 30 adet, ortalama ağırlığı 2,0 ile 2,5 kg olan erkek sağlıklı yeni Zellenda türü beyaz tavşan, n=10 olacak şekilde 3 grup oluşturulmak üzere Gazi Üniversitesi deney hayvanları etik kurulundan alınan onayla denek olarak seçildi. Denekler kontrol ((K) n=10), iskemi reperfüzyon ((İ-R) n=10) ve tedavi grubu((T) n=10) olarak üç gruba ayrıldı.Tedavi grubuna cerrahi operasyondan 10 dk. önce kulak veninden 10 mg / kg melatonin verildi. Kontrol grubu deneklere normal cerrahi prosedür uygulanırken klipaj uygulanmadı. İskemi reperfüzyon ve tedavi gruplarına cerrahi prosedür ve ek olarak klipaj uygulandı. Klipaj için 50 gr kapanma basıncı olan klipler kullanıldı(YAŞARGİL FE 693). Denekler cerrahiyi 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 uygulanılarak mesanelerinin boşaltılması sağlandı. Mesanesi crede manevrası ile boşaltılamayan deneklere silikon lumboperitoneal şant kateterinden hazırlanan sondalarla trans üretral boşaltma uygulandı. Deneklerin kan ve doku örnekleri cerrahi prosedürü takiben 48 saatlik takip sonrasında alındı.

2. Anestezi ve Monitorizasyon

Tüm deneklerde anestezi ketamin HCL 50 mg/ kg ve xylazin 5mg/ kg ile intramusküler olarak uygulandı. Gerektiğinde doz ketamin 25 (mg/ kg) ve xylazin (5

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

3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamıza ait sonuç verileri Windows için spss istatistik programında Mann Whitney U testinde değerlendirildi. Tedavi ve kontrol grupları sonuçları arasında anlamlı farkın olmadığına yönelik kurulan **H₀** hipotezi $p > 0.05$ ' de kabul edildi.

4. Cerrahi Teknik

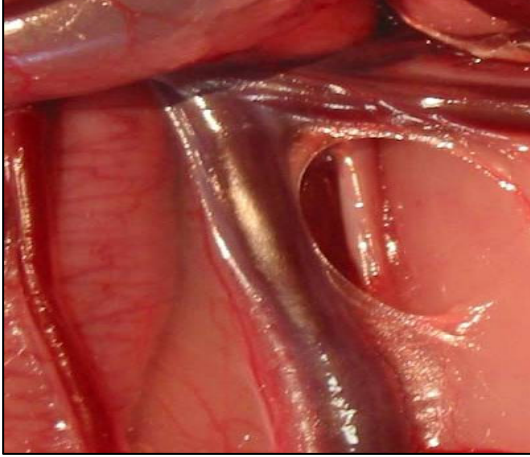
Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonda steril sahada operasyona alındı. Batın tıraş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfeksiyon yapıp, steril örtüler örtülüp, orta hat laparotomi yapıldı (Resim 1-2). Barsaklar sağa deviye edilip retroperitoneal bölgeye ulaşıldı. Cerrahi mikroskop altında mikrocerrahi yöntemle retroperitoneal bölgeye ulaşılıp abdominal aorta sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm inferiore ve bifurkasyondan yaklaşık 1 cm superiore doğru çevre dokulardan diseke edilerek çepeçevre dönüldü (Resim 3). İntravenöz uygulanan 150 U.kg^{-1} heparin ile antikoagülasyon sağlanıp kontrol grubu dışındaki gruplardaki deneklerde distale ve proksimale aortik klipaj uygulandı (Resim 4-5-6-7). Klipajı takiben 30 dakika sonra klibler alınarak laparotomi insizyonu kanama kontrolünü takiben batın kasları ve cilt olmak üzere iki kat olarak 3/0 ipek stür materyali ile kapatıldı.



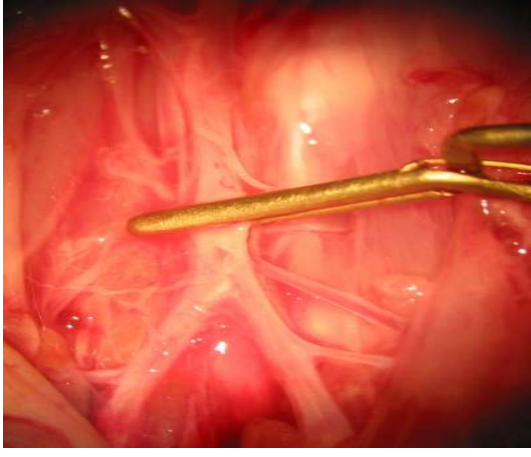
Resim 1: Deneklerin anesteziye edildikten sonra cerrahi operasyona hazırlanışı



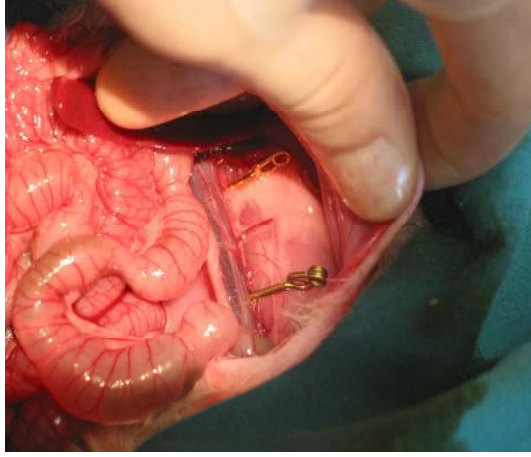
Resim 2: Batının tıraş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfekte edilişi.



Resim 3: Abdominal aortanın sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm. inferiore doğru diseke edilişi.



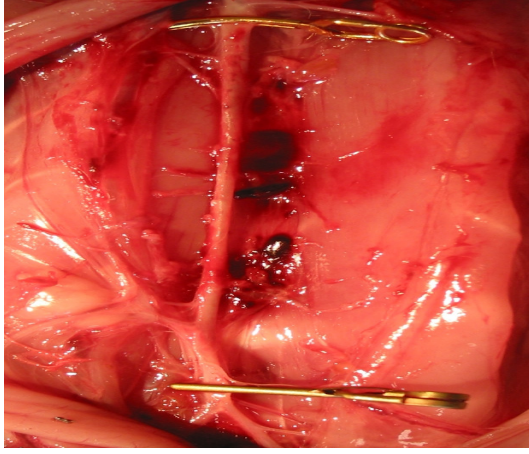
Resim 4: Sol renal arter çıkışı altından abdominal aortaya ve de bifurkasyondan hemen önceye aortik klipaj uygulanması



Resim 5: Cerrahi mikroskop altında sol renal arter çıkışı altından abdominal aortaya klipaj uygulanması



Resim 6: Cerrahi mikroskop altında bifurkasyondan hemen önce aortik klipaj uygulanışı



Resim 7: Postmortem denekte aortanın diseksiyonu sonrası sol renal arter çıkışı altından ve de bifurkasyon öncesinden klibajın görünüşü

5. Nörolojik Parametreler

Reperfüzyonu izleyen 6, 24, ve 48, saatlerde arka bacakların motor fonksiyonları Tarlov kriterlerine göre ¹⁶⁵ uygulanan tedaviyi bilmeyen bir araştırmacı tarafından değerlendirildi.

TARLOV SKALASI:

0 alt ekstremitde hareket yok (tam parapleji)

1 hafif hareket

2 yardımla oturabiliyor

3 tek başına oturabiliyor

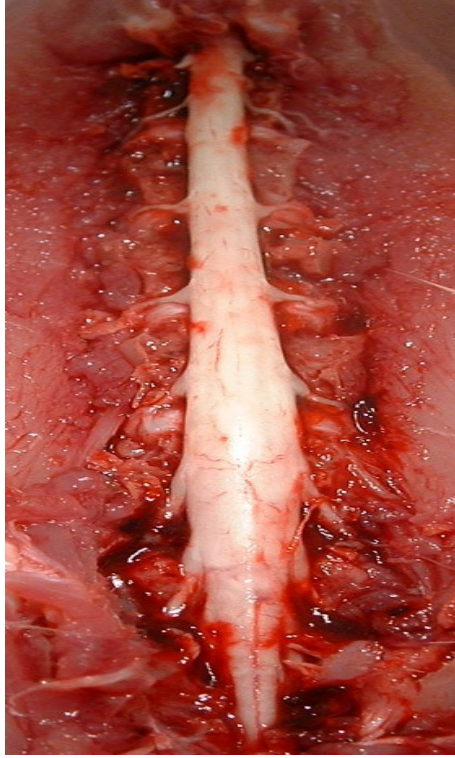
4 yürüyebiliyor ancak normal değil

5 normal yürüyebiliyor

6. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması

Reperfüzyon sonrası 48. saatte yüksek doz tiyopental (120 mg/kg intraperitoneal) anestezisi altında denek karın bölgesinden açıldıktan sonra barsaklar

sağa lateralize edilip vena kava inferiora ulaşıldı ve 10 cc. kan alındı. Alınan kan örneği 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumu alınarak ependorflara ayrıldı ve yapılacak biyokimyasal inceleme için -25 derecede muhafaza edildi. Daha sonra prone pozisyonuna getirilerek total laminektomi ile birlikte tüm posteriyor vertebral elemanlar çıkartıldıktan sonra rootlar kesilerek spinal kord aynı sınırlardan (L2-S1) kesilerek çıkartıldı (Resim 8-9). Çıkartılan kord hızla jilet kullanılarak L5 düzeyinden transvers olarak kesilerek iki parçaya bölündü. L2-L5 kord segmenti biyokimyasal inceleme için alimünyum folyoya sarılıp numara verildiken sonra sıvı azot içine atıldı. L5-S1 segmenti ise sakral kısmı 5/0 ipek iplik ile bağlanmak suretiyle işaretlendikten sonra histopatolojik inceleme için %10'luk fosfat ile tamponlanmış formaldehit solüsyonuna konuldu.



Resim 8: Prone pozisyonuna getirilerek total laminektomi ile birlikte tüm posteriyor vertebral elemanlar çıkartıldıktan sonra ki görünüm



Resim 9: Jilet yardımı ile spinal kordun transvers olarak L-5 seviyesinden iki parçaya ayrılmış görünümü

7. Histopatolojik Değerlendirme

L5-S1 kord segmenti Sakral kısımdan ipek iplik ile bağlanarak işaretlendi ve % 10 'luk nötral formalin solüsyonunda 72 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik işlemlerden geçirilen dokular, kesitlerin L5 segmentinden alınmasına olanak sağlayacak şekilde parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alındı ve hematoksilen-eozin ile boyandı. Boyalı kesitler X4, X10, X40'lık büyütmelemlerde incelendi.

8. Biyokimyasal Değerlendirme ve Ölçüm Yöntemleri

A.Doku Malondialdehit (MDA) Analizi ¹⁶⁶

Doku MDA değerleri Casini ve arkadaşlarının uygulamış olduğu yönteme göre ölçüldü. Bu yöntem ;

1- Doku tartılır. (en az 0,3 gr)

2-(Doku ağırlığı x 9) %10 luk TCA konulur.

- 3-Doku homojenize edilir.
- 4- 15 dakika 3000 g 18/20 °C santrifüj edilir. (4000 rpm)
- 5- 1,5 ml süpernatant alınarak mikrosantrifüj tüplerine konur.
- 6- Süpernatant 8 dakika daha 3000 g 18/20 °C de santrifüj edilir.
- 7-750 µl örneğe 10 mikrolitre %1' lik BHT (butilete de hidroksitoluen) konur.
- 8-750 mikrolitre TBA konur.
- 9-15 dakika kaynatılır.
- 10-Bulanıklık varsa 8 dakika 3000 g / rpm santrifüj edilir.
- 11-535 nm de okunur.

B.Plazma MDA Analizi ¹⁶⁷

Plazma MDA değerleri Kurtel ve arkadaşlarının uyguladığı yöntemle ölçülmüştür. Bu yöntem ;

- 1-500 µl plazma alınır.
- 2-Üzerine 1 mililitre (1000 µl) TBA / TCA / HCl karışımı eklenir.
- 3-Vortekslenir. (karıştırılır)
- 4-5 dakika oda ısısında bekletilir.
- 5-5 dakika 10000 g' de santrifüj edilir.
- 6-Süpernatant cam tüplere alınır.
- 7-Üstüne 10 µl BHT eklenir.
- 8-15 dakika kaynatılır.
- 9-Çeşme suyunda soğutulur.
- 10- Presipitasyon varsa 5 dakika 10000 g' de santrifüjlenir.
- 11- 532 nm de okunur.

C.Doku Glutasyon (GSH) Analizi ¹⁶⁸

Doku glutasyon değerleri Aykaç ve arkadaşlarının uygulamış olduğu yöntemle ölçüldü.Bu yöntem;

- 1-Doku tartılır. (en az 0,3 gr)
- 2-(Doku ağırlığı x 9) %10 luk TCA konulur.
- 3-Doku homojenize edilir.
- 4- 15 dakika 3000 g 18/20 °C santrifüj edilir. (4000 rpm)
- 5- 1,5 ml süpernatant alınarak mikrosantrifüj tüplerine konur.
- 6- Süpernatant 8 dakika daha 3000 g 18/20 °C de santrifüj edilir.
- 7- 250 mikrolitre süpernatanta 1000 mikrolitre 0,3 M Na₂HPO₄ eklenir.
- 8- 125 mikrolitre DTNB eklenir.
- 9- Cam deney tüplerine konulup, en son olarak örnek konmalıdır.
- 10- Oda sıcaklığında 5-10 dakika beklenir.
- 11- 412 nm de okunur.

D.Plazma Glutasyon (GSH) Analizi ¹⁶⁸

Plazma GSH (total sülfidril grupları) Aykaç ve arkadaşlarının uygulamış olduğu yöntemle göre tayin edildi.Bu yöntem ;

- 1-500 µl plazma alınır.
- 2-1000 µl Tris / EDTA / NaDS (SDS) solusyona eklenir.
- 3-Vortekslenir.
- 4- 5 dakika oda ısısında bekletilir.

5- 5 dakika 10000 q de santrifüj edilir.

6-Süpernatant alınır.

7-40 µl DTNB eklenir.

8- 20 dakika 37 °C tutulur.

9- 412 nm de okunur.

E.Doku ve Plazmada Nitrit ve Nitrat Tayini ¹⁶⁹

Miranda ve arkadaşlarının uygulamış olduğu yöntem kullanılarak ölçümler yapıldı

•Griess Yöntemi İle Dokuda Nitrit-Nitrat Tayini

1. 0,3 gr doku tartılır.
2. 5 katı hacimde PBS ile sulandırılır.
3. Homojenize edilir.
4. 2000 RCF de +4 °C de 5 dakika santirfüj edilir.
5. 500 µl süpernatant alınır.
6. Üzerine 250 µl 0,3 N NaOH konarak oda ısısında 5 dakika inkübe edilir.
7. 250 µl %10 luk ZnSO₄ konur.
8. Vortekslenir.
9. 3000 RCF de +4°C de 5 dakika santirfüj edilir.
10. 500 µl si 14 000 RPM de +4°C de 5 dakika santirfüj edilir.

(Bundan sonrası plazmada tayin yöntemiyle aynı devam eder.)

•Griess Yöntemi İle Plazmada Nitrit-Nitrat Tayini

1. 1 birim plazmaya 1 birim 0.3 M NaOH eklenir oda ısısında 5 dakika inkübe edilir karışıma 1 birim %10'luk ZnSO₄ eklenir ve vortekslenir.
2. 14 000 RPM de 5 dakika santirfüj edilir.

3. NO_x için; 1 birim süpernatant, 1 birim VaCl₂ , 0,5 birim sülfanilamid, 0,5 birim NEDD karışımı 37⁰C de yarım saat bekletilir.540-550 dalga boyunda okunur
 4. NİTRİT için; 1 birim süpernatant, 0,5 birim sülfanilamid, 0,5 birim NEDD karışımı 37⁰C de yarım saat bekletilir.540-550 dalgaboyunda okunur.
- Her iki değer nitrit ve nitrat için hazırlanmış standartlara göre hesaplanır.

IV. BULGULAR

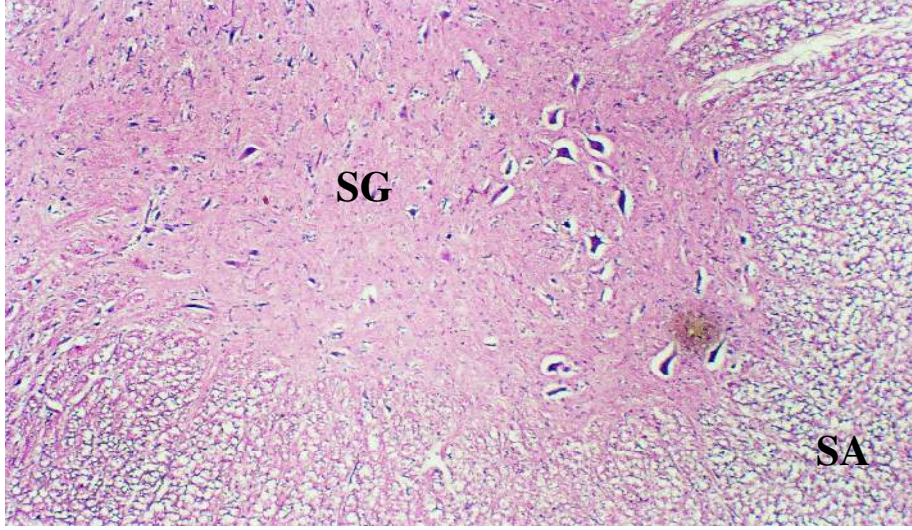
1. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Kontrol Grubu: Bu gruba ait Medulla spinalis kesitlerinde, normal yapıdaki substantia grisea ve substantia alba'nın varlığı dikkati çekti.(Resim 10) Substantia grisea'ya ait ön boynuz motor nöronlarının ökromatik çekirdekli, bazofilik sitoplazmalı, Nissl cisimcikleri kolaylıkla ayırt edilebilen, multipolar yapıda nöronların olduğu görüldü (Resim 11 ve 12). Substantia alba'da ise miyelin kılıf ile çevrili aksonların normal yapıda olduğu ve Medulla spinalis'in her iki tabakasındaki nöroglial hücrelerin de normal yapıda ve sayıda olduğu görüldü (Resim 10).

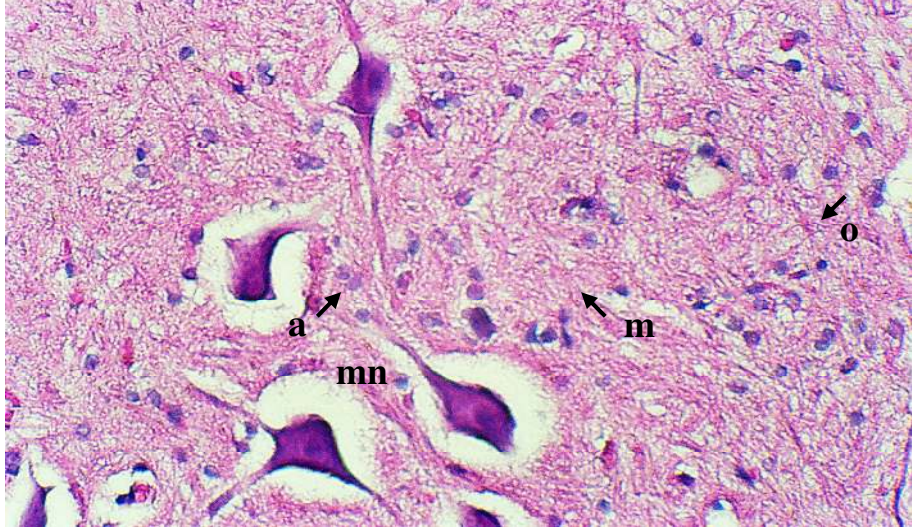
İskemi-Reperfüzyon Grubu: Bu gruba ait Medulla spinalis kesitlerinde, her iki tabakada da hasarın olduğu görüldü. Substantia grisea'ya ait ön boynuz motor nöronlarının kontrol grubundaki motor nöronlara göre daha küçük, eozinofilik sitoplazmalı, çok kutuplu şeklini kaybedip üçgen şekilli bir yapı edinmiş ve Nissl cisimciklerinin ayırt edilemediği iskemik nöronlar şeklinde olduğu dikkati çekti. Substantia alba'ya ait miyelinli aksonların dejenerasyona giderek, bu tabakada çok sayıda vakuol yapısının olduğu saptandı (Resim 13-14-15).

Melatonin Grubu: Bu gruba ait Medulla spinalis kesitlerinde Substantia grisea'daki motor nöronların şekil, uzantı, sitoplazmik özellikleri yönünden iskemi-reperfüzyon grubuna göre daha iyi olduğu dikkati çekerken, normal nöronların yanı sıra aynı alan içinde daha atrofik görümlü, üçgen şekilli ve eozinofilik sitoplazmalı iskemik nöronların varlığı da saptandı. Substantia alba kontrol grubuna yakın özellikteydi (Resim 16-17).

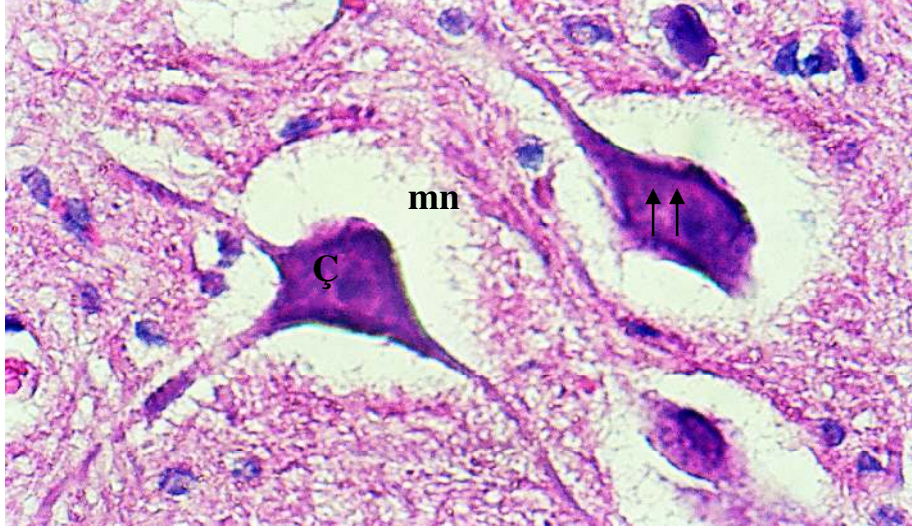
A.Kontrol Grubu



Resim10: Medulla spinalis substantia grisea'ya (SG) ait ön boynuz ile dışındaki Substantia alba (SA) katmanını normal yapıda görülmekte. (H:E, x 4)

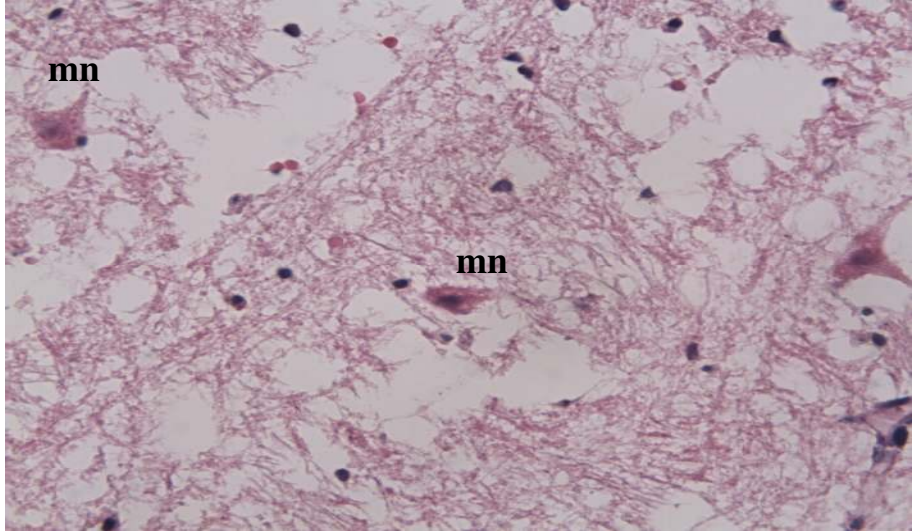


Resim 11 : Daha büyük büyültmede, Medulla spinalis ön boynuzundaki motor nöronlar (mn) ile çevrelerindeki nöroglial hücrelerin görünümü (a: astrosit, o: oligodendrosit, m: mikrogliya) (H.E, x 20)

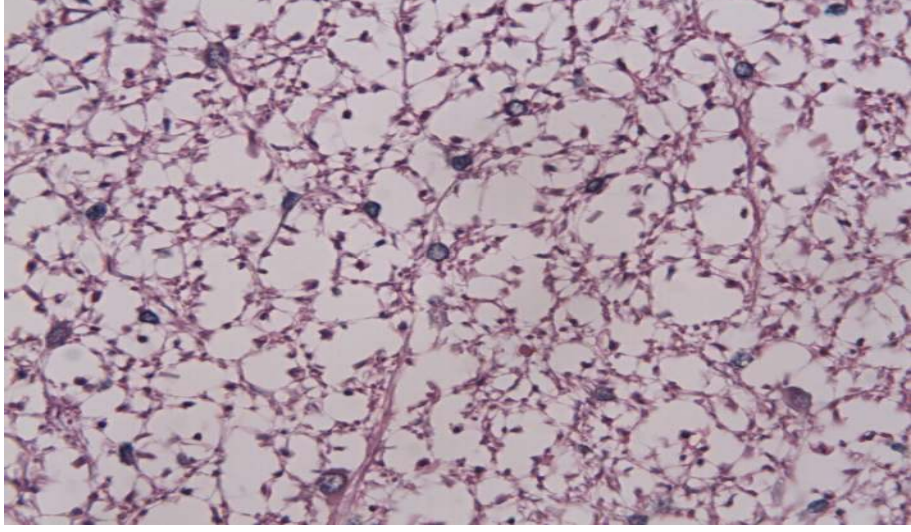


Resim12: Medulla spinalis ön boynuzunda, multipolar özellikle ökromatik çekirdekli, Nissl cisimcikleri (↑↑) kolaylıkla ayırt edilebilen, bazofilik sitoplazmalı motor nöronlar. (H.E, x 40)

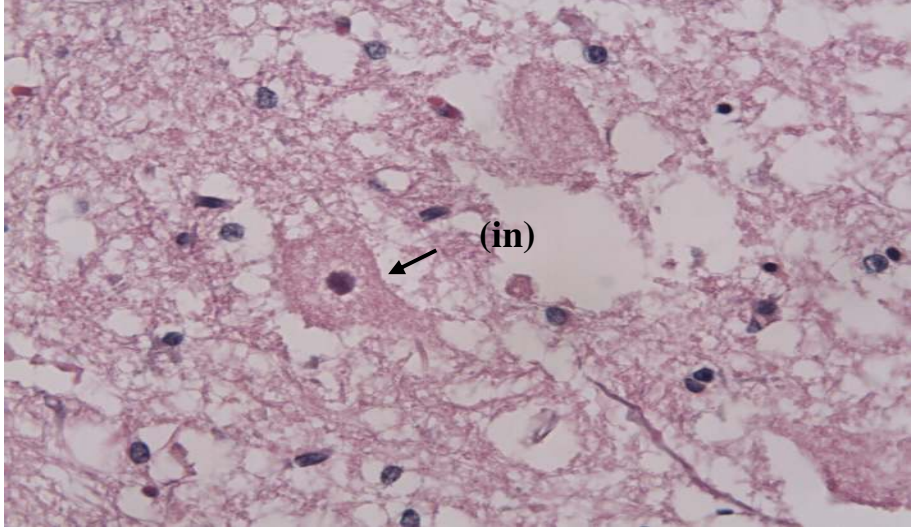
B.İskemi-Reperfüzyon Grubu



Resim 13: Medulla spinalis substantia grisea'daki motor nöronların (mn) ve ara dokunun normal yapısını kaybettiği ve ileri derecede hasarın olduğu görüldü. (H.E, x10)

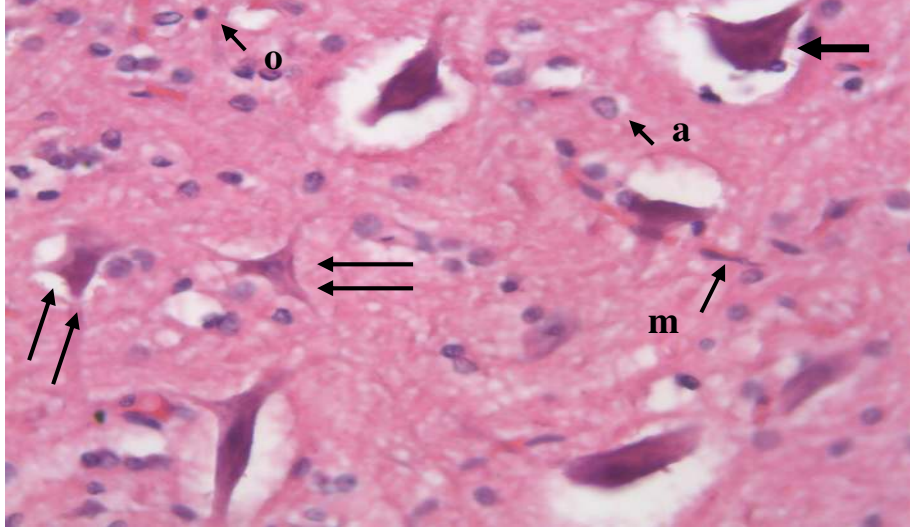


Resim 14: Medulla spinalis substantia alba'daki aksonlarda ileri derecede vakuolizasyon, miyelin kaybı ile giden hasarlanma görülmekte. (H.E, x10)

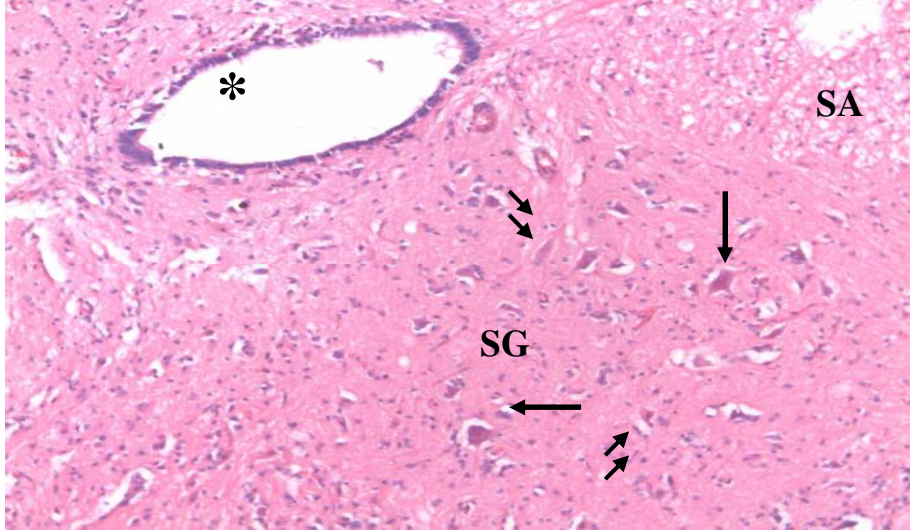


Resim 15: Medulla spinalis substantia grisea'daki motor nöronların bazofilik sitoplazma yapısını kaybetmiş, Nissl cisimcikleri ayırt edilemeyen anormal şekil ve yapı özelliği gösteren iskemik nöronlar (in) şekline dönüştüğü gözlemlendi. (H.E x 20)

C.Tedavi Grubu



Resim 16: Aynı alan içinde multipolar özellikte, bazofilik sitoplazmalı motor nöronlar (↑) ile az sayıda eozinofilik sitoplazmalı, üçgen şekilli iskemik nöronlar (↑↑) ve arada nöroglial hücre çekirdekleri görülmektedir. (a: astrosit, o: oligodendrosit, m: mikroglia) (H.E, x 20)



Resim 17: Epandimal hücrelerle döşeli Canalis centralis (*) ile dışındaki substantia grisea (SG) da aynı alanda normal (↑) ve iskemik nöronlar (↑↑) yan yana görülmekte. (H.E, x 4)

Sonuç olarak:

Melatonin tedavisi uygulanan gruplarda yapının iskemi-reperfüzyon grubuna göre oldukça iyi korunmuş olduğu gözlemlendi.

2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Tablo 1 : Doku MDA, GSH, NO değerlerine göre ortalama değerler.

Doku MDA, GSH, NO analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.			
	Kontrol Grubu (n=10)	İskemi- Reperfüzyon Grubu (n=10)	Tedavi Grubu (n=8)
MDA Değerleri (nmol/gr)	3,208 ± 0,614 ^a	5,386 ± 1,211 ^b	3,338 ± 0,449 ^c
GSH Değerleri (nmol/gr)	0,653 ± 0,113 ^d	0,253 ± 0,060 ^e	0,625 ± 0,197 ^f
NO Değerleri (nmol/mgr)	74,04 ± 9,631 ^g	112,47 ± 9,257 ^h	90,76 ± 10,404 ^j

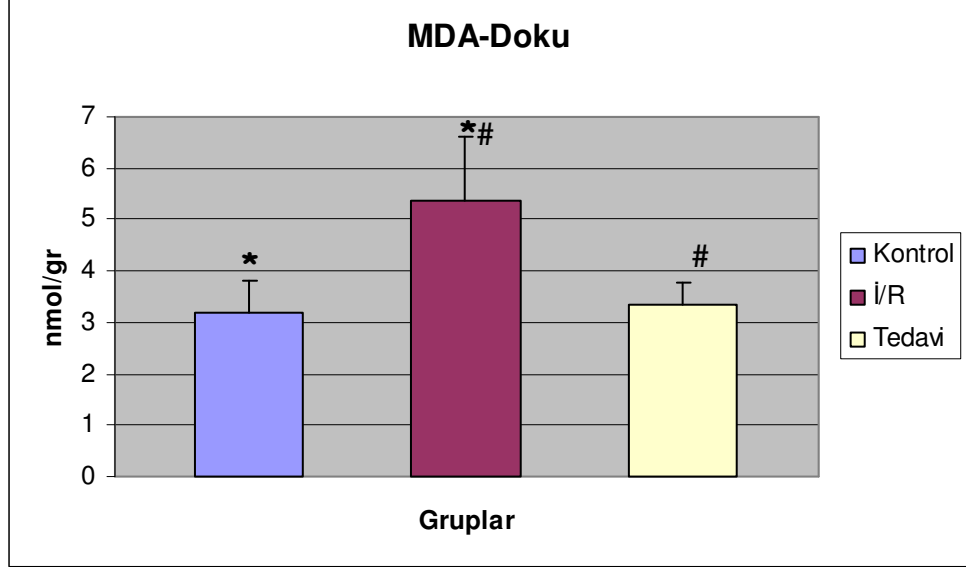
*** a-b, b-c p<0,05 ; d-e,e-f p<0,05 ; g-h,h-j p<0,05'tir.

Tablo 2 : Plazma MDA, GSH, NO değerlerine göre ortalama değerler.

Plazma MDA, GSH, NO analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.			
	Kontrol Grubu (n=10)	İskemi- Reperfüzyon Grubu (n=10)	Tedavi Grubu (n=8)
MDA Değerleri (nmol/ml)	1,642 ± 0,392 ^a	2,449 ± 0,406 ^b	1,893 ± 0,503 ^c
GSH Değerleri (nmol/ml)	356,83 ± 49,411 ^d	237,37 ± 31,9 ^e	328,69 ± 44,564 ^f
NO Değerleri (nmol/ml)	116,67 ± 16,872 ^g	259,13 ± 36,943 ^h	71,41 ± 16,355 ^j

*** a-b, b-c p<0,05 ; d-e,e-f p<0,05 ; g-h,h-j p<0,05'tir.

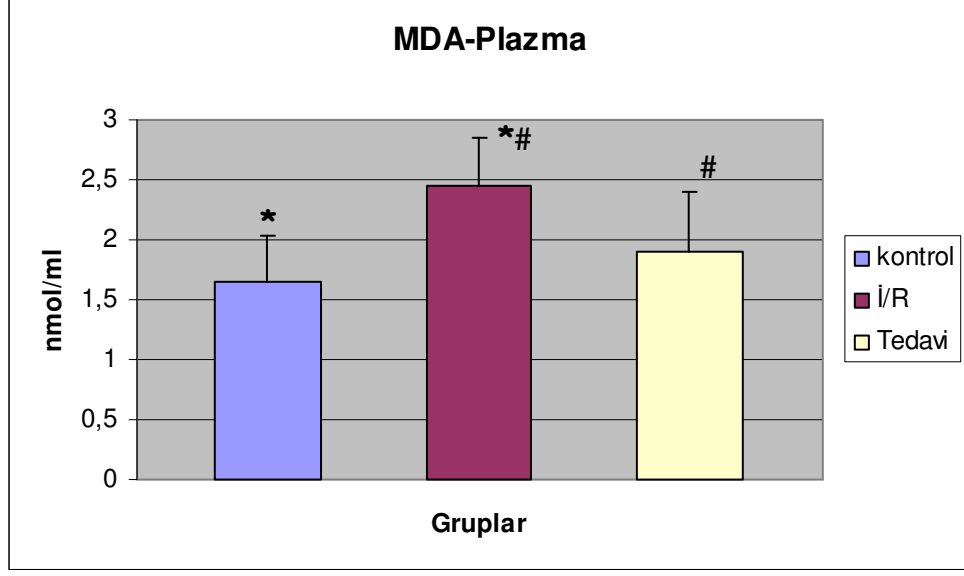
A.MDA Doku



Grafik 1 : Ortalama doku MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/gr) * =(K-İ/R) için $p<0,05$, # = (İ/R-T) için $p<0,05$

Doku MDA düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama MDA düzeyi 3,208 , İ/R grubu 5,386 ve tedavi grubu ortalama MDA değeri ise 3.338 olarak bulundu(Tablo :1 Grafik: 1). İ/R grubundaki anlamlı MDA yüksekliği spinal kordun İ/R hasarından olumsuz olarak etkilendiğini göstermektedir ($p< 0.05$). Tedavi grubu ortalama MDA değeri istatistiksel olarak İ/R grubunununkinden anlamlı düzeyde düşük iken kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği bulundu.

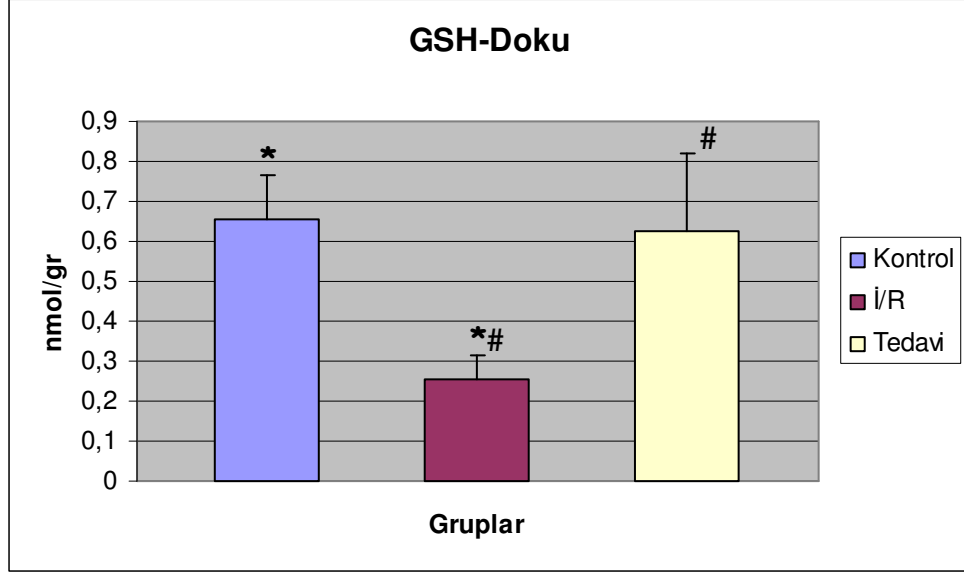
B.MDA Plazma



Grafik 2 : Ortalama plazma MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml)
* =(K-İ/R) için $p<0,05$, # = (İ/R-T) için $p<0,05$

Plazma MDA düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama plazma MDA düzeyi 1,642, İ/R grubu 2,449 ve tedavi grubu ortalama plazma MDA değeri ise 1,893 olarak bulundu(Tablo 2: Grafik 2). İ/R grubundaki anlamlı plazma MDA yüksekliği bir miktar İ/R hasarının gerçekleştiğini göstermektedir. Tedavi grubu ortalama plazma MDA değeri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde İ/R grubunununkinden farklı iken kontrol grubu ile benzer olduğu bulundu.

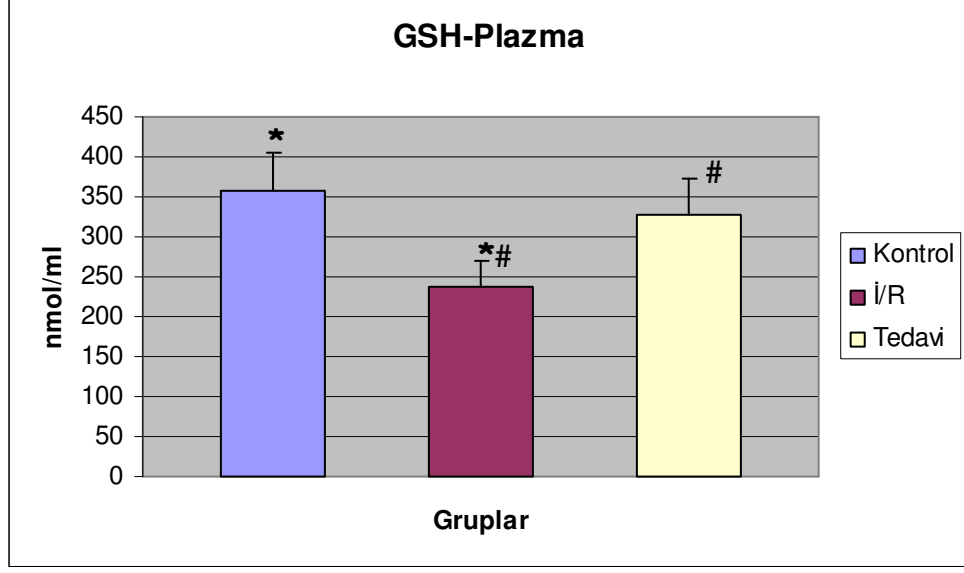
C. Glutasyon Doku



Grafik 3: Ortalama doku glutasyon değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/gr)
* =(K-İ/R) için $p<0,05$, # = (İ/R-T) için $p<0,05$

Doku GSH düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama doku GSH düzeyi 0,653, İ/R grubu 0,253 ve tedavi grubu ortalama doku GSH değeri ise 0,625 olarak bulundu(Tablo 1: Grafik 3). Beklendiği üzere antioksidan görevi olan GSH İ/R hasarına bağlı olarak İ/R grubunda anlamlı olarak düşmüştür ($p<0,05$). Tedavi grubunda ise kontrol grubuna göre kıyaslandığında benzerlik görülmektedir.

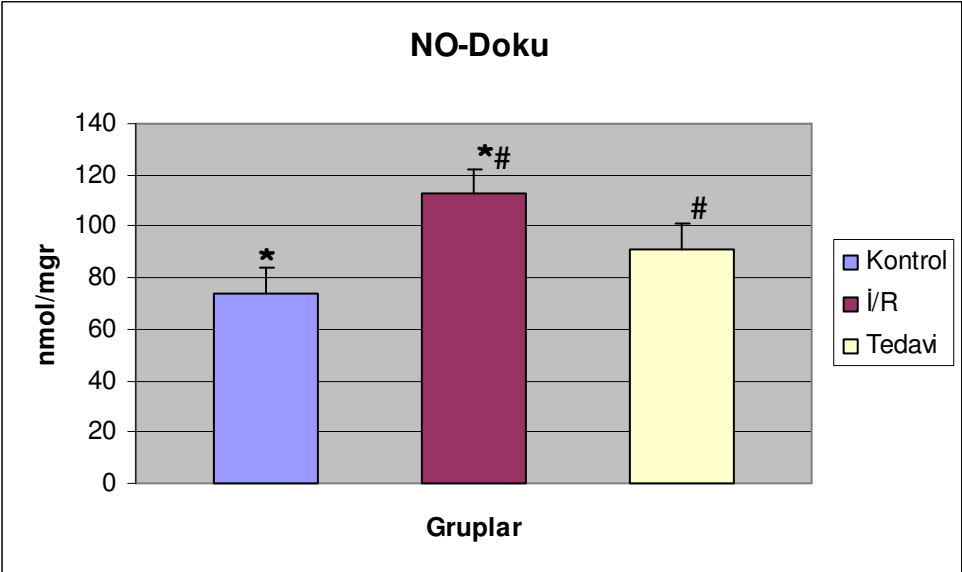
D. Glutasyon Plazma



Grafik 4 : Ortalama plazma glutasyon değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml) * =(K-İ/R için) $p<0,05$, # = (İ/R-T) için $p<0,05$

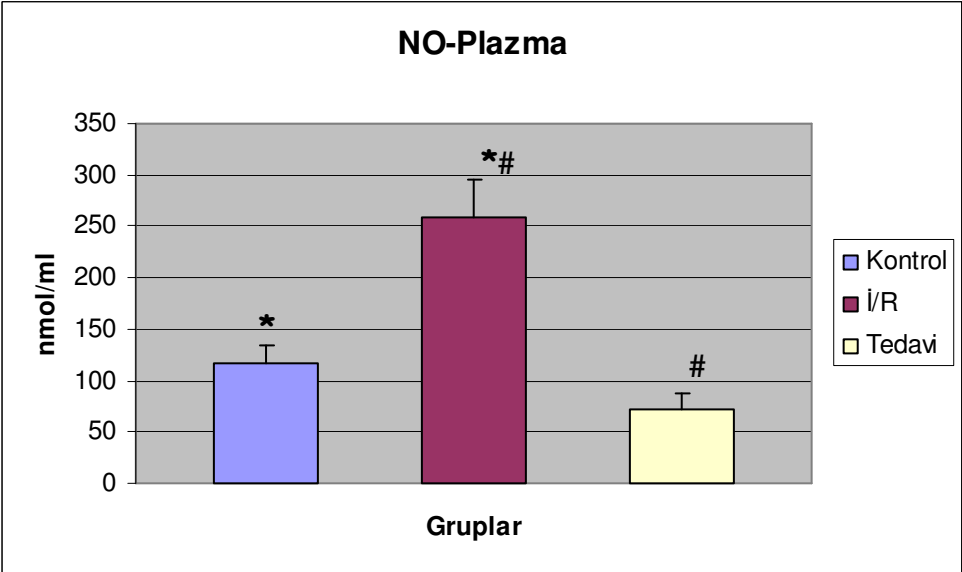
GSH plazma düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama plazma GSH düzeyi 356,89 İ/R grubu 237,37 ve tedavi grubu ortalama plazma GSH değeri ise 328,69 olarak bulundu(Tablo 2: Grafik 4). İ/R grubundaki anlamlı GSH azalışı İ/R hasarını göstermektedir ($p<0,05$). Tedavi grubunun kontrol grubuna göre kıyaslanmasında benzerlik görülmektedir.

E.NO Doku



Grafik 5: Ortalama doku NO değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/mgr) * =(K-İ/R için) $p<0,05$, # = (İ/R-T) için $p<0,05$

F.NO Plazma



Grafik 6 : Ortalama plazma NO değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml) * =(K-İ/R için) $p<0,05$, # = (İ/R-T) için $p<0,05$

NO doku ortalama değerleri kontrol grubu için 74,04 , iskemi-reperfüzyon grubu için 112,47 , tedavi grubu için 90,76 olarak bulundu (Tablo 1). NO düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grubuna göre iskemi-reperfüzyon grubundaki artış anlamlılık içermektedir ($p<0,05$). Tedavi grubu ile iskemi-reperfüzyon grubu kıyaslandığında ise tedavi grubunda NO düzeylerinin azaldığı ve istatistiksel açıdan anlamlı bir fark içerdii görölmektedir ($p<0,05$). (Grafik 5)

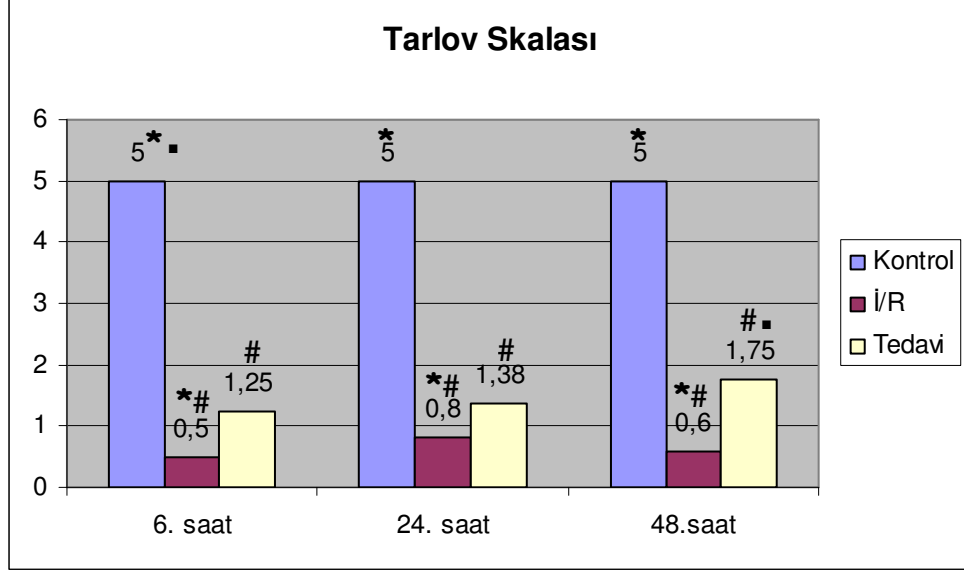
NO plazma ortalama değerleri, kontrol grubu için 116,67 , iskemi-reperfüzyon grubu için 259,13 , tedavi grubu için 71,41 olarak bulundu(Tablo 2). İskemi-reperfüzyon hasarı sonucu iskemi-reperfüzyon grubunda plazma değerlerinde de NO artışı kontrol grubuna kıyasla bir anlamlılık içermektedir ($p<0,05$). Tedavi grubu NO değerleri iskemi-reperfüzyon grubu ile kıyaslandığında NO düzeylerinin iskemi-reperfüzyon grubuna göre azaldığı ve istatistiksel açıdan anlamlı bir fark içerdii bulunmuştur (Grafik 6).

3. Nörolojik Değerlendirme (Tarlov Skalası)

Tablo 3: 6, 24, 48. saatlerde sahip oldukları Tarlov skoruna göre toplam denek sayılarının gruplara göre dağılımı.

TARLOV	KONTROL ^a			İ/R ^b			TEDAVİ ^c		
	6	24	48	6	24	48	6	24	48
0				6	4	5	2	2	1
1				3	4	4	3	2	2
2				1	2	1	2	3	3
3							1	1	2
4									
5	10	10	10						
ORTALAMA	5	5	5	0.5	0.8	0.6	1.25	1.38	1.75

*** 6. saat için , a-b, a-c $p<0,05$; 24. saat için , a-b, a-c $p<0,05$; 48. saat için , a-b, a-c, b-c $p<0,05$ 'tir.



Grafik 7 : 6, 24, 48. saatlerde sahip oldukları Tarlov skorlarına göre grupların rakamsal değerlerinin gruplara göre ortalama dağılımı. (6. saat için , *=(K-İ/R), # =(K-T) $p<0,05$; 24. saat için , *=(K-İ/R), # =(K-T) $p<0,05$; 48. saat için , * =(K-İ/R), ■ =(K-T), # =(İ/R-T) $p<0,05$ 'tir.)

Yapılan nörolojik muayene sonucu kontrol grubu denekler 6, 24, ve 48. saatler sonrası normal bulgulara sahipti. İskemi-reperfüzyon grubu deneklerin 6, 24 ve 48. saat sonrası tarlov değerleri sırası ile 0,5 , 0,8 ve 0,6 olarak bulundu. Tedavi grubu deneklerin 6, 24 ve 48. saat tarlov değerleri ise sırasıyla 1,25 , 1,38 ve 1,75 olarak bulundu. Tedavi grubunda İ/R grubuna göre, takip eden saatlerde, nörolojik anlamda kısmen iyileşme tespit edildi (Tablo 3, Grafik 7). 48. saat tarlov değerlerine göre tedavi grubu ile iskemi-reperfüzyon grubu arasında anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$).

V. TARTIŞMA

Akut spinal yaralanması; toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel psikososyal ve ekonomik açıdan oluşturduğu hasarın büyüklüğü ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememiş olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Bununla bağlantılı olarak özellikle travma sonrası oluşan nöral hasarın azaltılması ve motor fonksiyonların korunmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar devam etmektedir ¹⁷⁰. Geliştirilmeye çalışılan etkin farmakolojik tedavi yöntemleri travma sonrası gelişen süreçlerin patofizyolojisinin iyi anlaşılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde spinal kordda oluşan lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır ¹⁷¹.

İlk olarak 1911 yılında Allen köpeklerde oluşturduğu kontüzyon tipi spinal kord hasarı sonrası uygulanan myelotomi ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağlaması daha önce bu konu ile ilgili yapılan deneysel çalışmaları belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ve aynı zamanda sekonder hasar konseptinde öncülüğünü yapmıştır ¹⁷². Spinal korda darbe olduğu ilk anda nöronlarda oluşan hasar primer yaralanma olarak adlandırılmakta ve primer yaralanmanın tetiklediği birçok mekanizmayla oluşan nörolojik hasar ise sekonder yaralanma olarak tarif edilmektedir ¹⁷¹.

İskemi, kan akımının, hücresel 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 ettirebilmektedirler. Santral sinir

sistemi vücutta, kısıtlı anaerobik metabolizması ve glikojen depoları nedeniyle iskemiye 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 kaçınılmazdır. İskemi sonucunu belirleyen en önemli iki faktör; iskeminin derinliği ve süresidir ⁹⁰. İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan, ani ve fazla miktarda oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları, iskemik hasara uğramış dokularda, özellikle serbest oksijen radikallerinin oluşması yolu ile ileri hasara yol açmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon, bazı yazarlarca “iki ucu keskin bıçak” şeklinde tanımlanmıştır ⁹¹.

Çalışmamızda, tavşanda infrarenal aortik oklüzyon yöntemiyle spinal kord iskemisi gerçekleştirildi. Spinal kord hasarı meydana getirmek için birçok çalışmada aynı model kullanılmıştır ¹⁷³. Tavşanlarda spinal kord kan akımı segmentaldir ve segmentler arasındaki kollateral dolaşım dolayısıyla kan akımı zayıftır. 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. Bu da nöroprotektif olduğu sanılan farmakolojik ajanları değerlendirmede tavşanı, güvenilir bir model yapmaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı söz konusu spinal iskemi reperfüzyon modeli için tavşan denek olarak seçildi.

İskemi sonrası gelişen spinal kord hasarında pek çok faktör etkilidir. Metabolizmanın sürdürülmesi için ihtiyaç duyulan enerji eksikliğinin yanında eksitotoksinite, infarkt evresinde depolarizasyon dalgası oluşumu, oksidatif stres ve gen ekspresyonundaki değişiklikler inme patogenezinde önem taşır ¹⁷⁴. Bu faktörler arasında belki de en önemlisi reperfüzyon sonrasında oluşan serbest oksijen radikallerine bağlı hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu ve yaygın hücre

ölümü olarak kabul edilmektedir. Serbest O₂ radikallerinin sitokinler üzerinden sinir dokusunda iskemi ve reperfüzyon sonrası oluşan inflamatuvar reaksiyonların gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir ¹⁷⁵. Bu nedenle bu toksik radikallere yönelik girişimler sinir dokusunun iskemi-reperfüzyon hasarından korunmasında büyük önem taşımaktadır.

1958’de Amerikalı dermatolog Aaron B. Lerner ¹⁷⁶ binlerce sığırın pineal bezinden amfibian denilen, aydınlatıcı faktör olarak da bilinen potent maddeyi tanımlamıştır. Bu N-asetil-5-metoksitriptomin yapısındaki maddeye, amfibian pigmentindeki melanoforları kontrakte ettiği için melatonin adını vermiştir.

Melatoninin ilk dikkat çeken özelliği nöroendokrin-reproduktif eksen üzerine –özellikle gonadlara- olan etkisidir. Daha sonra immün sistem üzerine olan etkileri farkedilmiştir. 80’li yılların sonunda ise onkostatik ve yaşlanmayı geciktirici özelliği ortaya konan melatoninin son zamanlarda serbest radikal yakalama özelliği üzerinde durulmaktadır ¹⁷⁷. Aslında melatoninin tüm bu özellikleri, serbest radikal yakalayıcı özelliğinin bir sonucudur. Melatonin özellikle organizmada yapılan ve son derece tahrip edici olduğu düşünülen hidroksil radikalının ([•]OH) dokulardaki olumsuz etkilerini engellemektedir.

Melatonin, iyi bilinen bir diğer serbest radikal tutucu olan glutatyondan (bilinen en potent endojen serbest radikal tutucu) 5 kez, mannitolden ise (bilinen en potent eksojen serbest radikal tutucu) 14 kez daha efektiftir. Bu özelliği in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir ¹⁷⁸.

Melatonin en ilkelinden (tek hücreli algler örnek: *Gonyaulax polyedra*) en gelişmiş olan bütün aeorbik organizmalarda bulunan, evrim boyunca korunmuş bir moleküldür. Buna karşın sanıldığı gibi hidrofobik değildir. Sudaki çözünürlüğü 5 x 10⁻³ M olarak tespit edilmiştir. Melatonin bu özelliği sayesinde kan-beyin bariyeri, kan-CSF bariyeri gibi bütün morfofizyolojik bariyerleri kolayca geçer ve tüm subselüler kompartmanlara hızla diffüze olur. Melatoninin serbest radikal tutucu özelliği nedeniyle yaşa bağımlı dejeneratif olayları engellemede yararlı olabileceği düşünülmektedir ¹⁷⁹.

Reppert ve arkadaşları ¹⁸⁰ primatlarda ve ratlarda yaptıkları iki ayrı çalışmada anneye verilen melatonin plasenta yoluyla fötüsa ve anne sütü yoluyla yenidoğana geçtiğini göstermişlerdir.

Klinikte kluster tip baş ağrısı olanlarda melatonin kullanılmaktadır. Çok ağrılı ve primer baş ağrısı tipindeki bu hastalar üzerinde Waldenling ve arkadaşlarının ¹⁸¹ yaptığı bir çalışmada, nokturnal melatonin düzeyleri, bozulmuş immün parametrelerle birlikte düşük bulunmuş ve hastalardan 9 tanesi 5 mg/gün (st 20.00) oral melatonin tedavisine alınmıştır. Hastaların beşinde belirgin düzelme tespit edilmiştir. Bu çalışmanın ilginç bir sonucu tedaviye yanıt verenlerin bazal melatonin düzeylerinin vermeyenlere göre düşük olmasıdır.

Berker ¹⁸² yaptığı bir çalışmada, pinealektomize olan ratlarda kollagen yaşlanmasının normal ratlara göre fazla olduğunu ve fötal pineal doku transplantlarının bu süreci önlediğini göstermiştir.

Koçak ¹⁸³ yaptığı çalışmada ratlarda oluşturulan kafa travması modelinde serebral dokuda oluşan ikincil hasarı pinealektomize ve normal deneklerde incelemiştir. Bu çalışmada, normal deneklere göre pinealektomize deneklerde nöronal dejenerasyon daha şiddetli olmakta ve her iki grupta da posttravmatik erken dönemde verilen melatonin ile dejenerasyonun şiddeti azaltılabilmektedir.

Tan ve arkadaşlarının ¹⁸⁴ yaptıkları bir çalışmada serbest radikaller aracılığı ile DNA üzerinde oluşturulan hasarın, Chen ve arkadaşlarının ¹⁸⁵ yaptıkları bir çalışmada ise in vitro olarak retinal lipid peroksidasyonunun, Pierrefiche ve arkadaşlarının ¹⁸⁶ yaptıkları başka bir çalışmada ise alloksanın oksidan etkisi ile ratlarda oluşturulan deneysel diabetin melatoninin antioksidan etkisi ile doz bağımlı olarak engellendiği gösterilmiştir.

Tang ve ark. ¹⁸⁷ sıçanlarda beyin dokusunda demirle oluşturulan lipid peroksidasyonunu önlemek için melatoninin etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada, sıçanlarda beyin hücre membranlarını 3 saat boyunca bir grubu demir, diğer bir grubu

demir + melatonin inkübasyonuna tabi tutmuşlardır. Sadece demir uygulanan hayvanların nöronlarında, oksidatif hasarın daha fazla görüldüğünü, demirle birlikte melatonin uygulanan hayvanlarda ise, MDA miktarlarındaki azalma ile paralel olarak oksidatif hasarın azaldığı sonucuna varmışlardır. Bu veriler de bizim bulgularımızla uyumludur.

Melchiorri ve ark.¹⁸⁸ sıçanlarda parquatla oluşturulan oksidatif hasarı önlemede melatoninin antioksidan etkisini araştırmışlardır. Parquatın 70 mg/kg dozunun karaciğerde lipid peroksidasyonunu kontrol grubuna göre %40 arttığını, ancak parquat'tan önce 10 mg/kg intraperitoneal melatonin uygulandığında, lipid peroksidasyonundaki bu artışın tamamen ortadan kalktığını rapor etmişlerdir.

Serbest radikaller, üzelerinde ortaklanmamış elektron taşıyan ve bu özelliklerinden dolayı çok reaktif olan yapılardır. Serbest radikal reaksiyonları sonucunda hücre ve organellerin membranları, DNA, protein yapısındaki moleküller hasar görmekte ve bu hasarın derecesiyle ilişkili olarak hücresel hasar ortaya çıkmaktadır. Günümüzde kanser, romatoid artrit, beyin iskemisi ve kronik böbrek yetmezliği gibi çok değişik hastalık gruplarının etiyolojisinde bu metabolizma sorumlu tutulmaktadır¹⁸⁹. Özellikle iskemi ve reperfüzyon esnasındaki hasardan oksijen türevi radikaller sorumlu tutulmaktadır. İskemi olayında, solunum zincirinde, sitokrom c oksidaz reaksiyonunda oksijen radikali (O_2^-) üretimi artar, ATP yıkımı artar. ATP yıkımının artışına bağlı olarak adenosin metabolizması hızlanır, hipoksantin ve ksantin miktarı artar. Ksantin oksidaz (XO) enziminin artmasına bağlı olarak hücre içi oksijen radikali üretimi hızlanır.

Anaerobik metabolizmadan dolayı hücre içi asidoz oluşur, bundan zar yapılar zarar görür. Na^+-K^+ ATPaz ve diğer taşıyıcı sistemler inhibe olur. Hücreye kalsiyum girişi artar, hücrenin zar yapısı bozulur. Bu durum kompleman faktörlerinin aktivasyonuna ve nötrofillerin zara adezyonuna yol açarak radikal üretimini daha da hızlandırır. Reperfüzyon olayında ise, iskemi sonrası meydana gelen hiper-oksijenasyondan dolayı özellikle solunum zincirinin son reaksiyonunda oksijenin kısmi

redüksiyonu hızlanarak, oksijen radikali üretimi önemli derecede artar. Ayrıca ksantin dehidrojenaz (XD) enzimi XO şekline dönerek hücre içi oksijen radikali üretimini artırır

¹⁹⁰

İskemi ve reperfüzyon olayında anlaşılacağı üzere serbest radikal metabolizması hasardan sorumlu önemli bir faktör olarak görülmektedir. Hücre içinde oluşan serbest radikal hasarına karşı enzimatik ve non-enzimatik savunma mekanizmaları mevcuttur. A, C ve E vitaminleri ile glutatyon nonenzimatik savunma mekanizmaları arasında önemli yer tutarken, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzimleri, hücre için enzimatik savunma mekanizmalarıdır.

Reperfüzyonda oksijenden başka kan hücreleri ve kompleman sisteminin aktivasyonu gibi diğer bazı faktörler de doku hasarına yol açar. Yapılan çalışmalar tam kan reperfüzyonundaki polimorfonükleer (PMN) lökositlerin de bu hasarın oluşmasında önemli bir rolü olduğunu göstermiştir ¹⁹¹.

Reperfüzyon başlangıcında meydana gelen olaylar inflamatuvar cevabın en önemli komponentleri olan nötrofiller ve endotelyum arasındadır ve erken reperfüzyon hasarı olarak ifade edilir. Lökositlerin doku içine migrasyonu için mutlaka endotel ile temas etmeleri gerekir. İnfiltrate olan aktif nötrofiller reaktif oksijen radikalleri ve proteazları salgırlar. Hücre içi savunma mekanizmalarında kullanılan serbest radikal süpürücü SOD ve peroksit yıkıcı KAT ve GPx enzimleri, lökositlerin salgıladıkları bu sitotoksik reaktif oksijen metabolitleri tarafından oluşturulan hasarı azaltabilme kapasitesine sahiptir ¹⁹¹. Fakat bu radikal süpürücü ajanlar hücre içinde bulundukları için, hücre dışı mekanizmalarla olan bir hasarı önlemede yetersiz kalabilecekleri düşünülmektedir. Bu nedenle serbest radikal süpürücü ajanların dışarıdan vücuda verilmesi uygun bir tedavi seçeneği olabilir.

Nötrofiller dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), platelet aktive edici faktör (PAF), PG türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-kB)

aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-a) sentezine yol açar. Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler mast hücrelerinden selektin ve hücre içi adezyon molekülü (ICAM) gibi adezyon moleküllerini mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınımını uyarır ¹⁹². Nötrofillerin saldıkları maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, aktif nötrofillerin damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif plateletlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya neden olmalarından dolayı İ/R hasarının önemli mediyatörleri olarak kabul edilmektedir. Yapılan son çalışmalarda; nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur ¹⁹³. Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozis normal insan gelişiminin, immün sistemin ve vücut homeostazının vazgeçilmez bir bileşenidir. Bu hücre ölüm yolağındaki düzensizlikler; kanser, otoimmün hastalıklar, immün sistem bozuklukları, iskemik epizodu takiben reperfüzyon hasarı ve nörodejeneratif hastalıklara yol açabilir.

Serbest radikaller hücrede lipit, protein, DNA ve karbonhidrat gibi önemli hücresel yapı ve bileşiklere etkilidir. Membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler gibi doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri serbest radikaller için oldukça çekici makromoleküllerdir. Biyomoleküllerin tümü serbest radikallerin etki alanında olsalar da lipitler bu riske en duyarlı yapılardır. Serbest radikaller başlıca moleküler oksijenin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkmaktadır ¹⁹⁴. Reaktif oksijen türü insan vücudunda sürekli oluşur. Bunların çoğu yararlı fizyolojik görevleri yerine getirir. Fakat aşırı miktarlarda veya uygunsuz koşullarda oluşumu ile toksik olabilirler.

Bizde bu bilgilerin ışığında spinal kord iskemi-reperfüzyon modelimizde serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olan doku ve plazma kaynaklı MDA düzeylerini değerlendirerek Melatoninin reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisini araştırdık. Melatonin uygulanan tedavi grubunun doku ve plazma ortalama MDA değerlerinin,

İskemi-Reperfüzyon grubu doku ve plazma ortalama MDA değerlerinden düşük olduğu bulundu. Bu sonuç melatoninin spinal kordu ve aortik oklüzyondan etkilenen çoğu alt ekstremiteye ait diğer dokuları, iskemi reperfüzyon hasarında oluşan oksidatif stres sonucu gelişecek lipid peroksidasyonunun kötü sonuçlarından koruduğunu göstermektedir.

NO temel hedef enzimlerinden guanilat siklazı aktive eder, bu enzim de hücresel siklik guanozin mono fosfat (cGMP) konsantrasyonunu artırır ¹⁵⁸. Bu enzimin NO tarafından aktivasyonu vasküler sistemde vazorelaksasyon ve santral sinir sisteminde (SSS) nörotransmisyon ile sonuçlanır. Yüksek NO sentezlenmesi durumunda birçok enzim inhibe olur. NO'in etkileri çoğunlukla lokal olmasına rağmen hedef hücrenin komşu hücrelerine de hızla ulaşabilir. NO endotelde L-arginin amino asitinin oksitlenmesi ile oluşmaktadır ¹⁵⁸.

Bizim çalışmamızda tedavi grubu ortalama doku ve plazma NO düzeyi İ/R grubu ortalama değerinden düşük bulundu. İstatiksel açıdan aralarında anlamlı bir fark olduğu saptandı. Bu sonuç melatoninin NO' in yol açtığı patolojik etkilerden organizmayı koruduğu görüşünü desteklemektedir.

Serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırımında önemli antioksidan savunma sistemlerinden biri glutatyon'un doku ve plazma değerleri de çalışmamızda incelenmiştir.

Hücre içinde bir tripeptit (glutamik asit, sistein, glisin) olarak sentezlenen glutatyon, NADPH'ı kullanarak hücrelere indirgeyici güç sağlamaktadır. Hücrede esas olarak indirgenmiş formda (GSH) bulunur. Reaktif oksijen türlerinin kimyasal veya metabolik oluşumuna yol açan hücre içi ve/veya hücre dışı koşullar oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stres ve antioksidan kapasite arasındaki denge organ veya organ sistemlerinin oksidatif strese olan duyarlılıklarını belirler. Endojen ve eksojen stresten kaynaklanan serbest radikaller ateroskleroz, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, ilaç toksisitesi, ve viral enfeksiyon gibi belirli hastalıkların patojenitesinde belirgin bir rol oynamaktadır. GSH, antioksidan vitaminler (vitamin E,

vitamin C), antioksidan enzimler oksidatif hasara karşı hücreleri korumada önemli rol oynamaktadır. GSH ve GSH öncülleri antioksidan kapasiteyi korumada tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır¹⁹⁶.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz grublara ait olan doku ve plazma ortalama redükte glutatyon değerlerine göre, tedavi grubu doku ve plazma ortalama redükte glutatyon değerleri, iskemi-reperfüzyon grubundan yüksek bulundu. Kontrol grubu ve iskemi reperfüzyon grubu doku ve plazma ortalama redükte glutatyon değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunurken ($p<0,05$), kontrol grubu ve tedavi grubunun doku ve plazma ortalama redükte glutatyon değerleri arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır. Bir antioksidan olan redükte glutatyonun tedavi grubunda yüksek bulunması, melatoninin antioksidan özelliği ile iskemi reperfüzyon sonucu oluşan hasarı dolayısıyla oksidanları azaltmasına ve glutatyon savunma sistemine olan ihtiyacı azaltmasına bağlanabilir.

Sonuçta MDA, Glutatyon ve NO düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde melatonin tedavisi altındayken spinal iskemi reperfüzyon uygulamasına maruz kalan deneklerde oksidatif stresin göstergesi olan parametrelerde anlamlı düzeyde düzelme görülmektedir. Bu da melatoninin spinal kordu ve iskemik hasara uğrayan diğer dokuları oksidatif stresten koruduğunu göstermektedir.

Ayrıca çalışmamızda histolojik değerlendirme ve tarlov skalası sonuçlarını kullanarak sonuçlarını korele etmeye çalıştık. Yapılan histolojik değerlendirmelere göre elde edilen bulgular iskemi-reperfüzyon hasarı ile nöron hasarlarının oluştuğunu göstermektedir. İskemi-reperfüzyon grubu ile tedavi grubu karşılaştırıldığında, tedavi grubunda nöranal hasarın belirli bir ölçüde önlendiği ve iskemi-reperfüzyon grubuna göre kıyasla melatoninin koruyucu rol aldığı görülmektedir. Tedavi grubu denekleri Tarlov skoru ortalamasının, İ/R grubu deneklerininkine göre bir miktar daha yüksek olduğu görüldü. İlerleyen takip sürelerinde İ/R grubunun skorunda 6. saattekine göre değişiklik izlenmezken tedavi grubunda düzelme izlendi. Bu sonuç melatoninin, reperfüzyon hasarının primer

hasarın kötüye gidişine neden olan zararlı etkilerinden spinal kordu koruduğu yönünde yorumlanabilir. İskemi uygulaması sonrası değişikliklerin 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 olduğu görülmüştür.

VI. SONUÇ

Tüm bu bulgular ışığında melatonin kullanımı esnasında meydana gelebilecek iskemi-reperfüzyon hasarında biyokimyasal, nörolojik ve de histolojik açıdan daha az hasarın meydana gelebileceğini söyleyebiliriz. Sonuç olarak melatonin spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu bir etkisi olduğu kanaatindeyiz.

VII. ÖZET

İskemi, kan akımının, hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altında olması durumudur. İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan, özellikle serbest oksijen radikallerinin oluşması yolu ile ileri hasara yol açmaktadır.

Melatonin enzimatik antioksidanları aktive eder ve serbest radikalleri süpürmek için vitamin E, C, glutatyon gibi bilinen antioksidanlar ile sinerjik etki gösterir. Bu bilgilere dayanılarak çalışmamızda melatoninin, spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada toplam 30 adet ortalama ağırlığı 2,0 ile 2,5 kg olan erkek sağlıklı Yeni Zellanda türü beyaz tavşan kullanıldı. Denekler n=10 olacak şekilde, 3 grup halinde çalışıldı. Gruplar: 1-Kontrol, 2-İskemi-Reperfüzyon, 3-Tedavi grubu olarak ayrıldı. Kontrol grubu deneklere normal cerrahi prosedür uygulanırken klipaj uygulanmadı, İskemi reperfüzyon ve tedavi gruplarına cerrahi prosedür ve sol renal arter çıkışı altından abdominal aortaya klipaj uygulandı.Tedavi grubuna iskemiden önce 10mg/kg tek doz intra venöz melatonin uygulandı.Deneklerin kan ve doku örnekleri cerrahi prosedürü izleyen 48 saatlik takip sonrasında alındı. Malondialdehit, redükte glutatyon ve nitrik oksit düzeyleri biyokimyasal olarak ölçüldü. Ayrıca histolojik inceleme ve nörolojik muayenelerle de sonuçlar korele edilmeye çalışıldı.Farkları belirlemede Mann Whitney U testi kullanıldı. Melatonin uygulaması , iskemi-reperfüzyon grubunda artmış olan malondialdehit ve nitrik oksit düzeyini anlamlı olarak düşürmüştür ($p<0.05$). İskemi-reperfüzyon grubunda azalmış glutatyon düzeyi ise melatonin uygulaması sonucu anlamlı olarak artmıştır($p<0.05$). Yapılan histolojik ve nörolojik muayenelerde elde edilen bulgular da melatonin koruyucu etkisini desteklemiştir.

Sonuç olarak melatoninin iskemi-reperfüzyon hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu ve oksidatif stresten koruduğu bulunmuştur.

VIII.SUMMARY

When blood flow is not enough for cellular functions ischemia occurs. Reperfusion of ischemic tissue, recover some of lost functions during ischemia and causes big damage in ischemic tissues especially by means of free oxygen radicals.

Melatonin activates enzymatic antioxidants and show synergic effects with known as antioxidants which are vitamine E, C, glutathione to scavenge free radicals. According to these informations, in our study we investigate the effect of melatonin on spinal cord ischemia-reperfusion injury.

In the present study 30 White New Zealand male rabbits weighing 2-2,5 kg were used. 30 rabbits were divided into three groups (each containing 10). These groups are 1- Control, 2- Ischemia-Reperfusion, 3- Treatment groups. In control group only normal surgery procedure is applied. In ischemia-reperfusion and treatment group, surgery procedure and clip is applied on the abdominal aorta which is below the left renal artery exit. Before ischemia 10 mg/kg one dose intra venose melatonin was given to treatment group. After 48 hours, blood and tissues samples are taken from subjects. The levels of malondialdehyde, glutathione, nitric oxide are measured using biochemical methods. The measurement results are correlated with the results obtained from histological and neurological investigations. The differences are determined by using Mann Whitney U test.

Melatonin treatment decreases the malondialdehyde and nitric oxide levels which increase in ischemia-reperfusion group ($p<0,05$). The findings obtained from histological and neurological inspections support the melatonin protective effects.

As a result, melatonin has a protective effect on spinal cord ischemia-reperfusion injury. Also, it protects from oxidative stress.

IX. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayhan Korkmaz
Doğum Tarihi ve Yeri: 14.06.1983- Balıkesir
Uyruğu: TC
Medeni Hali: Bekar

EĞİTİM

- Gazi Üniversitesi,Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AbD.(Yüksek Lisans), Ankara (09/2004-..)
- Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi,Biyoloji Bölümü, Ankara (09/2000-06/2004)
- Karşıyaka Anadolu Lisesi, İzmir (09/1999-06/2000)
- Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi, Çorlu (09/1996-06/1999)
- 19 Mayıs Türk Maarif Koleji, Girne, Kuzey Kıbrıs (09/1994-06/1996)

ÇALIŞTIĞI PROJELER

- Hacettepe Bilimsel Araştırma Projesi No : 02 02 601 005 (Araştırmacı öğr.)
Ege, Akdeniz ve İç Anadolu Bölgelerinde toprak kazıcı arılarla taşınan nematodların biyolojik çeşitliliğinin ve dağılımının tayin edilmesi.

İLETİŞİM

Adres: Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 4. Kat Dekanlık Binası,Fizyoloji AbD. Beşevler / Ankara.

Tel : 0312 202 4716

e-mail : ayhank@gmail.com

X. REFERANSLAR

1. Livesay JJ, Cooley DA, Ventemiglia RA, et al: Surgical experience in descending thoracic aneurysmectomy with and without adjuncts to avoid ischemia. *Ann Thorac Surg* 39:37-46. (1985)
2. Crawford ES, Crawford JL, Safi HJ, et al: Thoracoabdominal aortic aneurysms: Preoperative and intraoperative factors determining intermediate and long-term results of operations in 605 patients. *J Vasc Surg* 3:389-404. (1986)
3. Svensson LG, Von Ritter CM, Groeneveld HT, et al: Cross-clamping of the thoracic aorta: Influence of aortic shunts, laminectomy, papaverine, calcium channel blocker, allopurinol, and superoxide dismutase on spinal cord blood flow and paraplegia in baboons. *Ann Surg* 204:38-47. (1986)
4. McCullough JL, Hollier LH, Nugent M: Paraplegia after thoracic aortic occlusion: Influence of cerebrospinal fluid drainage. *J Vasc Surg* 70:153-60. (1988)
5. Woloszyn TT, Marini CP, Coons MS, et al: Cerebrospinal fluid drainage and steroids provide better spinal cord protection during aortic crossclamping than does either treatment alone. *Ann Thorac Surg* 49:78-83. (1990)
6. Elmore JR, Gloviczki P, Harper CM, et al: Spinal cord injury in experimental thoracic aortic occlusion: Investigation of combined methods of protection. *J Vasc Surg* 15:789-99. (1992)
7. Granke K, Hollier LH, Zdrahal P, Moore W: Longitudinal study of cerebrospinal fluid drainage in polyethylene glycol-conjugated superoxide dismutase in paraplegia associated with thoracic aortic cross-clamping. *J Vasc Surg* 13:615-21. (1991)
8. Schitteck A, Bennink GBWE, Cooley DA, Langford LA: Spinal cord protection with intravenous nimodipine: A functional and morphologic evaluation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104:1100,5. (1992)
9. Breckwoldt WL, Genco CM, Connolly RJ, Cleveland RJ, Diehl JT: Spinal cord protection during aortic occlusion: Efficacy of intrathecal tetracaine. *Ann Thorac Surg* 51:959-63. (1991)
10. Cuevas P, Reimers D, Carceller F, Jimenez A: Ischemic reperfusion injury in rabbit spinal cord: Protective effect of superoxide dismutase on neurologic recovery and spinal infarction. *Acta Anat* 137:303-10. (1990)

11. Von Segesser L.K, Killer I, Jenni R, et al: Improved distal circulatory support for repair of descending thoracic aortic aneurysms. *Annals of Thoracic Surgery*.46: 1373-80. (1993)
12. Sander J.K, Krogager G, Petterson G: Left atrial-aortic/femoral bypass with a centrifugal pump without systemic heparin during surgery on the descending aorta. *Artif. Organs*. 19:774- 6.(1995)
13. Kirshner DL, Kirshner RL, Heggeness LM, De- Weese JA: Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion. *J Vasc Surg* 9:305-8. (1989)
14. Ersoy M, Kalkan A.İ: Anatomy and tracts of spinal cord. *J. Med. Sci*. 16:199-205. (1996)
15. Berk H: Spine anatomy. *J. Med. Surg. Sci*. 2(30):1-4. (2006)
16. Vaccaro AR: Spine Anatomy. In: Garfin SR, Vaccaro AR (ed): *Orthopedic Knowledge Update Spine*. American Academy of Orthopedic Surgery, pp: 3-17. (1997)
17. Terman GW, Bonica JJ. Spinal mechanisms and their modulation. In: Loeser JD, editor. *Bonica's management of pain*. 3rd ed. Philadelphia; Lippincott Williams&Wilkins; p. 75-152. (2001)
18. Barut Ş, Canbolat A, Bilge T, Aydın Y, Çokneşeli B, Kaya U: Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurgery Rev*. 16:53-59. (1993)
19. Sliwa J.A, Maclean I.C: Ischemic myelopathi: a rewiev of spinal vasculature and related clinical syndromes. *Arch. Phys. Med. Rehabil*. 73:365-72. (1992)
20. Dommissse G.F. The blood supply of the spinal cord. A critical vascular zone in spinal surgery. *J. Bone. Joint. Surgery*. 56:225-35. (1974)
21. Svensson L.G, Crawford E.S: Pathophysiology of aortic crossclamping and influence of spinal cord anatomy.In: Svensson L.G, Crawford E.S, eds. *Cardiovascular and vascular disease of the aorta*. U.S.A. W.B. Saunders Company. 226-47. (1997)
22. Wadouh F, Lindemann E.F, Arndt C.M, et al: The arteria radicularis magna anterior as a decisive factor influencing spinal cord damage during aortic occlusion. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 88: 1-10. (1984)
23. Jeffrey A. H, Scott E.L, Irving L.K, et al: Complete prevention of postischemic spinal cord injury by means of regional infusion with hypothermic saline and adenosine. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 107:536-42. (1994)

24. Qayumi A.K, Michael T.J, Katerina D, et al: Additive effect of allopurinol and deferoxamine in the prevention of spinal cord injury caused by aortic crossclamping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 107:1203-9. (1994)
25. 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*. 39:37-46. (1995)
26. Crawford E.S, Crawford J.L, Safi H.J: Thoracoabdominal aortic aneurysms: Preoperative and intraoperative factors determining intermediate and long-term results of operations in 605 patients. *Journal of Vascular Surgery*. 3:389-404. (1986)
27. Joseph Y.S, Thomas R.E, Gerald A., et al: Intrathecal magnesium sulfate protects the spinal cord from ischemic injury during thoracic aortic cross-clamping. *Anesthesiology*. 81:1493-9. (1994)
28. Shigeru K, Yoshihiko M, Shigeyoshi M, et al: Effect of altering cerebrospinal fluid pressure on spinal cord blood flow. *Annals of Thoracic Surgery*. 58:112-5. (1994)
29. Scott D.Ross, John A. Kern, James J. Gangemi et al: Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cools the spinal cord and reduces the risk of paraplegia after thoracic aortic clamping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 119:588-95. (2000)
30. Bruce L. Gewertz: Improvements in intraoperative care in aortic surgery. In: John J. B, James S.T. Yao. *Aortic Surgery*. U.S.A.:Sounders Company. 75-87. (1989)
31. Michael C.M, Lorne H.B, Scott E.L, et al: Prevention spinal cord injury after repair of the thoracic or thoracoabdominal aorta. *Annals of Thoracic Surgery*. 59:245-52. (1995)
32. With Jianping S: Ischemia, reperfusion, and no-reflow phenomenon. In: Svensson L.G, Crawford E.S, eds. *Cardiovascular and vascular disease of the aorta*. U.S.A. W.B. Saunders Company. 194-218. (1997)
33. Krause G.S, White B.C, Aust S.D, et al: Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence. *Critical Care Med*. 16:714-26. (1988)
34. Grace P.A. Ischemia-reperfuzyon injury. *British Journal of Surgery*. 81:637-47. (1994)

35. Braughler J.M, Hall E.D: Central nervous system trauma and stroke. Biochemical considerations for oxygen radical formation and lipid peroxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 6:289-301. (1989)
36. Brone G.W, Joob A.W, Flanagan T.L, et al: The effect of hyperemia on spinal cord function after temporary thoracic aortic occlusion. *Journal of Vascular Surgery.* 8:535-40. (1988)
37. Svensson L.G, Von Ritter C.M, 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.* 206:38-47. (1986)
38. Jacobs T.P, Kempinski O, McKinley D, et al: Blood flow and vascular permeability during motor dysfunction in a rabbit model of spinal cord ischemia. *Stroke.* 23:367-73. (1992)
39. Moore W.M Jr, Hollier L.H: The influence of severity of spinal cord ischemia in the etiology of delayed-onset paraplegia. *Annals of Surgery.* 213:427-31. (1991)
40. Farid C, Joel L, Mary J.D, et al: Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Chest.* 109:799-809. (1996)
41. Svensson L.G, Crawford E.S, Hess K.R: Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *Journal of Vascular Surgery.* 17:357-70. (1993)
42. Hollier L.H, Symmonds J.B, Pairolero P.C: Thoracoabdominal aortic aneurysm repair: analysis of postoperative morbidity. *Arch. Surgery.* 123:871-5. (1988)
43. Najafi H: Descending aortic aneurysmectomy without adjuncts to avoid ischemia. *Annals of Thoracic Surgery.* 55:1042-45. (1993)
44. 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.* 81:669-74. (1981)
45. Kirklin J.W, Brian G: Barratt-Boyes. *Cardiac Surgery* second ed. New York: Churchill Livingstone. 1749- 76. (1993)
46. Nicholas T.K: Spinal cord ischemic injury: Is it preventable? *Seminars in Thoracic Cardiovascular Surgery.* 3:323- 8. (1991)
47. 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*. 13:355-65. (1991)
48. Sun J, Hirsch D, Svensson G: Spinal cord protection by papaverine and intrathecal cooling during aortic crossclamping. *J. Cardiovascular Surgery (Torino)*. 39: 839-42. (1988)
49. Maughan R.E, Mohan C, Nathan I.M: Intrathecal perfusion of an oxygenated perfluorocarbon prevents paraplegia after aortic occlusion. *Annals of Thoracic Surgery*. 54:818-25. (1992)
50. Blaisdell F.W, Cooley D.A: The mechanism of paraplegia after temporary thoracic aortic occlusion and its relationship to spinal fluid pressure. *Surgery*. 51:351- 55. (1962)
51. 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*. 16:188-97. (1960)
52. Safi HJ, Winnerkvist A, Miller CC et al. Effect of extended cross-clamp time during thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Ann. Thorac. Surg*. 66:1204-9. (1988)
53. Svensson L.G, Hess K.R, Diagostino RS et al: Reduction of neurologic injury high risk thoracoabdominal aortic operation. *Ann. Thorac. Surgery*. 66:132-8. (1988)
54. 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*. 48:597-600. (1990)
55. Schitteck A, Bennink B, Cooley D.A, et al: Spinal cord protection with intravenous nimodipine: a functional and morphologic evaluation. *Journal of Thoracic and Cardiovas. Surgery*. 104:1100-5. (1992)
56. Tobinaga S: Spinal cord protection: effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist Mk-801 for spinal cord ischemia in a rabbit model. *J. Kurume Med*. 47: 45-53. (2000)
57. Martin G, Marek E, Paul S, et al: Thoracoabdominal aneurysm repair: Spinal cord protection using profound hypothermia and circulatory arrest. *Journal of Cardiac Surgery*. 9:679-84. (1994)
58. Svensson L.G, Crawford E.S: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations, and statistical analyses. *Current Problems in Surgery* 3-125. (1993)

59. Chris K. R, Christopher S.C, Takashi N, et al: Profound systemic hypothermia inhibits the release of neurotransmitter amino acids in spinal cord ischemia: Cardiopulmonary bypass, myocardial management, and support techniques. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 110: 27-35. (1995)
60. 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*. 9:525-37. (1994)
61. Norwood W.I, Norwood 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*. 78: 823-30. (1979)
62. Douglas P.G, Ronald J.S: Occlusive disease of the upper abdominal aorta. *Seminars in Vascular Surgery*. 5:174-79. (1992)
63. Coghlan J.G, Fliter W.D, Glutton S.M, et al: Allopurinol pretreatment improves postoperative recovery and reduces lipid peroxidation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 107: 248-56. (1994)
64. Braughler JM, Hall ED. Involvement of lipid peroxidation in CNS injury. *J Neurotrauma* 9:1-7. (1992)
65. Puniak MA, Freeman GM, Agresta CA, et al. Comparison of a serotonin antagonist, opioid antagonist, and TRH analog for the acute treatment of experimental spinal trauma. *J Neurotrauma* 8:193-203. (1991)
66. Antoni FA, Shupston MJ, Smith SM. Inhibitory role for calcineurin in stimulus-secretion coupling revealed by FK506 and cyclosporin A in pituitary corticotrope tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 194:226-233. (1993)
67. Grabitz K, Freye E, Prior R, et al. The role of superoxide dismutase (SOD) in preventing postischemic spinal cord injury. *Adv Exp Med Biol* 264:13-16. (1990)
68. Ratan RR, Murphy TH, Baraban JM. Oxidative stress induced apoptosis in embryonic cortical neurons. *J Neurochem* 62:376-379. (1994)
69. Kwak EK, Kim JW, Kang KS, Lee YH, Hua QH, Park TI, Park JY, Sohn YK. The role of inducible nitric oxide synthase following spinal cord injury in rat. *J Korean Med Sci*. 20(4):663-9. (2005)
70. Panter SS, Yum SW, Faden AI. Alteration in extracellular amino acids after traumatic spinal cord injury. *Ann Neurol* 27:96-99. (1990)

71. Faden AI, Ellison JA, Nobel LJ. Effects of competitive and noncompetitive NMDA receptors antagonists in spinal cord injury. *Eur J Pharmacol* 175:65-174. (1990)
72. Faden AI. Opioid and nonopioid mechanisms may contribute to dynorphin's pathophysiological actions in spinal cord injury. *Ann Neurol* 27:67-74. (1990)
73. Ogata T, Nakamura Y, Tsji K, et al. Steroid hormones protect spinal cord neurons from glutamate toxicity. *Neuroscience* 55:445-449. (1993)
74. Horrocks LA, Demediuk P, Saunders RD, et al. The degradation of phospholipids, formation of metabolites of arachidonic acid, and demyelination following experimental spinal cord injury. *Cent Nerv Syst Trauma* 2:115-120. (1985)
75. Holl ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg* 64:951-961. (1986)
76. Siegal T, Siegal T, Lossos F. Experimental neoplastic spinal cord compression: Effect of anti-inflammatory agents and glutamate receptor antagonists on vascular permeability. *Neurosurgery* 26:967-970. (1990)
77. Villa P, Miehle M, Sensenbrenner M, et al. Synthesis of specific proteins in trophic factor-deprived neurons undergoing apoptosis. *J Neurochem* 62:1468-1475. (1994)
78. Pittman RN, Wang S, DiBenedetto AJ, et al. A system for characterizing cellular and molecular events in programmed neuronal cell death. *J Neurosci* 13:3669-3680. (1993)
79. Holder MJ, Knox K, Gordon J. Factors modifying survival pathways of germinal center B cells: Glucocorticoids and transforming growth factor-beta, but not cyclosporin A or anti-CD19, block surface immunoglobulin-mediated rescue from apoptosis. *Eur J Immunol* 22:2725-2728. (1992)
80. Anderson DK, Means ED. Free radical-induced lipid peroxidation in spinal cord: FeCL₂ Induction and protection with antioxidants. *Neurochem Pathol* 1:249-264. (1983)
81. Faden AI, Lemke M, Demediuk P. Effects of BW755C, a mixed cyclooxygenase-lipoxygenase inhibitor, following traumatic spinal cord injury in rats. *Brain Res* 463: 63-68. (1988)
82. Hayes KC, Potter PJ, Wolfe DL, et al. 4-Aminopyridine in patients with spinal cord injury. *J Neurotrauma* 11:433-46. (1994)
83. Alhaider AA, Lei SZ, Wilcox GL. Spinal 5-HT₃ receptormediated antinociception: Possible release of GABA. *J Neurosci* 11:1881-1888. (1991)

84. Ngassapa D, Narhi M, Hirvonen T. Effect of serotonin (5- HT) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) on the function of intradental nerves in the dog. *Proc Finn Dent Soc* 1:143-148. (1992)
85. Dunn DE, Herold KC, Otten GR, et al. Interleukin 2 and concanavalin A stimulate interferon-gamma production in a murine cytolytic T cell clone by different pathways. *J Immunol* 139:3942-3948. (1987)
86. Schnell L, Schneider R, Kolbeck R, et al. Neurotrophin-3 enhances sprouting of corticospinal tract during development and after adult spinal cord lesion. *Nature* 367:170-173. (1994)
87. Borgens RB, Blight AR, McGinnis ME. Functional recovery after spinal cord hemisection in guinea pigs: The effects of applied electric fields. *J Comp Neurol* 296: 634-653. (1990)
88. Saville, L.R. Pospisil, C.H.Mawhinney, et al. A monoclonal antibody to CD11d reduces the inflammatory infiltrate into the injured spinal cord: a potential neuroprotective treatment. *Journal of Neuroimmunology* 156 (1/2): 42. (2004)
89. Hasegawa M, Rosenbluth J. Transplantation of labeled fetal spinal cord fragments into juvenile myelin-deficient rat spinal cord. *Anat Rec* 229:138-143. (1991)
90. Spetzler RF, Graham TW, 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*. Springer-Verlag Press, Sendai, pp. 231-5. (1987)
91. Singh S, Hider RC. Therapeutic iron-chelating agents. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. *Free radical damage and its control*. Elsevier Science Press, England pp.189-215 (1994)
92. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. *J Neurosurg* 77:169-84. (1992)
93. 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*, Springer-Verlag Press, Sendai, pp.237-9. (1987)
94. Siesjö BK. Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci* 522: 638-61. (1988)
95. Thilmann R, Xie Y, Kleihues P, Kiessling M. Persistent inhibition of protein synthesis precedes delayed neuronal death in post-ischemic gerbil hippocampus. *Acta Neuropathol*, 71: 88-93. (1989)
96. Heiss WD, Graf R. The ischemic penumbra. *Current Opinion in Neurology*, 7: 11-19. (1994)

97. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. Principles of biochemistry, Worth Publishers Inc. , New York,ed 2.pp.268-97. (1993)
98. Kumagae Y, Matsui Y. Output, tissue levels, and synthesis of acetylcholine during and after transient forebrain ischemia in the rat. *J. eurochem* 56:1169-73. (1993)
99. Sano 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 Sringer-Verlag Press, Sendai, pp.13-26. (1987)
100. Watkins JC, Olverman HJ. Agonists and antagonists for excitatory amino acid receptors. *Trends Neurosci* 10: 265-72. (1987)
101. 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 Cell Cardiol* 17:1029-42. (1985)
102. Siesjö BK, Katsura KI, Zhao Q, Folbergrova J, Pahlmark K. Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia: a speculative synthesis. *J Neurotrauma* 12 (5): 943-56. (1995)
103. White BC, Grossmann LI, Krause GS. Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology* 43: 1656-65. (1993)
104. 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* 61: 1677-84. (1993)
105. 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, 361-81. (1994)
106. Morimoto K, Yanagihara T. Cerebral ischemia in gerbils: polyribosomal function during progression and recovery *Stroke* 12: 105-10. (1981)
107. İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Lizozomal proteolitik aktivitenin beyin dokusunda penumbral ve derin iskemi-reperfüzyonunda karşılaştırılması *Ege Tıp Dergisi* 37(3-4): 163-6. (1998)
108. 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* 87 (5):716-23. (1997)
109. Frei B. Molecular and biological mechanisms of antioxidant action *FASEB J* 13:963-4. (1999)

- 110.Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg.* 161: 488-502. (1991)
- 111.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* 14 (8):777-83. (1985)
- 112.Feuerstein GZ, Liu T, Barane FC. Cytokines, inflammation and brain injury role of tumor necrosis factor- α *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 6: 341-60. (1994)
- 113.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, 251-5. (1987)
- 114.İşlekel H, İşlekel S, Güner G, Özdamar N. Evaluation of lipid peroxidation cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia-reperfusion. *Brain Res* 843:18-24. (1999)
- 115.Rice-Evans CA, Bruckdorfer KR. *Oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction*, Portland Press, London, pp.161-80. (1995)
- 116.Arendt J. The Pineal Gland: Basic Physiology and Clinical Implications. In: DeGROOT LJ, eds. *Endocrinology*. 3rd. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 433-42. (1995)
- 117.Schmidt F, Penka B, Trauner M ve ark. Lack of Pineal Growth During Childhood. *J Clin Endocrinol & Metab.* 80(5): 1882-6. (1995)
- 118.Lane AE, Moss HB. Pharmacokinetics of melatonin in man: First pass hepatic metabolism. *J Clin Endocrinol & Metab.* 61: 1214-6. (1985)
- 119.Cavallo A, Ristchel WA. Pharmacokinetics of Melatonin in Human Sexual Maturation. *J Clin Endocrinol & Metab.* 81(5): 1221-5. (1996)
- 120.Weaver DR, Stehle JH, Stopa EG ve ark. Melatonin Receptors in Human Hypothalamus and Pituitary: Implications for Circadian and Reproductive Responses to Melatonin. *J Clin Endocrinol & Metab.* 76(2): 295-300. (1993)
- 121.Morgan PJ, Williams LM. Central melatonin receptors; implications for a mode of action. *Experientia* 45: 955-65. (1989)
- 122.Sugden D, Chong NWS. Pharmacological identity of 2-(125-I) iodomelatonin binding sites in chicken brain and sheep pars tuberalis. *Brain Res.* 539; 151-4. (1991)
- 123.Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 29: 205- 229. (1988)

124. Gupta DD, Riedel L, Frick JH ve ark. Circulating melatonin in children: In relation to puberty, endocrine disorders functional tests and racial origin. *Neuroendocrinol Lett.* 5: 63-78. (1983)
125. Iguchi M, Kato K, Ibayashi M. Age dependent reduction in serum melatonin concentration in healthy human subjects. *J Clin Endocrinol & Metab.* 55: 27-9. (1982)
126. Waldhauser F, Weiszenbacher G, Tatzer E ve ark. Alternations in Nocturnal Serum Melatonin Levels in Humans with Growth and Aging. *J Clin Endocrinol & Metab.* 66(5): 648-52. (1988)
127. Rusak B, Zucker I. Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol Rev.* 59: 449-526. (1979)
128. Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK ve ark. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 210: 1267-9. (1980)
129. Weaver DR, Reppert SM. Maternal melatonin communicates daylength to the fetus in Djungarian hamsters. *Endocrinology* 119: 2861-3. (1986)
130. Cavallo A, Richards GE, Smith ER. Relation Between Nocturnal Melatonin Profile and Hormonal Markers of Puberty in Humans. *Horm Res.* 37: 185-9. (1992)
131. Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I ve ark. Increased Nocturnal Melatonin Secretion in Male Patients with Hypogonadotropic Hypogonadism and Delayed Puberty. *J Clin Endocrinol & Metab.* 80(7): 2114-8. (1995)
132. Salti R, Galluzzi F, Bindi G ve ark. Nocturnal Melatonin Patterns in Children. *J Clin Endocrinol & Metab.* 85(6): 2137-44. (2000)
133. Arendt J, Labib MH, Bojkowski C ve ark. Rapid Decrease in Melatonin Production During Successful Treatment of Delayed Puberty. *The Lancet* 10: 1326. (1989)
134. Mortola JF, Laughlin GA, Yen SS. Melatonin Rhythms in Women with Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa. *J Clin Endocrinol & Metab.* 77(6): 1540-3. (1993)
135. Cagnacci A, Elliot JA, Yen SS. Amplification of Pulsatile LH Secretion by Exogenous Melatonin in Women. *J Clin Endocrinol & Metab.* 73(1): 210- 2. (1991)
136. Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Amplification of Nocturnal Melatonin Secretion in Women with Functional Hypothalamic Amenorrhea. *J Clin Endocrinol & Metab.* 66(1): 242-4. (1988)

- 137.Voordouw BC, Euser R, Verdonk RE ve ark. Melatonin and Melatonin-progestin Combinations Alter Pituitary- Ovarian Function in Women and Can Inhibit Ovulation. *J Clin Endocrinol & Metab.* 74(1): 108-16. (1992)
- 138.Okatani Y, Morioka N, Wakatsuki A. Changes in Nocturnal Melatonin Secretion in Perimenopausal Women: Correlation with Endogenous Estrogen Concentrations. *J. Pineal Res.* 28: 111-8 (2000)
- 139.Badia P, Myers B, Murphy P. Melatonin and Termoregulation. In Reiter RJ, Yu HS eds. *Melatonin: Biosynthesis, Physiological Effects and Clinical Applications.* , CRC Press, Boca Raton, FL. (1992)
- 140.Nickelsen T, Lang A, Bergau L. The effect of 6-, 9- and 11-hour time shifts on circadian rhythms: Adaptation of sleep parameters and hormonal patterns following the intake of melatonin or placebo. *Adv Pineal Res.* 5: 303-6. (1991)
- 141.Kirby AW, Clayton M, Rivera P ve ark. Melatonin and the Reduction or Alleviation of Stress. *J. Pineal Res.* 27: 78-85. (1999)
- 142.Folkard S, Arendt J, Clark M: Can Melatonin Improve Shiftworkers Tolerans of the Night Shift? Some Preliminary Findings. *Chronobiology International*, 10, 315-320 (1993).
- 143.Dahlitz M, Alvarez B, Vignau J ve ark. Delayed Sleep Phase Syndrome Response to Melatonin. *Lancet* 1: 1121-4. (1991)
- 144.Arendt J, Aldhous M. Synchronisation of a Disturbed Sleep-wake Cycle in a Blind Man by Melatonin Treatment. *Lancet* 2: 772-3. (1988)
- 145.Waldhauser F, Lieberman HR, Lynch HJ ve ark. A Pharmacological Dose of Melatonin Increases PRL Levels in Male without Altering Those of GH, LH, FSH, TSH, Testosterone or Cortisol. *Neuroendocrinology* 46: 125-30. (1987)
- 146.Strassman RJ, Peake GT, Qualls CR. Lack of an Acute Modulatory Effect of Melatonin on Human Nocturnal Thyrotropin and Cortisol Secretion. *Neuroendocrinology* 48: 387-93. (1988)
- 147.Arendt J. Melatonin-a new Probe in Psychiatric Investigation. *Br J Psychiatry* 155: 585-90. (1989)
- 148.Lewy Aj, Sack RL, Miller LS ve ark. Anti-depressant and Circadian Phase-shifting Effects of Light. *Science* 235: 352-4. (1987)
- 149.Rosenthal NE, Sack DA, Gillin JC ve ark. Seasonal Affective Disorders. A Description of the Syndrome and Preliminary findings with Light Therapy. *Arch Gen Psychiatry* 41: 72-9. (1984)
- 150.Armstrong SM, Redman JR. Melatonin: A Chronobiotic with Anti-Aging Properties? *Medical Hypotheses* 34: 300-9. (1991)

- 151.Cohen M, Lippman M, Chabner B. Role of pineal gland in aetiology and treatment of breast cancer. *Lancet* 2: 814-6. (1978)
- 152.Karasek M, Fraschini F. Is there a Role for the Pineal Gland in Neoplastic Growth? In: Fraschini F, Reiter RJ eds. *Role of Melatonin and Pineal Peptides in Neuroimmunomodulation*. New York, Plenum Press 243-51. (1991)
- 153.West RJ, Leonard JV. Familial Insulin Resistance with Pineal Hyperplasia: Metabolik Studies and Effect of Hypophysectomi. *Arch Dis Child* 55: 619-21. (1980)
- 154.Sturner WQ, Lynch HJ, Deng MH ve ark. Melatonin Levels in the Sudden Infant Death Syndrome. *Forensic Sci Intern* 45: 171-80. (1990)
- 155.Kappers JA. Innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. *Anat Record*. 136: 220-1. (1960)
- 156.Horowitz MB. Central nervous system germinomas. *Arch Neurol* 48: 652-7. (1991)
- 157.Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 221:220-35. (1995)
- 158.Moncada S, Palmer RMJ, Higgs AE. Nitric oxide: Physiology, pathophysiolgy and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43:109-42. (1991)
- 159.Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. *Nature* 327:524-6. (1987)
- 160.Kuo P, Slivka A, Loscalzo J. Nitric oxide decreased free radical associated hepatocyte injury. *J Surg Res* 56:594-600. (1994)
- 161.Özden A, Karaca A, Bigihan A, Yumbul Z, Türközkan N. Ratlarda 60 dakika karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında pentoksifilin ve L-arginin.in koruyucu etkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 12:249-54. (1996)
- 162.Kaufman HS, Shermak MA, May CA, Pitt HA, Lillemoe KD. Nitric oxide inhibits resting sphincter of Oddi activity. *Am J Surg* 165:74-80. (1993)
- 163.Kolb H, Kolb-Bachofen V. Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and nitric oxide. *Diabetologia* 40:796- 7. (1992)
- 164.Kroncke KD, Kolb-Bachofen V, Berschick B. Activated macrophages kill pancreatic syngeneic islet cells via arginine- dependent nitric oxide generation. *Biochem Biophys Res Commun* 175:752-8. (1991)
- 165.Tarlov IM. Acute spinal cord compression in paralysis. *J Neurosurg* 36:10-20. (1972)

- 166.Casini A, Ferrali M, Pompelam A, Maellaro A, Comborti M. Lipid peroxidation nad cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene intoxicated mice. *Am. J. Pathol.* 123: 520-531. (1986)
- 167.Kurtel H, Granger D.M, TsoP, Grisham M.B. Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress. *Am. J. Phsiol.* 263: 573-578. (1992)
- 168.Aykaç G, Uysal M, Yalçın A.S, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide,glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 36: 71-76 (1985)
- 169.Miranda KM, Espey MG, Wink DA, Nitric Oxide: *Biol and Chem*, 5(1) :62-71. (2001)
- 170.Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* 24(5): 265-279. (2001)
- 171.Tator CH in. Wilkins RH, Rengachary SS (ed): *Neurosurgery*.McGraw-Hill, 2 nd edition, Philadelphia pp2847-2859. (1996)
- 172.Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 44 (5)1027-1040. (1999)
- 173.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.* 117:881-89. (1999)
- 174.Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1:623-34. (1998)
- 175.Wang MJ, Huang HM, Hsieh SJ, Jeng KC, Kuo JS. Resveratrol inhibits interleukin-6 production in cortical mixed glial cells under hypoxia/hypoglycemia followed by reoxygenation. *J Neuroimmunol* 112:28-34. (2001)
- 176.Lerner AB, Case JD, Takahashi Y. Isolation of melatonin the pineal gland factors that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 80: 2587. (1958)
- 177.Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. Antioxidant capacity of melatonin: A novel action not requiring a receptor. *Neuroendocrinol Lett* 15:103-16. (1993)
- 178.Tan DX, Chen LD, Poeggeler LC. Melatonin : a potent endogenous hidroxyl radical scavenger. *Endocrine J* 1: 57-60. (1993)
- 179.Reiter RJ: Pineal function during aging: Attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta Neurobiol Exp* 54(Suppl):31-9. (1994)

- 180.Reppert SM,Klein DC. Transport of maternal melatonin to suckling and the fate of melatonin in the neonatal rat. *Endocrinology* 102: 582-8. (1978)
- 181.Waldenling E, Gustafsson SA, Ekblom K, Wetterberg L. Circadian secretion of cortisol and melatonin in cluster headache during active cluster periods and remission. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 50: 207-14. (1987)
- 182.Berker M. Deneysel pinealektominin ve fetal pineal bez transplantasyonunun kollagen yaşlanması üzerine etkisi. Uzmanlık tezi çalışması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilimdalı, Ankara, (1994)
- 183.Koçak A. Pinealektomize ve non-pinealektomize ratlarda oluşturulan deneysel kafa travmasında melatoninin antioksidan etkisinin gösterilmesi. Uzmanlık tezi çalışması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilimdalı, Ankara, (1996)
- 184.Tan DX, Pöeggeler B, Reiter RJ. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. *Cancer Letters* 70: 65-71. (1993)
- 185.Chen LD, Melchiorri D, Sewerynek E. Retinal lipid peroxidation in vitro is inhibited by melatonin. *Neuro Res Comm* 17: 151-8. (1995)
- 186.Pierrefiche G, Topal G, Courboin G. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Comm Chem Path Pharm* 80: 211-23. (1993)
- 187.Tang PL, Xu MF, Qian ZM. Differential behaviour of cell membranes towards iron-induced oxidative damage and the effect of melatonin. *Biol Signals* 6(4-6): 291-300. (1997)
- 188.Melchiorri D, Reiter RJ, Attia AM. Potent protective effect of malatonin on in vivo paraquat- induced oxidative damage in rats. *Life Sci* 56(2): 83-9. (1994)
- 189.Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease, free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47:412-6. (1982)
- 190.Della Corte E, Stirpe F. The regulation of rat xanthine oxidase. *Biochem J* 126:739-45. (1972)
- 191.Lucchesi BR. Reperfusion injuries and clinical capillary leak syndrome. Futura Publishing Company; Armonk, NY. (1994)
- 192.Frangogiannis NG, Lindsey ML, Michael LH, Youker KA, Bressler RB, Mendoza LH, et al. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/ reperfusion. *Circulation* 98: 699-710. (1998)
- 193.Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, et al. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res* 45: 651-60. (2000)

- 194.**Criolo MR, Fişkın K, Martino AD, Corasaniti MT. Age-related changes in Cu, Zn, superoxide dismutase, Se-dependent and independent glutathione peroxidase and catalase activities in specific areas of rat brain. *Mech Ageing Dev* 61: 287-97. (1991)
- 195.**Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Damage. *Clin Chem* 41/12: 1819-28. (1995)