

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA İLİ 2. BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
GENEL SEKRETERLİĞİ
ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
NÖROŞİRÜRJİ KLİNİĞİ**

İdari ve Eğitim Sorumlusu: Prof. Dr. Murad BAVBEK

**DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMA MODELİNDE
TADALAFİLİN ETKİNLİĞİNİN FONKSİYONEL VE
BİYOKİMYASAL İNCELENMESİ**

**Uzmanlık Tezi
Dr. Salim ŞENTÜRK**

Ankara, 2012

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANKARA İLİ 2. BÖLGE KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
GENEL SEKRETERLİĞİ
ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
NÖROŞİRÜRJİ KLİNİĞİ**

İdari ve Eğitim Sorumlusu: Prof. Dr. Murad BAVBEK

**DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMA MODELİNDE
TADALAFİLİN ETKİNLİĞİNİN FONKSİYONEL VE
BİYOKİMYASAL İNCELENMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Salim ŞENTÜRK

Tez Danışmanı

Op. Dr. Ahmet Gürhan GÜRÇAY

Ankara, 2012

TEŞEKKÜR

Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji kliniğinde asistanlık eğitimi sürem boyunca asistanları olarak çalışmaktan onur duyduğum, bilgi, birikim ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Murad BAVBEK ve Doç. Dr. Ethem BEŞKONAKLI'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimi boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlanarak mesleki gelişimime katkıda bulunan şef yardımcımız Op. Dr. Mahmut TOKYAY'a, bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan her türlü sıkıntıda yanımda bulunan değerli ağabeyim Doç. Dr. Ömer Faruk TÜRKOĞLU'na, asistanlığımın 3. yılına kadar birlikte çalıştığım ve bu sürece bilgi ve tecrübelerini bize aktaran değerli ağabeylerim Doç. Dr. M.Özerk OKUTAN ve Doç. Dr. İhsan SOLAROĞLU'na, birlikte çalıştığım 2 yıl süre boyunca daima yanımda olan, bilgi ve tecrübesini bizimle paylaşan aynı zamanda tez danışmanım olan değerli ağabeyim Op. Dr. Ahmet Gürhan GÜRÇAY'a, kliniğimiz uzmanlarından Op. Dr. H. Tayfun BALIM'a ve Op. Dr. Ercan BAL'a, asistanlığımın son yılında birlikte çalışma fırsatı bulduğum bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan değerli ağabeylerim Op. Dr. Gıyas AYBERK, Op. Dr. Hakan TOSUN ve Op. Dr. Naci ALTUNDAL'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım değerli çalışma arkadaşlarım Op. Dr. Mustafa KARAKUŞ, Op. Dr. Barış SAYGILI, Op. Dr. İsmail İŞTEMEN, Op. Dr. Gökhan GÜNDOĞDU, Dr. Yaşar ÖZTÜRK, Dr. Erkin GONCA, Dr. Sevil ÖZKAN, Dr. Mahmut FERAT, Dr. Hümeysra ŞİŞİK, Dr. Cevat AKINCI, Dr. Pınar URAL, Dr. İsmail BOZKURT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım servis, yoğun bakım ve ameliyathane hemşire ve çalışanlarına, tezimin hazırlanması sürecinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hakan EROĞLU'na ve tezimin istatistik aşamasında katkıda bulunan değerli ağabeyim Uz. Dr. Yılmaz SEZGİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen, daima yanımda bulunan, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim anneme, babama ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Salim ŞENTÜRK

Ankara, 2012

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLOLAR LİSTESİ	vii
RESİMLER LİSTESİ	viii
GRAFİKLER LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. Omurilik Travmasının Tarihçesi	1
2.2. Etiyoloji ve İnsidans	3
2.3. Omurilik Embriyolojisi	3
2.4. Omurilik Anatomisi.....	5
2.4.1. Omuriliğin Dış Yapısı.....	5
2.4.2. Omuriliğin İç Yapısı	9
2.4.3. Omuriliğin Vasküler Yapısı.....	12
2.5. Deneysel Omurilik Travması	15
2.6. Omurilik Travmasında Patofizyoloji.....	15
2.6.1. Primer Yaralanma	16
2.6.2. Sekonder Yaralanma.....	17
2.6.2.1. İmmün Sistem Aracılı Spinal Kord Hasarı	18
2.6.2.2. Serbest Radikal Oluşumu ve Lipid Peroksidasyonu	21
2.6.2.3. Glutamat ve Eksitotoksisite	23
2.6.2.4. Apoptotik Hücre Ölümü	25

2.6.2.4.1. Apoptotik Hücrede Gözlenen Morfolojik Değişiklikler	26
2.6.2.5. Yaşayan Aksonların Demiyelinizasyonu	27
2.6.2.6. Lokal Vasküler Hasar	27
2.6.2.7. Travmatize Spinal Kordda TNF- α Üretimi.....	29
2.6.2.8. İyonik Homeostazideki Değişiklikler	31
2.6.2.9. Hücre İçine Aşırı Kalsiyum Girişi	32
2.6.2.10. Opioid Peptidlerin Lokal Salınımı	33
2.6.2.11. Nitrit Oksit	34
2.6.3. Sekonder Hasarın Kontrolü Çalışmaları.....	35
2.7. Spinal Kord Yaralanmasının Patolojisi	36
2.7.1. Spinal Kord Yaralanmasının Akut Dönem Patolojisi.....	36
2.7.2. Spinal Kord Yaralanmasının Subakut Dönem Patolojisi.....	37
2.7.3. Spinal Kord Yaralanmasının Kronik Dönem Patolojisi	37
3. MATERYAL	39
4. METOD	43
4.1. Anestezi	43
4.2. Cerrahi işlem	43
4.3. Travma Oluşturulması	45
4.4. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi	46
4.5. Perfüzyon ve Spinal Kordun Çıkarılması.....	46
4.6. Biyokimyasal Değerlendirme.....	47
4.7. İstatistiksel Analiz	49
5. BULGULAR.....	50
5.1. Fonksiyonel Nörolojik iyileşme Sonuçları.....	50
5.2. Biyokimyasal Sonuçlar.....	51
6. TARTIŞMA	54
7. SONUÇ	58
8. KAYNAKLAR	59

ÖZET

Bu çalışmada; bir fosfodiesteraz tip 5 enzim inhibitörü olan tadalafilin spinal travma uygulanan ratlardaki etkinliği değerlendirildi. Değerlendirme fonksiyonel nörolojik muayene ve biyokimyasal testlerle yapıldı.

20 adet erkek Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Tadalafil grubu (n=7), laminektomi + travma grubu(n=7) ve sadece laminektomi yapılan grup(n=6) olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Tadalafil grubuna normal fare yemi ve içme suyu yanında 1 hafta boyunca günlük 10 mg/kg dozunda oral yoldan tadalafil verildi.

Bütün grupların spinal kordları azami dikkat gösterilerek açığa çıkarıldı. Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Metodu ile ratlarda spinal travma oluşturuldu. Tadalafil ve LT(laminektomi+travma) gruplarına, oluşturulan standart düzenekle 10 cm. yüksekten 5 gr. ağırlığında ağırlık düşürüldü. Laminektomi yapılan grup ek işlem yapılmadan kapatıldı. 1 gün sonra ratların fonksiyonel nörolojik değerlendirmesi yapıldıktan sonra sırtları tekrar açıldı ve spinal kordlarından 1 cm'lik doku örneği alındı.

Fonksiyonel nörolojik değerlendirme Modifiye Tarlov Testi'ne göre yapıldı. Modifiye Tarlov Testi tadalafil grubunda LT grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Biyokimyasal değerlendirmede, MDA ve inflamatuvar süreçte görevli sitokinlerden IL-6 ve TNF- α düzeyleri incelendi. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyi tadalafil grubunda LT grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. TNF- α , IL-6 düzeyleri de tadalafil grubunda, laminektomi + travma grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. Bu çalışma ile spinal travma uygulanan ratlarda tadalafil kullanımının nörolojik muayene ve biyokimyasal sonuçlarda anlamlı derecede düzelme oluşturduğu görüldü.

ABSTRACT

In this research, the effect of Tadalafil; a type V phosphodiesterase enzyme inhibitor on rats with spinal trauma was evaluated. The evaluation consisted of neurological examination and biochemical parameters.

Twenty healthy male Wistar-Albino rats were used in this study. They were separated into three groups; Tadalafil receiving group (n=7), laminectomy and trauma group (n=7) and just laminectomy group (n=6). The Tadalafil group received daily dose of Tadalafil 10mg/kg for a week along with bait and water.

Each rat's spinal cord was dissected with utter caution. The spinal cord was traumatized by Allen's weight drop method. Using a Standard apparatus 5 gr of weight was dropped from a height of 10 cm on the spinal cords of the Tadalafil and LT (laminectomy + trauma) group. No extra maneuvers were conducted on the laminectomy group. A day later the rat's functional neurological status was examined followed by re-exploration of the spinal cord for 1cm of tissue sampling.

The Tarlov Scale was used to evaluate the functional neurological status. The Modified Tarlov Scale was rated significantly higher in the Tadalafil group than the LT group. For the biochemical parameters, MDA and cytokines such as IL-6 and TNF- α involved in the inflammatory process were examined. MDA – an indicator of lipid peroxidation – was found to be significantly lower in the Tadalafil group compared with the LT group. TNF- α and IL-6 levels were also found to be lower in the Tadalafil group compared with the LT group. Shortly, this research showed that the used of Tadalafil group in spinal trauma resulted in better neurological outcome and significant improvement in biochemical parameters.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Şerafettin Sabuncuoğlu'nun disloke omurgalarda redüksiyonu gösteren şeması	2
Şekil 2.2: 20 günlük embrio	4
Şekil 2.3: Serebral, serebellar ve omurilik dokusu bütün olarak gösterilmektedir	5
Şekil 2.4: Medulla spinalis ve anatomik genişlemeleri.....	6
Şekil 2.5: Medula spinalisin horizontal kesiti	7
Şekil 2.6: Spinal zarlar	8
Şekil 2.7: Medulla spinalis zarları ve dentikulat ligaman	8
Şekil 2.8: Medulla spinalis Rexed Laminaları (servikal bölge)	10
Şekil 2.9: Medulla spinaliste çıkan ve inen yollar	12
Şekil 2.10: Medulla spinalisin arteriyal beslenmesi ve venöz drenajı	13
Şekil 2.11: Vertebranın venöz drenajı.....	14
Şekil 2.12. Hidroksil radikali hücreyi oluşturan bütün yapılarla reaksiyona girerek sekonder hasar mekanizmalarında görev almaktadır	23
Şekil 2.13: Apoptozis ve fagositoz	26
Şekil 3.1: Tadalafilin moleküler yapısı($C_{22}H_{19}N_3O_4$)	41

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Hücre içine aşırı Ca^{++} girişine bağlı meydana gelen olaylar.....	32
Tablo 4.1: Modifiye Tarlov Skalası	46
Tablo 5.1: TD, LT, L gruplarında modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarının dağılımları.....	50
Tablo 5.2: TD, LT, L gruplarında IL-6, TNF- α ve MDA değerlerinin ortalamalarının dağılımları	51

RESİMLER LİSTESİ

- Resim 4.1: Sedasyon ardından sırtı tıraş edilen rat tahta üzerine prone pozisyonda fikse edildi. 44
- Resim 4.2: Laminektomi sonrası dura açığa çıkarıldı..... 44
- Resim 4.3: Hazırlanan standart düzenekle açık olan dura üzerine ağırlık düşürüldü..... 45



GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 5.1: TD, LT, L gruplarında modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarının dağılımı	51
Grafik 5.2: TD, LT, L gruplarında IL-6 değerlerinin ortalamalarının dağılımı(pg/ml).....	52
Grafik 5.3: TD, LT, L gruplarında TNF- α değerlerinin ortalamalarının dağılımı(pg/ml).....	53
Grafik 5.4: TD, LT, L gruplarında MDA değerlerinin ortalamalarının dağılımı (μ M/mg)	53

KISALTMALAR LİSTESİ

AMPA	: α -Amino-3-Hydroxyl-5-Methyl-4-Isoxazolepropionate
ASA	: Anterior Spinal Arter
ATP	: Adenozin Trifosfat
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CO	: Karbon Monoksit
CSF	: Koloni Uyarıcı Faktör
eNOS	: Endotelial Nitrit Oksit Sentaz
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GTP	: Guanozin Trifosfat
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HO ₂ ⁻	: Perhidroksi Radikali
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL-1	: İnterlökin -1
IL-2	: İnterlökin-2
IL-6	: İnterlökin-6
ITP3	: İnozitol-1, 4, 5-Trifosfat
iNOS	: İnducible Nitrit Oksit Sentaz
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
L	: Laminektomi
LT	: Laminektomi + Travma
Mg	: Magnezyum
NF-Kb	: Nuclear Factor-Kappa
NGF	: Nöron Büyüme Faktörü
nNOS	: Nöronal Nitrit Oksit Sentaz
NO	: Nitrit Oksit
NOS	: Nitrit Oksit Sentaz
O ₂ ⁻	: Süperoksit Radikali
OH [·]	: Hidroksil Radikali

PDE	: Fosfodiesteraz Enzimi
PSA	: Posterior Spinal Arter
RO ₂ .	: Organik Peroksidradikal
SK	: Spinal Kord
SKT	: Spinal Kord Travması
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SSS	: Santral Sinir Sistemi
TD	: Tadalafil
TNF- α	: Tümör Nekrozis Faktör-Alfa



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski çağlardan beri spinal kord travmaları (SKT) insanların karşılaştığı çok ciddi sağlık sorunlarından biri olmuştur. Spinal kord travmalarının temel nedenleri arasında; motorlu taşıt kazaları, düşmeler, şiddet uygulamaları ve iş kazaları sayılabilir (1, 2). Teknolojik değişiklikler ve sosyal hayattaki yeniliklerle birlikte motorlu taşıt kazalarının sayısında artış gözlenmekte ve spinal travma sayısı çoğalmaktadır.

SKT yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahip olup yüksek servikal lezyonlar tetraplejiye, aşağı lezyonlar paraplejiye neden olmaktadır. Tetrapleji ve parapleji, yaralanmaların yarısında mevcuttur (3). Hastaların yaşadıkları sosyal ve psikolojik problemler yanında; yaşam boyu süren tedavi ve bakım masraflarına, işgücü ve gelir kayıplarına neden olarak hasta ailesini ve ülke ekonomisini etkileyen çok önemli bir sağlık problemine neden olmaktadır (4). Günümüze kadar spinal kord travmaları (SKT) üzerine yapılan birçok araştırma olmasına rağmen, kord zedelenmesini tam iyileştiren bir tedavi seçeneği bulunamamıştır (4,5).

Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hücrel hasar; endojen hücre ölümü yollarının aktivasyonu ile sonuçlanarak omurilikteki hasarın zaman içinde artmasına ve klinik kötüleşmeye neden olmaktadır (6). Yaralanmadan sonra başlayan bu ikincil hasar kaskadının durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır. Omurilik travmasını takiben oluşan nöral doku hasarını engellemek amaçlı birçok kimyasal ajan denenmiş olup bugüne kadar tam olarak iyileşme sağlayan bir ilaç bulunamamıştır. Bazı ajanlar oluşan doku hasarını azaltırken bazıları da fonksiyonel iyileşmeyi artırmıştır.

Biz çalışmamızda erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan fosfodiesteraz tip 5 enzim inhibitörü olan tadalafili kullandık. Tadalafilin deneysel spinal travma modelinde etkinliği ile ilgili yeterli çalışma mevcut değildir. Bu çalışma ile tadalafilin spinal travma modelinde lipid peroksidasyonuna etkisi MDA düzeyi ile inflamatuvar süreç üzerine olan etkisi IL-6 ve TNF- α düzeyleri bakılarak incelenmiştir. Fonksiyonel nörolojik değerlendirme Modifiye Tarlov Testi ile yapılmıştır. Bu çalışmada amacımız; spinal travma uygulanan ratlarda tadalafilin etkinliğini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Omurilik Travmasının Tarihçesi

Spinal travma sadece günümüzün modern hayatında karşılaşılan bir durum olmayıp çok eski çağlardan beri insanların karşılaştığı ve tedavi etmeye çalıştığı bir sorun olmuştur.

Edwin Smith papirusları omurga kırıklarının belirtildiği ilk belgedir. Bu belgenin Firavunların özel hekimi Imhotep (M.Ö. 2686-2613) tarafından yazıldığı sanılmaktadır. Bu belgelerde servikal subluksasyon, servikal dislokasyon, travmatik kuadripleji ve travmatik parapleji olguları sunulmuştur (7).

Hipokrat (M.Ö. 460-375) omurganın anatomisi ile ilgilenmiş, spinöz çıkıntı kırıklarını, spinal dislokasyonu, skolyozu ve posttravmatik kifozu tarif etmiştir. Disloke omurgayı redükte etmek amaçlı traksiyon cihazı tanımlamıştır (8).

Aulus Cornelius Celsus (M.Ö. 25 - M.S. 55) servikal travma sonrası akut solunum zorluğu ve ani ölüm olabileceğini bildirmiştir (9). Celsus alt servikal travmaların paraparezi ve idrar inkontinansına yol açabileceğini bildirerek bu olgularda immobilizasyon ve eksternal stabilizasyondan söz etmiştir (8).

Aretaeus (M.S. II. yy) omurilik zedelenmesi sonrası oluşan paralizinin bazı vakalarda zedelenen seviyede oluştuğunu bildirmiştir (10).

Galen (M.S. 130-201) skolyoz, lordoz ve kifozu tanımlayarak tedavi etmeye çalışmıştır (11).

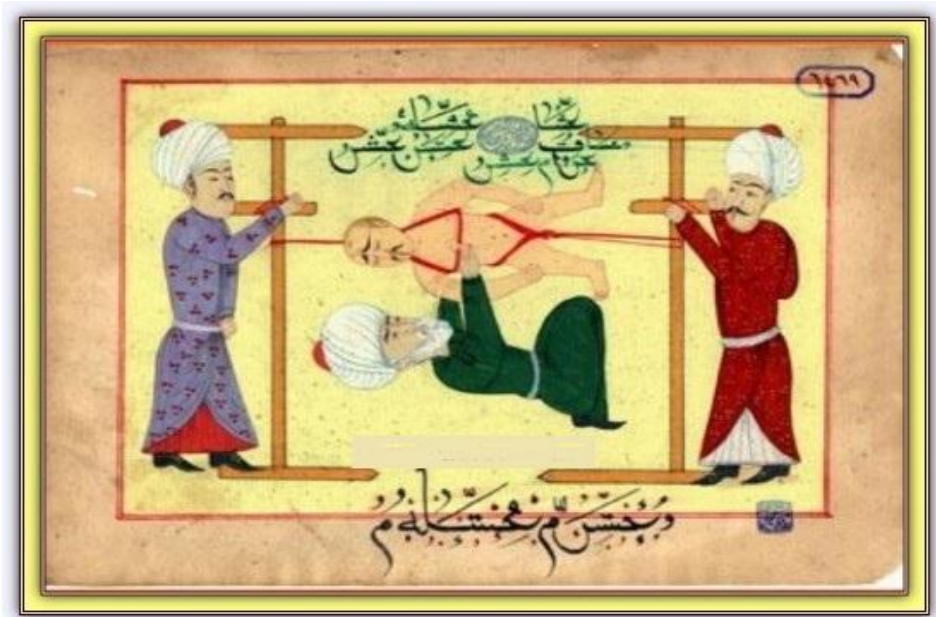
Orta çağın ünlü hekimi Aegina'lı Paulus (M.S. 625-690) kendinden önceki dönemlerde yazılan verileri toplayarak yedi ciltlik bir ansiklopedi hazırlamış ve ondan sonra gelecek olan İbn-i Sina, Razi, Al-Zahrawi ve Sabuncuoğlu gibi bilim adamlarına ışık tutmuştur. Paulus omurilik kompresyonu yapan omurga kırığı vakasına ilk kez laminektomi yapmıştır (12,13).

Orta çağın en önemli hekimi olan İbn-i Sina, omurganın fonksiyonel anatomisi üzerinde durmuş ve traksiyon sistemleri kullanmıştır.

XVI. yüzyılda Fransız cerrah Pare spinal dislokasyonları redükte etmek için ahşaptan bir düzenek tanımlamış, insizyon yaparak vertebra ve sinirleri öne itmeyi önermiştir (14).

Fabricius Hildanus 1646'da servikal kırık dislokasyonlarda redüksiyon ve traksiyon amacı ile yumuşak dokular ve spinöz çıkıntılara bir çivi takarak klemp ile çekme yöntemini denemiştir. Bu manevranın başarısız olması halinde kırık fragmanlarını temizlemeyi önermiştir (15). 1890 yılında Schamus tarafından spinal kord yaralanmaları ile ilgili ilk fizyopatolojik çalışma yapılmıştır. 1911 yılında Allen ilk kez deneysel spinal kord çalışmasını gerçekleştirerek sekonder hasar konseptinin de öncülüğünü yapmış ve ilk kez ağırlık düşürme metodunu denemiştir (16). Rivlin ve Tator 1978 yılında deneysel spinal kord tramasında klip kompresyon modelini geliştirmişlerdir (17).

Ülkemizde spinal travma ile ilgili ilk tedavi işlemi Şerafettin Sabuncuoğlu (1385-1468) tarafından yapılmıştır. Yazdığı Cerrahiyetül Haniye resimli cerrahi atlasında spinal travmalar, nörolojik etkileri ve dislokasyonlarda redüksiyon teknikleri hakkında bilgi vermiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Şerafettin Sabuncuoğlu'nun disloke omurgalarda redüksiyonu gösteren şeması (18)

2.2. Etiyoloji ve İnsidans

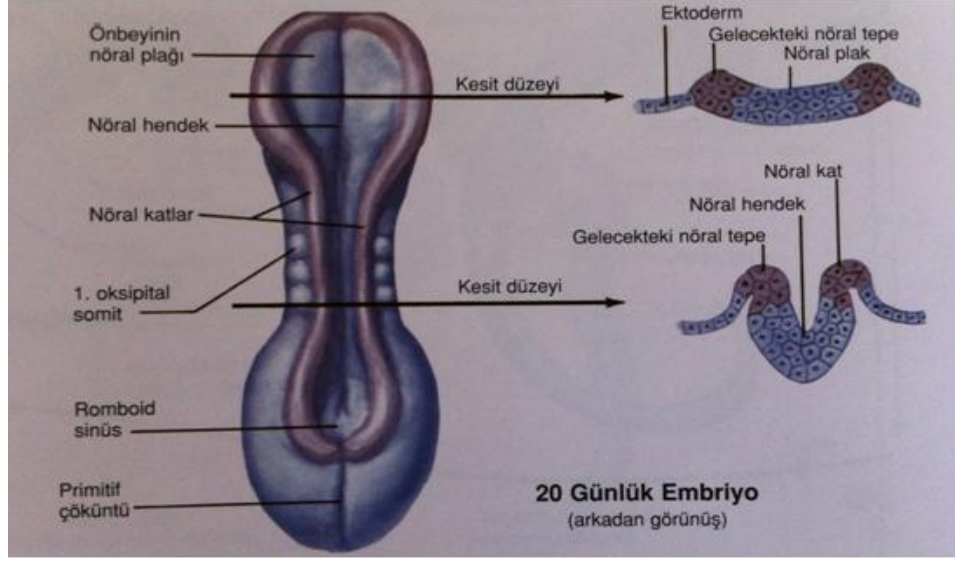
SKY sonrası hayatta kalanların yarısından fazlası normal yaşantısına geri dönememektedir. Ülkemizdeki akut omurilik yaralanmalarının insidansı yılda 500-600 yeni vaka olarak bildirilmekte ve prevalansın her yıl 12,7/1.000.000 olduğu tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise insidans yılda 12.000 yeni vaka, prevalans her yıl 30-50/1.000.000 vaka olarak bildirilmektedir (19). Travma yaşı ortalama 27 olup sıklıkla 16-30 yaşları arasında görülür (20). Erkeklerde daha sık görülüp kadın-erkek oranları 1: 2,4 ile 1: 4 arasında değişmektedir. Omurilik yaralanması nedenleri farklı coğrafi bölgelere göre de değişmektedir. Oluş nedenlerine bakıldığında motorlu araç kazaları %45,4 ile ilk sırayı alırken, bunu %16,8 ile yüksekten düşme, %16,3 ile sportif yaralanmalar ve diğer sebepler izler. Omurilik travmasının %55'i servikal, %30'u torokal ve %15'i de lomber vertebralar seviyesinde görülmektedir (21-24).

Her bir komplet kord yaralanmasının tedavi masrafları ve kişisel iş gücü kaybı nedeniyle yaşam boyu topluma maliyeti ortalama 1,5 milyon dolardır. Bu nedenle spinal kord yaralanmasında etkin tedavi yöntemlerinin bulunması, sosyal sorunlarının çözümü yanında büyük bir ekonomik fayda sağlayacaktır (25).

2.3. Omurilik Embriyolojisi

Sinir sisteminin gelişmesi embriyonik diskin oluşması ile başlar. Sinir sistemi ektoderm katmanından meydana gelir. Disk ektodermini çember şeklinde kuşatan bölümler sinir sisteminin özgül parçalarının oluşmasına katkıda bulunmak için önceden programlanmıştır (26).

Embriyonik gelişmenin 18. günlük evresinde nöral plak, tüp ve tepe oluşur. Önce, blastoporun önünde yer alan orta hat notokord dokusu, üzerinde yer alan baş uzantısının kalınlaşmasını ve bir nöral plak halini almasını indükte eder. Daha sonra plak üzerinde midsagittal bir nöral hendek belirir ve bunun her iki yanında yer alan ektodermal doku, nöral tepenin nöral katlar halinde zeminden yüksek bir yapı haline dönüşmesine katkıda bulunur (27) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: 20 günlük embriyo (28)

Bu katlar ise daha sonra orta hat üzerinde bir nöral tüp yapmak üzere birbirleriyle kaynaşırken aynı anda tüp köken aldığı ektodermden ayrılır. Katların kenarlarındaki bazı hücreler nöral tüp duvarına veya yeni oluşan tüpün üstünü örten yüzeyel ektoderme katılmaz ve bu hücreler nöral tepe hücreleri halini alır (26). Nöral tüp oluşurken bunun lümeninin her iki yanında boylamasına bir hendek olan oluk limitans belirir ve tüpü bir dorsal yarı (alar plak) ile bir ventral yarıya (bazal plak) böler (26).

Omurilikte temel üç bölge kalıp erişkinde de korunur. Ependimal bölge, merkez kanalın lümenini kaplayan silindirik hücrelerden oluşur. Manto bölgesi hücreleri gri cevheri oluştururken marjinal bölge hücreleri beyaz cevheri oluşturur. Gri cevher, beyaz cevher ile sarılı “H” harfi şeklinde görüntü oluşturur (26).

Sinir sisteminin alar ve bazal plaklara bölünmesiyle, arka sütun nöral hücreleri (alar) duysal işlevler ile ilgilenirken yan-ön gri sütunlardaki hücreler (bazal) motor işleve sahiptir. Beyaz cevherin büyük bölümünde destek nöroglıyanın serpiştirilmiş hücre gövdeleri bir yana bırakılırsa nöral hücreler bulunmaz. Bu dokuyu omurilik ve beynin tüm düzeylerine yerleşmiş nöronlardan çıkan akson demetlerinin yaptığı çeşitli traktuslar ve funikuluslar oluşturur (26).

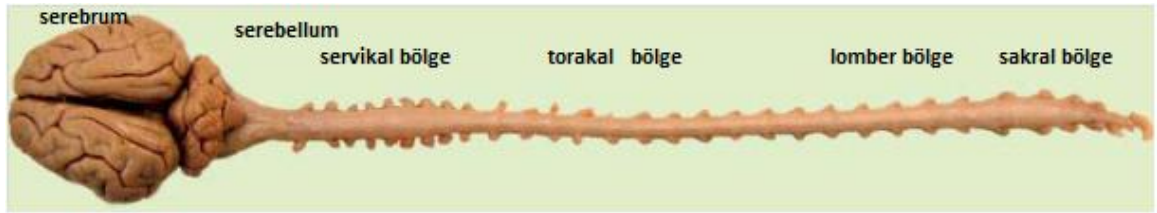
Geleceğin duysal hücreleri nöral tepeden göç eder ve omuriliğin iki yanında, bunun her segmenti için tek bir ganglion yapmak üzere omurilik boyunca kümelenir. Bu

hücreler unipolar hücrelere dönüşürken merkezi uzantıları, manto katmanının dorsal gri sütunundaki nöronal hücre gövdeleri üzerinde sonlanmak üzere nöral tüp içine doğru büyür. Eş zamanlı olarak periferik uzantılar, omuriliğin aynı segmentine ait motor kök lifleri veya aksonların yanı sıra, aynı bağ dokusu kılıfı ile sarılmak üzere distale doğru büyür; bu bileşim bir spinal siniri oluşturur (26).

2.4. Omurilik Anatomisi

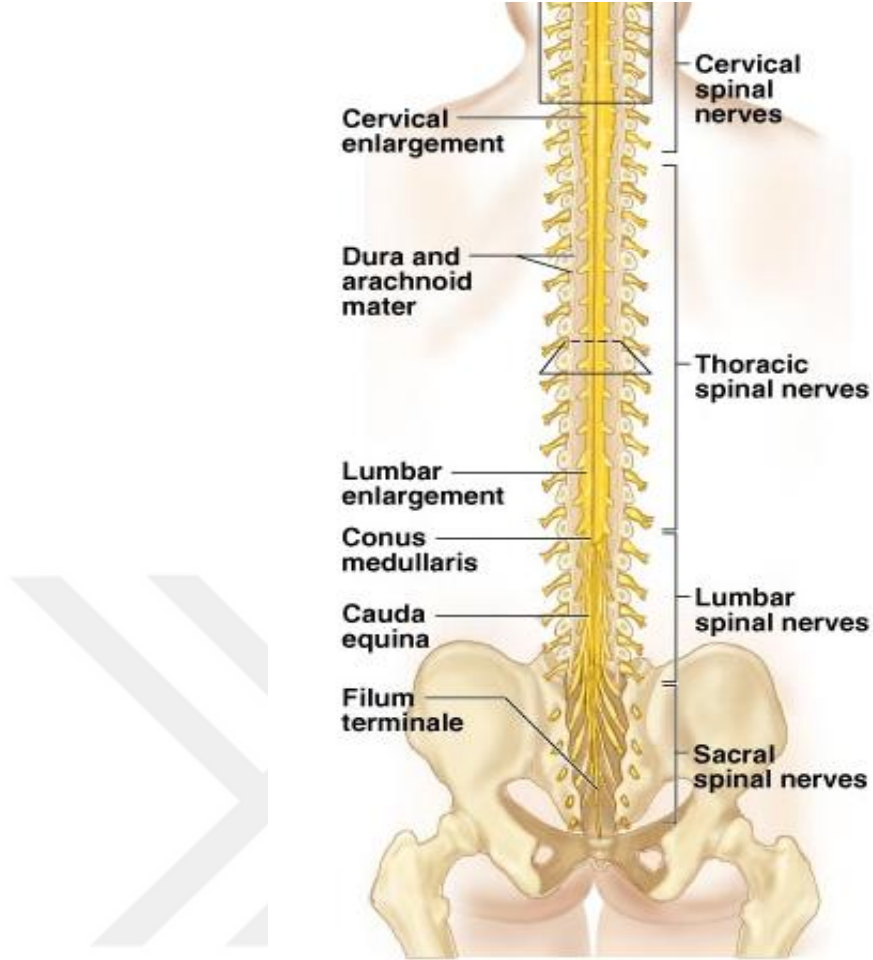
2.4.1. Omuriliğin Dış Yapısı

Medulla spinalis, foramen oksipitale magnumdan başlayıp kanalis vertebralis içerisinde kaudale doğru ilerleyen uzun bir silindir şeklindeki santral sinir sistemi parçasıdır (27). Yetişkinlerde L1 vertebranın alt sınırı veya L2'nin üst kenar hizasına kadar uzanır. Medulla spinalis; fetal hayatın 3. ayında vertebral kolon uzunluğu kadar uzanır. 5. ayın sonunda sakrumun tabanında, doğum sırasında ise yaklaşık L3 seviyesinde sonlanır. Ortalama uzunluğu erkeklerde 45 cm, kadınlarda 42-43 cm'dir. Üst kısımda beyinle devamlılığı vardır, altta ise conus medullaris adını alarak sonlanır (28) (Şekil 2.3).



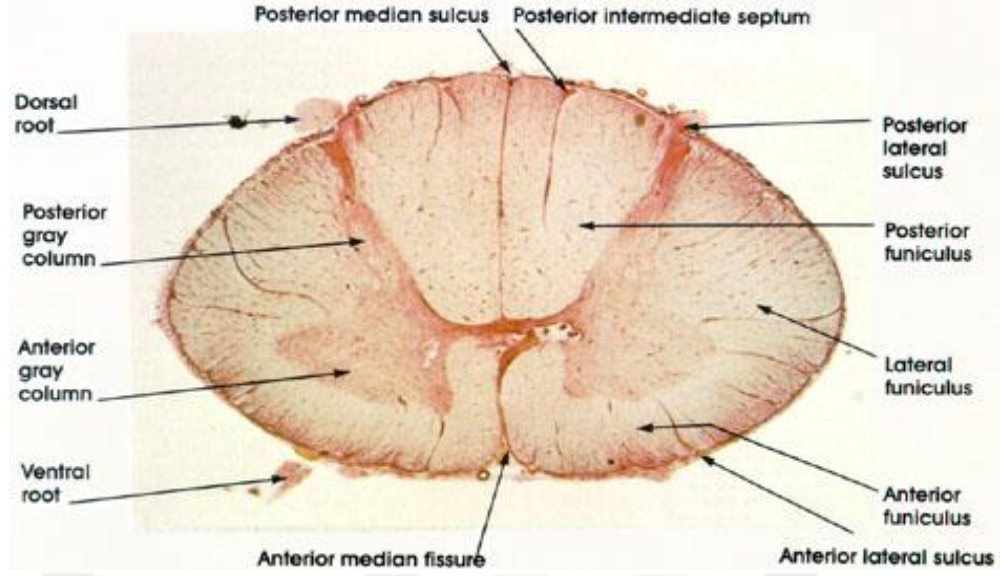
Şekil 2.3: Serebral, serebellar ve omurilik dokusu bütün olarak gösterilmektedir (29).

Medulla spinalis biri servikal biri lomber bölgede olmak üzere iki genişleme gösterir. Servikal bölgedeki genişlemenin çapı ortalama 38 mm olup bu genişlemeye intumescentia cervicalis, lomber bölgedeki genişlemenin çapı ortalama 35 mm olup bu genişlemeye de intumescentia lumbosacralis adı verilir. Servikal bölgedeki genişleme plexus brachialis'in oluşumuna katılan spinal sinirlerin çıktığı segmente uymakta, lomber bölgedeki genişleme ise plexus lumbosacralisin oluşumuna katılan spinal sinirlerin çıktığı segmentlere uymaktadır (Şekil 2.4).



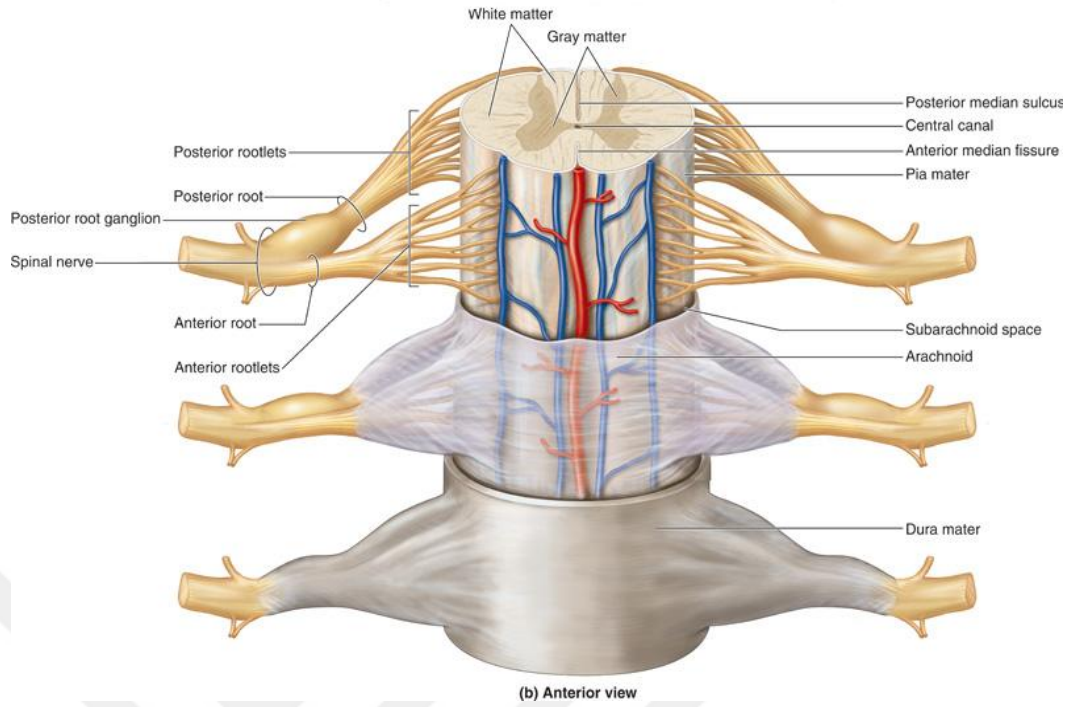
Şekil 2.4: Medulla spinalis ve anatomik genişlemeleri (29)

Medulla spinalis'in ön ve arka tarafında longitudinal seyreden oluklar mevcuttur. Bunlardan daha derin olan ön taraftakine fissura mediana anterior, arka taraftakine ise sulkus medianus posterior adı verilir. Ayrıca medulla spinalisin sağ ve sol tarafında ön-dış yüzlerinde sulkus anterolateralis, arka-dış yüzlerinde sulkus posterolateralis adı verilen birer çift oluk daha vardır (27) (Şekil 2.5).

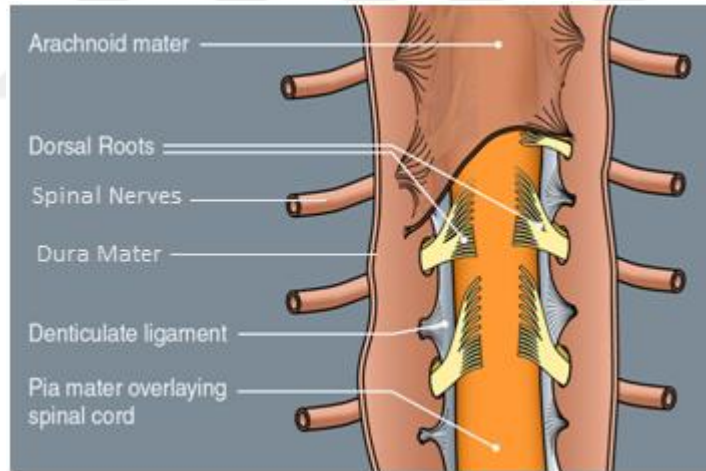


Şekil 2.5: Medula spinalisin horizontal kesiti (30)

Meninksler: Omurilik, beyini saran membranların devamı olan koruyucu membranlarla örtülüdür. Membranlar dıştan içe doğru dura mater spinalis, araknoid mater spinalis ve pia mater spinalis olarak adlandırılır (Şekil 2.6). Dura mater spinalis vertebral kanal duvarından gevşek yağ dokusu ve venöz plexusları içeren epidural kavite yoluyla ayrılır. Dura mater ile araknoid mater arasında potansiyel bir subdural boşluk bulunmakta ve burada son derece sığ, lenfe benzer bir sıvı yer almaktadır. Araknoid mater spinalis; ince, transparan bir membrandır. Araknoid ve pia mater zarlarını, biraz daha geniş olan ve BOS içeren subaraknoid aralık ayırır. Pia mater, medulla spinalise yapışarak içine doğru ince septalar gönderir. Dura ve araknoid mater spinalis (subaraknoid boşluk) ikinci sakral vertebra seviyesinde kapanır. Pia mater spinalis ise konus medullariste kapanıp ince bir bağ doku uzantısı olarak ikinci sakral vertebra seviyesine kadar uzanan filum terminaleyi oluşturur (27). Medulla spinalis; pia mater aracılığıyla duranın iç kısmına lateral yüzeylerden 22 tane uzantı ile bağlanmış olup bunlara ligamentum dentikulatum adı verilir (29) (Şekil 2.7).



Şekil 2.6: Spinal zarlar (31)



Şekil 2.7: Medulla spinalis zarları ve dentikulat ligaman (29)

Spinal Sinirler: Periferden duyuları getiren ve medulla spinalise sulkus posterolateralisten giren yapıya radikls posteriyor (dorsal kök) adı verilir. Motor liflerin oluşturduğu ve medulla spinalisi sulkus anterolateralisten terk eden yapıya da radikls anterior (ventral kök) adı verilir.

Radikls anterior ve radikls posteriyoru oluşturan lifler sulkus anterolateralis ve sulkus posterolateralisten fila radikularia (rootles) adını alarak birkaç dal halinde

çıkarlar. Radiks anterior ve radiks posterior foramen intervertebralede birleşerek spinal siniri oluştururlar (Şekil 2.6).

Medulla spinaliste simetrik olarak düzenlenmiş 31 çift (8 servikal, 12 torasik, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal) spinal sinir bulunmaktadır. Her dorsal spinal sinir kökü üzerinde oval bir genişleme olan spinal (duysal) ganglion bulunur. Bir çift spinal sinirin çıkış yerine uyan medulla spinalis kısmına segment adı verilmektedir. Bu tanıma göre de medulla spinaliste 31 segment yer almaktadır. Spinal sinirler çıktıkları segmentlere göre isimlendirilirler.

Radiksler pia mater ve araknoid mater ile sarılıdır. Dura mater de radiksleri saran kılıfın yapısına katılır (Şekil 2.6). Spinal sinir oluştuktan sonra bu kılıf sinirin epinörium tabakası olarak devam eder.

Spinal sinirin inerve ettiği deri bölgesine dermatom adı verilmektedir. Komşu segmentlerin dermatom bölgeleri de komşudur.

Spinal sinirlerin dorsal kökleri segmental durumlarını korudukları halde, ventral kökler bu yapılaşmayı göstermezler. Yer yer birbirleri ile birleşerek ve dal alıp, dal vererek büyük sinir ağları (plexus) oluştururlar. Spinal sinirlerin ön dalları vücudun değişik yerlerinde beş adet önemli plexus oluşturur. Bunlar; plexus cervicalis, plexus brachialis, plexus lumbalis, plexus sacralis ve plexus coccygeus'tur.

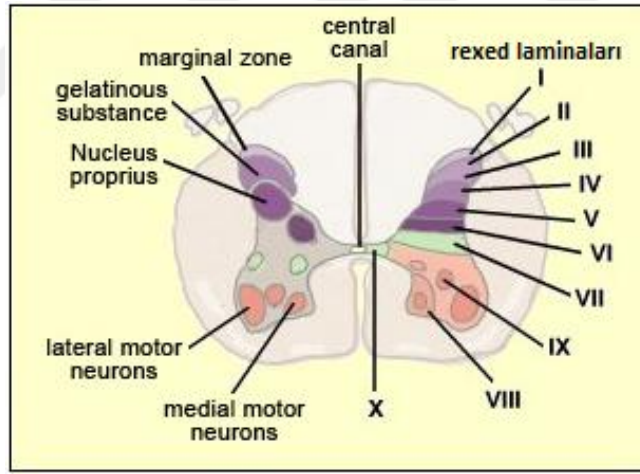
2.4.2. Omuriliğin İç Yapısı

Medulla spinalis transvers kesitte incelendiğinde gri ve beyaz cevher olmak üzere iki kısımdan meydana gelmektedir. Bunlardan "H" harfi şeklinde olan ve iç tarafta yer alan yapı gri cevher (substantia grisea) adını almaktadır. Gri cevher; spinal nöronların hücre gövdeleri ve dendritleri ile bunlardan çıkan veya bunların üzerinde sonlanan aksonlar ve akson sonlanmalarından oluşmaktadır. Dış kısımda ise gri cevheri saran çoğunluğunu miyelinli aksonların oluşturduğu ayrıca nöroglia ve kan damarlarının da yer aldığı yapı ise beyaz cevher (substantia alba) olarak adlandırılmaktadır. Miyelinli sinir lifleri burada yüksek oranda olduğu için beyaz olarak görülür (32). Gri ve beyaz cevher sınırları farklı omurilik seviyelerinde farklı şekildedir. Beyaz cevher servikal

bölgede görece kalın olup aşağı indikçe kütlesi giderek azalır. Gri cevher ise servikal ve lomber genişlemelerde en fazla gelişmiştir (28).

Gri cevher: Transvers kesitte gri cevherin öne doğru olan uzantılarına kornu anterior (kolumna anterior), arka dışa doğru olan uzantılarına kornu posterior (kolumna posterior) adı verilir. Ayrıca medulla spinalisin T1 ve L2 segmentleri arasında gri cevherin her iki yanında kornu laterale (kolumna lateralis) adı verilen uzantılar yer almaktadır. Sağ ve sol taraftaki gri cevherler arasında medulla spinalis boyunca uzanan, içerisinde BOS bulunan, santral kanal yer almaktadır. Bu kanalın ön tarafında yer alan gri cevher kısmına kommissura grisea anterior, arka tarafında yer alan gri cevher kısmına ise kommissura grisea posterior adı verilir (32).

Rexed adlı araştırmacı gri cevheri; burada bulunan nöronların büyüklüğü, şekli, hücresel özellikleri ve yoğunluklarını dikkate alarak on laminaya ayırmıştır. Bunlar kornu posteriora doğru romana rakamları ile ifade edilirler. Kanalis sentralis etrafındaki bölge ise lamina X olarak ifade edilir (32) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Medulla spinalis Rexed Laminaları (servikal bölge)

Kolumna anteriora sinir hücrelerinin çoğu büyük ve multipolardır. İskelet kaslarını (ekstrafuzal kas liflerini) inerve eden alpha motor nöronlar, intrafuzal kas liflerini inerve eden gamma motor nöronlar ile çok sayıda internöron yer almaktadır (32).

Kolumna posteriora 4 sinir hücre grubu vardır. Substantia gelatinosa kolumnanın apeksinde bulunur, ağrı-ısı ve dokunma ile ilgili afferent lifler alır. Nucleus

proprius, posterior kolumnada bulunan hücrelerin çoğunluğunu oluşturur, pozisyon, hareket duyusu, iki nokta ayrımı ve vibrasyon duyusu ile ilgili lifleri alır. Nukleus dorsalis (Clark sütunu) 8. servikal segmentten 3. ve 4. lomber segmente kadar uzanır, proprioseptif sonlanmalarla ilgilidir. Visseral afferent çekirdek; 1. torasik segmentten 3. lomber segmente uzanır; visseral bilgi alımı ile ilgilidir (32).

Kolumna lateralis; Torakal 1 ile Lomber 2 veya 3. segmentler arasında yer almaktadır. Preganglionik sempatik lifleri verir. Sakral 2, 3 ve 4. segmentlerde bu lifleri veren, benzer bir hücre grubu daha vardır (32).

Kanalis sentralis, medulla spinalis boyunca bulunur BOS ile doludur ve ependim denilen silialı kolumnar epitel hücreleri ile döşelidir (32).

Beyaz cevher: Funikulus anterior, funikulus lateralis ve funikulus posterior olmak üzere üç bölgeye ayrılır. Funikulus anterior, sulkus anterolateralis ile fissura mediana anterior arasında yer almaktadır. Funikulus lateralis, sulkus anterolateralis ve sulkus posterolateralis arasında yer almaktadır. Funikulus posterior ise sulkus medianus posterior ile sulkus posterolateralis arasında yer alır (32). Funikulus posterior medulla spinalisin servikal ve üst torakal segmentlerinde septum medianum posterius ile medialde fasikulus grasilis ve lateralde fasikulus kuneatus olmak üzere iki kısma ayrılır.

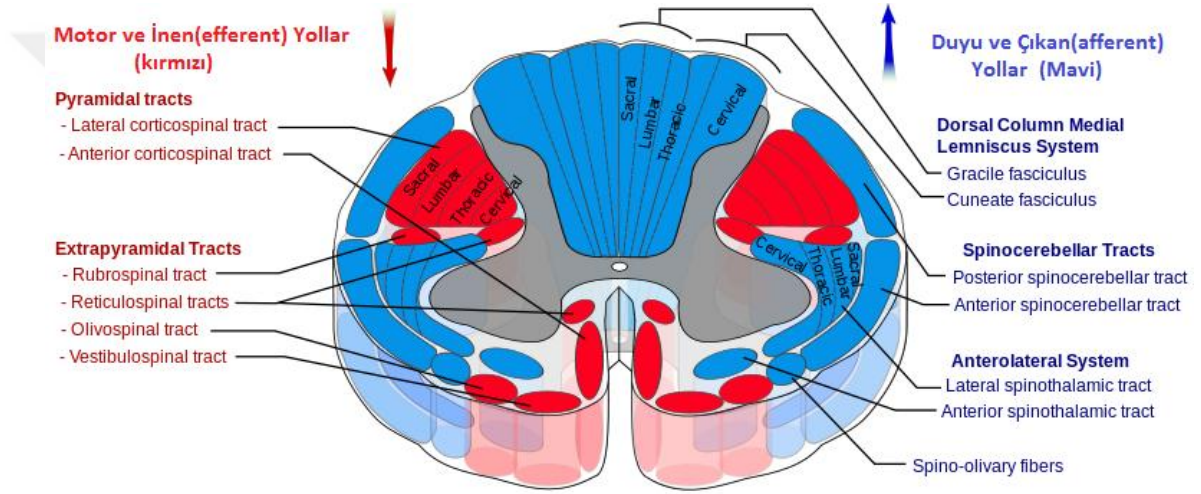
Funikuluslar inen ve çıkan yollar tarafından oluşturulmuştur. Bu yollara fasikulus veya traktus adı verilir. Funikulus anterior ve lateraliste; inen (piramidal veya efferent) ve çıkan (afferent) yollar bulunur. Funiculus posteriorda ise yalnızca çıkan yollar bulunmaktadır. Afferent yolların çaprazlaştığı dekussasyo komissura alba anterior, fissura mediana anteriorun hemen arkasında yer almaktadır (27).

Fasikulus grasilis ve fasikulus kuneatus vücudun alt ve üst parçalarından gelen ince, ayırtedici duyuları taşımaktadır. Daha az ayırtettirici, daha yüksek eşiğe sahip duyular; ön ve yan spinotalamik traktlar tarafından taşınırlar ayrıca bu yollar ağrı ve sıcaklık duyularının taşınmasında özellikle önemlidir. Refleks aktivitesi ve motor denetime yakından katılan diğer çıkan yollar arasında arka ve ön spinoserebellar traktlar ile spinooliver, spinotektal ve spinoretiküler traktlar bulunmaktadır (28) (Şekil 2.9). İnen yollar iki gruba ayrılabilir; Birinci grubun içinde kortikospinal traktlar ile rubrospinal trakt yer alır (Şekil 2.9). Bu grup; omuriliğin ekstremitelerin distal kaslarını

denetleyen nöronları içeren dorsolateral bölgelerinde sonlanır. Bu traktların harabiyeti ekstremitelerin ince kademeli kontrolünün kaybına neden olmaktadır (28).

İkinci grup içinde medial longitudinal fasikulus içinde seyreden ve omuriliğin ventromedial bölgelerinde tercihen sonlanan ön ve yan retikülospinal traktlar, tektospinal trakt, vestibülospinal traktlar bulunmaktadır. Bu yolların harabiyeti postür ve doğrulma bozuklukları ile sonuçlanır. İnen yolların her iki grubu motor etkilerine ilaveten duysal iletimi modülasyona uğratan lifler de içerir (28).

Propriospinal yollar omuriliğin farklı düzeylerdeki aktivitesini koordine ederek spinal reflekslere aracılık etmektedirler (28).



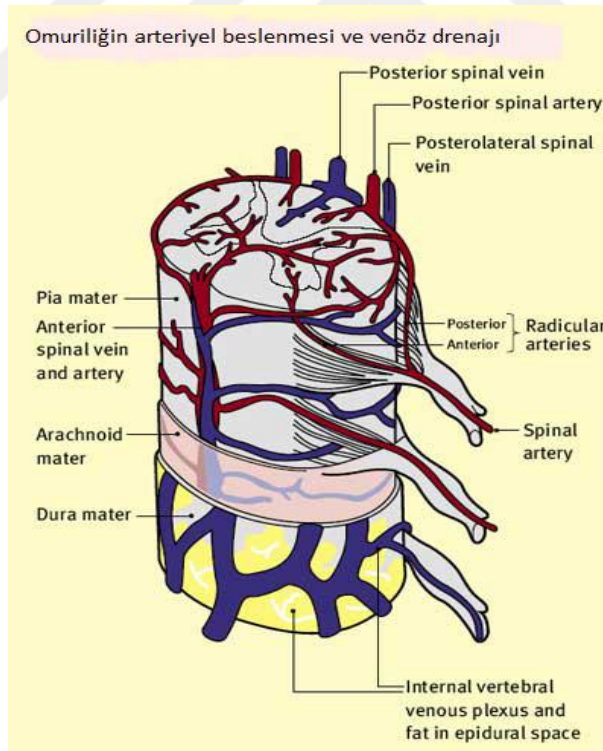
Şekil 2.9: Medulla spinaliste çıkan ve inen yollar

2.4.3. Omuriliğin Vasküler Yapısı

Spinal kord bir anterior spinal arter (ASA) ve iki adet posterior spinal arter (PSA) tarafından beslenir (Şekil 2.10). ASA yukarıda vertebral arterlerden 2 ayrı dal olarak ayrılır daha sonra birleşerek subaraknoid aralık içinde aşağı doğru ilerler ve spinal kordun en alt seviyesinde sonlanır (Şekil 2.11). ASA'dan ayrılan perforan sentral damarlar medulla spinalisin %75'inin kanlanmasını sağlar, geriye kalan kısmın kanlanması PSA'lardan sağlanır. PSA'lar vertebral arter veya postero-inferior serebellar arterlerden ayrılır; bir çift olarak postero-lateral pozisyonda aşağı doğru ilerler ve pia materde pleksiform kanalları oluştururlar (32).

ASA ve PSA'lar radikülomeduller arterler tarafından takviye edilirler. Bu arterler primer olarak assenden servikal, derin servikal, vertebral, posterior interkostal ve lateral sakral arterlerden ayrılırlar (Şekil 2.11). Ortalama 8 anterior ve 12 posterior besleyici radikülomeduller arter vardır. Medulla spinalisin üst bölümüne 3-5 adet anterior radiküler arter beslenme desteği verirken, orta torasik bölüme 1 adet anterior radiküler arter, alt torasik ve lomber bölüme ise 3-5 adet anterior radiküler arter beslenme desteği verir. Bunlardan bir tanesi çok önemlidir; arteria radikularis anterior magna veya 'Adamkiewicz' arteri olarak anılır. Bu arter insanların %75'inde T9-T12 seviyesinde ve genellikle de sol taraftan çıkar (32).

Medulla spinalisin beslenmesi servikal ve üst torakal bölgede iyidir ancak orta torakal ve alt torako-lomber bölgelerde zayıftır. Bunun nedeni ise radikulo-meduller arter desteğinin bu bölgede az olması ve alt torakal bölgede ASA'nın Adamkiewicz arteri ile olan anastomuzundan hemen önce daralmış olmasıdır. Bu durum medulla spinalisi bu bölgelerde iskemik hasara en hassas hale getirir (32).

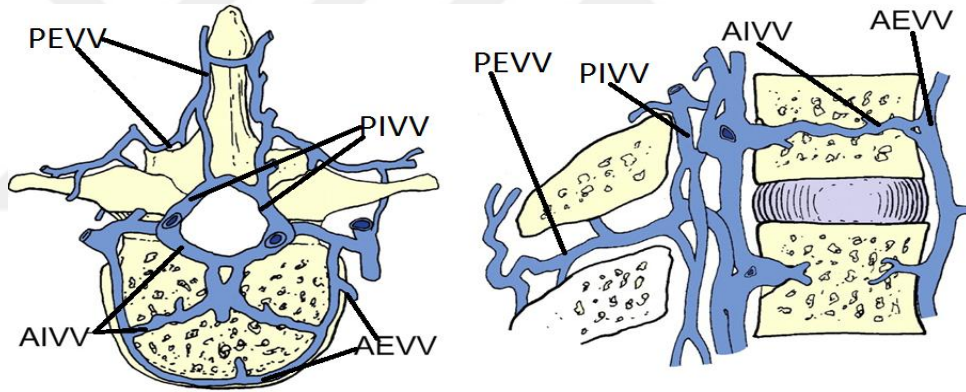


Şekil 2.10: Medulla spinalisin arteriyel beslenmesi ve venöz drenajı(33)

Omuriliğin venleri kendilerine karşılık gelen arterlere benzer dağılım gösterirler. Sinir kökleri ve radiküler arterlere eşlik eden ön ve arka radiküler venler, intervertebral venleri yapmak üzere ön ve arka iç vertebral pleksuslardan gelen dallarla birleşir (28) (Şekil 2.10).

Her segmentten çıkan intervertebral venler hem internal vertebral venöz pleksüs aracılığıyla hem de foramenden kanal dışına çıkarak sakral, lomber, interkostal ve servikal venlere ve bu yolla inferior vena kavaya dökülürler. Yukarıda foramen magnum aracılığı ile medulla oblongatayı ve serebellumun alt yüzünü boşaltan venlerle bağlantı halindedirler.

Ayrıca posterior internal ve eksternal venöz pleksus ile anterior internal ve eksternal venöz pleksus, vertebranın venöz drenajını sağlamaktadır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11: Vertebranın venöz drenajı

AIVV: Anterior internal (epidural) vertebral venöz pleksüs

AEVV: Anterior eksternal vertebral venöz pleksüs

PIVV: Posterior internal vertebral venöz pleksüs

PEVV: Posterior eksternal vertebral venöz pleksüs

2.5. Deneysel Omurilik Travması

Omurilik travmasının patofizyolojik süreciyle ilgili bilgilerin çok az bir kısmı insan çalışmalarıyla elde edilmiştir. Bu bilgilerin çok önemli bir kısmı; çeşitli hayvan türleri ve hasar mekanizmalarının kullanıldığı deneysel omurilik travma modeli çalışmalarıyla elde edilmiştir. Laboratuvar şartlarında olumlu sonuç vermesine rağmen insanlar üzerindeki denemelerde sonuç alınamayan nöroprotektif tedaviler yorumlandığında bu durum düşünülmelidir.

İnsanlarda akut travmatik omurilik hasarına yönelik rasyonel bir tedavi yaklaşımının geliştirilebilmesi için standardize edilmiş ve tekrarlanabilir bir hayvan modeli çalışmasına ihtiyaç vardır. Deneysel omurilik travma çalışmalarında hasarın şiddetinin derecelendirilebilmesi için yaygın olarak yüksekten ağırlık düşürme ve klip veya balon kompresyon modelleri kullanılmıştır.

Deney hayvanı olarak sıçanlar, deneysel zorlukları tolere edebilmeleri ve omurilik kan dolaşımının insanlara çok benzemesi, ekonomik olmaları ve kolay elde edilebilme avantajları nedeniyle omurilik yaralanması modelleri için uygundurlar.

2.6. Omurilik Travmasında Patofizyoloji

Akut spinal kord yaralanmalarına bağlı ortaya çıkan nörolojik problemlerin tedavi edilebilmesi için birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda başarıya ulaşabilmek için spinal kord travmalarının patofizyolojik sürecinin aydınlatılması ve omuriliğin hangi yapılarının yaralanmaya nasıl katıldıklarının iyi anlaşılması gerekmektedir. Omurilik yaralanmalarında patofizyoloji; akson, kan damarı ve hücre membranlarının hasarına yol açan primer hasar ile başlar. Primer hasardan sonra saatler ve günler içerisinde gelişen fizyopatolojik değişikliklere bağlı oluşan sekonder hasar ile devam eder (34-38).

2.6.1. Primer Yaralanma

Medulla spinalise darbe olduğu anda oluşan mekanik hasara primer yaralanma (hasar) denir. Primer yaralanmanın büyüklüğü spinal kordu etkileyen fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlere bağlıdır (39-41). Diğer olası mekanik bası nedenleri arasında, kemik fragmanlar, ligamanlar ve spinal kanal içindeki hematoma sayılabilir (39). Maalesef primer yaralanmanın iyileştirilmesinde etkili bir ilaç ya da yöntem uygulaması yoktur. Yaralanmanın meydana gelmesini engellemek ve yaralanma sırasında aktif ve pasif güvenlik önlemleriyle vücudun sabitlenmesini sağlamak ortaya çıkacak hasarı azaltabilir.

Tator çalışmasında komplet hasar oranını torakal bölgede %77,5 olarak tespit etmiş iken, torakolomber bileşkede %64,7 ve servikal bölgede ise %60,4 bildirmiştir (42). Torakal bölgede spinal kordun kan akımının zayıf olması ve spinal kanalın dar olması nedeniyle hasar daha sık görülmektedir (43). Geniş kanallar herhangi bir mekanik strese tampon sağlarken dar (stenotik) kanallarda böyle bir rezerv yoktur. Örneğin servikal spondilozlu bir hastada çarpma sonucu oluşan hiperekstansiyon, zaten dar olan spinal kanalda spinal kordun taşmış disk ile önden ve katlanmış ligamentum flavum tarafından da arkadan sıkıştırılmasına neden olarak hasar meydana getirmektedir (39). Tutulan spinal kord seviyesi, primer yaralanma üzerine etkili olan faktörlerden biridir. Örneğin kauda ekuina yaralanmaları spinal kord yaralanmalarına göre daha iyi prognoza sahiptir (39).

Dokulara uygulanan mekanik kuvvet, hücre membranını ve doku bütünlüğünü bozar, aksonları zedeler, kan damarlarını yaralar ve ödeme neden olur. Mekanik hasar sonrası erken dönemde kanama ortaya çıkarken, kan akımının kesintiye uğraması daha geç meydana gelmektedir. Bunun sonucunda ortaya çıkan hipoksi ve iskeminin neden olduğu lokal enfarkt özellikle yüksek metabolik gereksinimi dolayısıyla gri cevherin hasarlanmasına yol açmaktadır. Hasarlanan alandan geçen nöronlar fiziksel olarak kesintiye uğrar ve miyelin kalınlıklarında azalma meydana gelir. Bu alandaki ödem ve makrofajlar, sinir iletisinin kesintisinde rol alırlar (44). Sonuç olarak, geri dönüşsüz hasarın gri cevherde ilk saatler içinde, beyaz cevherde ise 72 saat içerisinde oluştuğu düşünölmektedir (45).

2.6.2. Sekonder Yaralanma

Allen 1911 yılında omurilikleri yaralanmış hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstererek omurilik yaralanmasında ilk kez iki basamaklı mekanizma kavramını ortaya atmıştır (46). Omurilik yaralanması sonrasında omurilikte; hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler meydana gelir. Ducker 1971 yılında bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak arttığını ve hasardan sonraki 6. güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (47). Nemecek 1978 yılında bu ciddi nekrozu otodestruksiyon olarak tanımlamıştır (48). Mekanizmaların hepsinin altında yatan asıl patoloji, bozulmuş kord perfüzyonu ve hücresel düzeyde enerji yetersizliğine bağlı ortaya çıkan iskemidir (49). Tator tarafından 1991 yılında, iskeminin travmatik spinal kord yaralanmasından hemen sonra başladığı; tedavi edilmediği durumda ilk 3 saat içinde kötüleştiği ve en az 24 saat boyunca devam ettiği bildirilmiştir (17).

Omurilik yaralanması sadece omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı olmayıp kordun hem proksimaline hem de distaline doğru uzanmaktadır. Ayrıca beyindeki inen yolların nöronları, omurilikteki lokal yaralanmalardan etkilenerek atrofi, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergilemektedirler (50). Sekonder hasarda birbirleriyle ilişkili onlarca mekanizma görev almaktadır.

Sekonder yaralanmada rol oynayan fizyopatolojik mekanizmalar (51):

- 1) Apoptozis,
- 2) Astroglial skar oluşması,
- 3) Hücrelere Ca^{+2} akını,
- 4) Santral kavitasyon,
- 5) Santral kromatolizis,
- 6) Kompresyon ve vertebral kolondaki instabilite,
- 7) Hücre dışına hızlı K^{+} kaçağının neden olduğu spinal şok ve ileti bloku,
- 8) Spinal kord injüri sonrası miyelinle ilişkili genlerin yetersiz üretimi,
- 9) Geride kalan aksonların demiyelinizasyonu,

- 10) İyonik hemostazdaki bozulmalar,
- 11) Azalmış ATP üretimi ve enerji yetersizliği,
- 12) Aşırı noradrenalin salınımı,
- 13) Lezyon bölgesinde sıvı birikimi ve ödem,
- 14) Glutamaterjik eksitotoksiste,
- 15) Kanama,
- 16) Sitokin salınımı ve bağışıklık sistemi hücrelerinin invazyonu,
- 17) İnflamasyon,
- 18) İskemi reperfüzyona bağlı endotel hasarı,
- 19) Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu,
- 20) Nörojenik şok,
- 21) Aşırı nitrik oksit salınımı,
- 22) Oligodentrositlerin apoptozis ile ölümü,
- 23) Plazma membran geçirgenliğinin artması,
- 24) Sempatik etkinin kaybına bağlı sistemik hipotansiyon,
- 25) Hasarlı omurilik bölgesinde TNF- α üretimi,
- 26) Vazospazm ve mikrodolaşımda yetersizlik,
- 27) Akson büyüme inhibitör faktörleri (Nogo-A, Rho-A, Oligodentrosit miyelin glikoprotein (OMgp), miyelin ilişkili glikoprotein (MAG)) üretimi.

2.6.2.1. İmmün Sistem Aracılı Spinal Kord Hasarı

Akut spinal kord travmasında hücrel ve moleküler (düzenleyici proteinler) düzeyde karmaşık bir immün sistem yanıtı oluşur. Bu yanıt inflamasyonu oluşturur. İnflamasyon sekonder hasar mekanizmalarında kilit bir role sahip olup travmadan

hemen sonra başlayarak aylarca sürebilir (52). Bu yanıt endotel hasarı, inflamatuvar mediatörlerin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik inflamatuvar hücrelerin göçü ve mikroglial aktivasyonu şeklindedir.

Santral sinir sistemindeki immün hücreler mikroglialardır. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu iki dalga halinde gerçekleşir. Birinci dalgada nötrofiller lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infiltre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolur. İkinci dalgada yaralanma bölgesine monosit, makrofaj, T lenfosit ve mikroglialar migrasyon göstermeye başlar (53-55). Nötrofiller travma bölgesindeki mikroorganizmaları ve doku debrityanlarını temizlerler, ayrıca sitokin, proteaz ve serbest radikaller salgılayarak inflamasyon yanıtını artırır, bu durum hücre hasarının artmasına yol açar (56,57). Makrofajların baskılanması veya nötrofil infiltrasyonunun engellenmesiyle travma sonrası oluşan spinal kord hasarı azaltılabilir (58-60).

Hasarlı dokuya immün hücrelerin gelişimi birçok protein tarafından etkilenmektedir. Bu mediatörlerin biri intersellüler adezyon molekülü (ICAM) 1'dir. ICAM-1 dokuya nötrofil infiltrasyonunu başlatarak immün cevabı kötüleştirir. Bunun akut spinal kord hasarı sonrası sekonder yaralanmada rolü çok iyi aydınlatılmış değildir. ICAM-1'e karşı oluşan spesifik monoklonal antikörlerin ciddi derecede myeloperoksidaz süpresyonu yaptıkları, spinal kord ödemi azalttıkları ve spinal kord kan akımını artırdıkları gösterilmiştir (61,62).

Bradikinin, prostaglandin, lökotrien, platelet aktive edici faktör, serotonin gibi inflamasyon mediatörleri yaralanmış omurilikte lezyon bölgesinde birikir. Bu mediatörler endotelial lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır aynı zamanda da doku hasarının hızla ilerlemesine yol açarlar.

Sitokinler genellikle glikoprotein yapıda düşük molekül ağırlıklı küçük proteinlerdir. Sitokinlerin fonksiyonu hücre içi haberleşmeyi sağlayarak, travmaya karşı verilen immünolojik, inflamatuvar ve onarım yanıtlarını düzenlemektir. Sitokinler antijen nonspesifik glikoproteinler olup, bir stimulusa cevap olarak sentezlenip hızla sekrete edilirler. Hemen etki gösterirler ve yarı ömürleri çok kısadır.

Sitokinler hücreler arasında iki yönlü olarak ilişki kurarlar. Bir grubu antiinflamatuvar iken diğer grubu proinflamatuvar özelliklere sahiptir. Spinal kord

yaralanmalarında IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. IL-1 mikroglialar, makrofajlar, nötrofiller ve endotel hücreleri tarafından üretilirken IL-6 makrofaj, endotel hücreleri ve T lenfositler tarafından üretilir. TNF- α 'nın üretimi ise mikroglialar, makrofajlar ve nötrofiller tarafından yapılmaktadır. Bu sitokinler inflamasyon yanıtını artırır. Bu inflamatuvar cevap ölü hücrelerin temizlenmesinde önemli bir görev alırken hayatta kalan nöronların ise rejenerasyonunu engeller.

IL-6 değişik dokuların büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyen, birçok işlevi olan bir sitokindir. Hedef hücreye bağlı olarak büyümeyi uyaran, büyümeyi inhibe eden ve farklılaşmayı sağlayan etkinliğe sahiptir.

IL-6;

1. Dört α -helikal uzun zincir yapısına sahiptir.
2. T ve B hücre fonksiyonlarını düzenleyerek immün globulin sekresyonu yapmaktadır.
3. Akut faz inflamasyon reaksiyonlarında etkilidir.
4. Lenfoid ve non-lenfoid birçok hücre tipi tarafından üretilen bir sitokindir.
5. Hematopoez gibi birçok biyolojik etkiye sahiptir.

IL-6 akut faz cevabın asıl oluşturucusudur ki bunu C-reaktif protein, kompleman bileşenleri, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinlerini sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar.

İnflamatuvar cevabın aşırı aktivasyonu sağlıklı dokulara zarar verebilmekle birlikte korddaki hasarın şiddetini de artırmakta ve aksonal büyümeyi inhibe etmektedir (63). SSS de inflamasyon yanıtı diğer dokulara göre daha az olmasına rağmen TNF- α seviyesi zedelenen kord çevresinde yüksek seviyelere ulaşmaktadır. TNF- α endotelial hücrelere nötrofillerin yapışmasını artırır ve sitokin üretimine neden olur (64).

Spinal kord travması (SKT) sonrasında Nuclear Factor-Kappa B (NF- κ B) aktivitesi artar. Transkripsiyon faktörü olan bu protein kompleksi sitoplazma içinde inaktif halde bulunmakla birlikte aktif olduğunda çekirdeğe taşınarak gen ekspresyonunu

düzenlemektedir. Hücre ölümü, inflamasyon, proliferasyon gibi olaylarda görev alan genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu artırmaktadır (65,66).

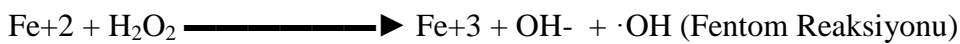
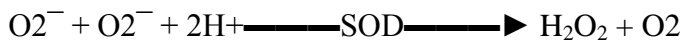
SKT sonrasında lezyon bölgesinde biriken prostoglandinler kan akımında değişime ve hücre şişmesine neden olurlar (15). Arasidonik asidin prostoglandin ve eikosanoidlere dönüşümü siklooksijenazlar ile engellenir. Bunlar COX1 ve COX2'dir. Siklooksijenaz inhibitörlerinin spinal kord hasarı sonrasında nöroprotektif etkilerinin olduğu bilinmektedir (38).

2.6.2.2. Serbest Radikal Oluşumu ve Lipid Peroksidasyonu

Serbest radikal, dış yörüngesinde çiftlenmemiş serbest elektron bulunduran kimyasal bileşiktir. Bu elektron başka biyolojik moleküllere kolayca aktararak, oksidasyona yol açar. Bu özellik, serbest radikal moleküllerini yüksek derecede reaktif kılar. Serbest radikaller normal koşullarda mitokondride oluşurlar. Fizyolojik koşullarda oluşan antioksidanlar, aşırı serbest radikal oluşumunu önlerler. Serbest radikallerin savunma mekanizmalarını aşan ölçüde aşırı üretimi, posttravmatik nöronal dejenerasyon ve hücre ölümünde önemli bir rol oynar (67,68).

Biyolojik dokularda serbest radikallerin en sık kaynağı moleküler oksijen radikalleridir. Reaktif oksijen türevleri arasında süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH), perhidroksi radikali (HO_2^-) ve organik peroksiradikal (RO_2) sayılabilir. Mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit radikali oluşur. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksiti hidrojen peroksite, katalaz enzimi de hidrojen peroksidi H_2O ve O_2 'ye dönüştürür.

Omurilik yaralanmasından sonra hemoglobin, ferritin ya da transferrinden demir açığa çıkar. Ortamdaki demir (Fe^{++}) hidrojenperoksiti katalizleyerek hidroksil radikaline dönüştürür (68). Hidroksil radikali oldukça reaktif bir radikal olup hızlı bir şekilde lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatarak hücre ölümüne neden olur (Şekil 2.12).



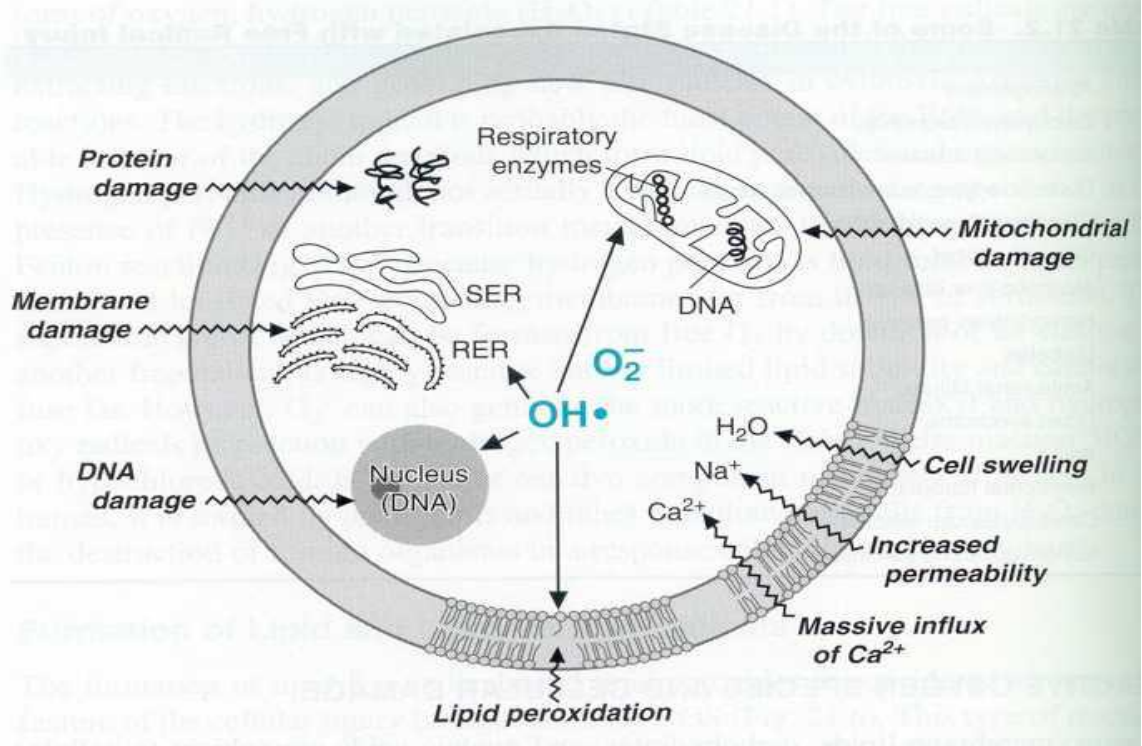
Fizyolojik koşullarda serbest radikal oluşumunu engelleyen ya da oluşmuş olan serbest radikalleri yok etme işlevine sahip birçok antioksidan mekanizma mevcuttur. Bu mekanizmalar; süperoksid dismutaz, glutasyon peroksidaz, katalaz gibi reaktif O₂ radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri, α - tokoferol, askorbik asit, ürik asit, glutasyon, betakaroten, sistein gibi nonenzimatik antioksidanlar ve demir ve bakırı bağlayan ferritin, transferrin, serüloplazmin gibi metal bağlayıcı sistemlerdir. Bu sistemler reaktif O₂ radikallerinin oluşumunu ve yayılmasını engelleyerek dokuyu hasardan korurlar (69). Ancak travma sonrası dokudaki bu antioksidan mekanizmalar hızla azalır (70). Oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler, nükleik asitler ile reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitleri oluştururlar ve bunun sonucunda daha fazla serbest radikal oluşur.

Serbest oksijen radikallerinin yaptığı endotel hasarına bağlı olarak kan beyin bariyeri (KBB) bozulur. Bunun sonucunda yaralanma bölgesine zararlı maddelerin birikimi olur. Santral sinir sistemi SOD, katalaz, glutasyon peroksidaz aktivitelerinin az olması dolayısıyla serbest radikal hasarına yatkındır. Buna ek olarak serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilen doymamış yağ asitleri ve kolesterol, serbest radikal oluşma reaksiyonlarını katalizleyen askorbik asit ve demirin fazla miktarda olması santral sinir sisteminin travmatik ve iskemik yaralanmadan daha çok etkilenmesine yol açar. Serbest radikal etkileşiminde en hassas yapılar lipitlerdir; ancak proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler gibi makromoleküllerin tümü ile etkileşime girerler (71, 72).

Omurilik travması sonrası oksijen radikalleriyle birlikte reaktif nitrojen ürünleri de artar. Bunlar da lipid peroksidasyonuna ek olarak protein ve nükleik asitlerde hasar oluşturur ve hücre ölümüne neden olan olaylar zincirinde görev alırlar (73,74).

Doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle oksidasyonuna lipid peroksidasyonu denir. Yüksek oranda doymamış yağ asidi içeren hücre membranı, lipid peroksidasyonu için en duyarlı hcesel elemandır (71,75). Hücre membranının lipid peroksidasyonu, membran bütünlüğünün kaybına ve membran lipoproteinlerinin oksidasyonuna yol açmaktadır. Yapısal bütünlüğün kaybı, anormal iyon girişine, hücre içinde Ca⁺⁺ oranının artmasına yol açar. Hcreii Ca⁺⁺ artışı lipolitik (lipaz ve

fosfolipaz) ve proteolitik (Calpain I ve diğer Ca^{++} bağımlı proteazlar) enzimleri aktive eder. Proteolitik enzimler plazma membranını ve hücre iskeletini oluşturan madde ve zincirleri yıkar (76). Lipolitik enzimlerin aktivasyonu ise nöron membranındaki fosfolipidlerden araşidonik asid salınımına, yani araşidonik asid döngüsünün başlamasına neden olur. Bu döngüde prostoglandinler, lökotrienler ve tromboxanlar sentezlenir. Olay serbest radikal ve lipid hidroksiperoksidlerin yapımıyla ve kısır bir döngü içinde ilerleyerek artar ve hücre ölümüne yol açar (77-79). Lipid peroksidasyonu kontrol altına alınmazsa zincir reaksiyonu başka hücelere de sıçrar ve hücre ölümün yayılmasına neden olur. Bu yayılma sırasında nöronlara ek olarak mikrovasküler yapılar da hasara uğramaktadır (67). Ayrıca lipid peroksidasyonunun, travmatik subaraknoidal kanamalarda vazospazma yol açan etkenlerden biri olduğu ileri sürülmüştür (67,71).



Şekil 2.12. Hidroksil radikali hücreyi oluşturan bütün yapılarla reaksiyona girerek sekonder hasar mekanizmalarında görev almaktadır (80).

2.6.2.3. Glutamat ve Eksitotoksisite

Bazı aminoasitler melmeli santral sinir sisteminde nörotransmitter olarak görev yaparlar. Bu nörotransmitterler iki grupta toplanırlar. Eksitator nörotransmitterler;

L-glutamik asit ve L-aspartik asit, inhibitör nörotransmitterler; gama aminobütirik asit(GABA), glisin, taurin, prolin, S-alanin. Glutamat, santral sinir sisteminin en önemli eksitator nörotransmitteridir. Spesifik membran reseptörlerine bağlanarak; öğrenme, hafıza, hareket, duyu ve sinaptik bağlantıların plastisitesinin sağlanması gibi birçok nörolojik fonksiyonda görev alır (81,82).

Glutamat, farklı farmakolojik ve elektrofizyolojik yapıya sahip iki grup spesifik reseptör aracılığıyla etki eder (82-86).

A. Metabotropik reseptörler: Transmembran proteinlerine bağlıdır. Uyarıldıklarında GTP üretimine yol açarlar. GTP, fosfoinozidili hidrolize ederek inozitol-1, 4, 5-trifosfatı (ITP3) oluşturur. ITP3 de, hücre içi depolardan kalsiyum serbestlenmesine yol açar.

B. İyonotropik reseptörler: Ligand kapılı iyon kanallarıdır. Bu reseptörler kendilerini selektif olarak aktive eden bileşiklere göre 3 alt tipe ayrılırlar;

1. N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) reseptörleri,
2. α -Amino-3-Hydroxyl-5-Methyl-4-Isoxazolepropionate reseptörleri (AMPA),
3. Kainate reseptörleri.

Spinal travmadan hemen sonra ekstrasellüler glutamat seviyeleri injuri bölgesinde ve etrafında yükselir bu durum kordda direkt hasar oluşturur. Buna ek olarak indirekt yoldan reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerini artırır, mikrosirkülatuar disfonksiyona neden olur ve sekonder iskemiye yol açar. Bu direkt ve indirekt etki; nöronlara Ca^{++} girişi, nekroz, apoptoza ve nöron ölümüne neden olur buna da eksitotoksik hücre ölümü denir. Glutamatın eksitotoksik etkilerinin büyük bir kısmı, hücre içine aşırı kalsiyum girişine bağlıdır (87). Aspartat da eksitotoksiteye yol açabilir.

Nöron ve oligodentrositler glutamat reseptörlerinin tümünü ürettikleri için eksitotoksiteye özel olarak duyarlıdır. Eksitotoksite, ST sahasında aksonların demiyelinizasyonu ve nöronların kaybına yol açar. Sonuç olarak glutamat eksitotoksitesini spinal kord injurisine bağlı oluşan fonksiyonel kötüleşmeyi artırır.

2.6.2.4. Apoptotik Hücre Ölümü

Apoptozis, gelişim ve yaşlanma sürecinde ortaya çıkan programlanmış hücre ölümüdür. Hipertermi, düşük doz sitotoksik ilaçlar, iyonize radyasyon, hafif travma, hafif hipoksi gibi düşük şiddette fiziksel ve toksik uyarılara maruz kalan dokularda apoptozis görülür (88). Bu anlamda apoptozis, spesifik bir uyarana maruz kalan hücrenin, bu uyarıya aktif olarak verdiği düzenleyici bir cevaptır (35).

Apoptozis sitokinlerin salınımı, inflamatuvar hasar, serbest radikal hasarı ve oksitoksositeye bağlı olarak da tetiklenebilir Primer olarak sistein proteinlerinden oluşan kaspaz ailesi üyelerinin, proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteinlerini bölerek aktiflemeleri ile hücre ölümünü gerçekleştirmeleri esasına dayanır. Bu durum intrasellüler proteolitik bir süreç tarafından regüle edilir. Apoptozis başlatılması için üç prototip sinyal yolu tanımlanmıştır.

1. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ölüm aktivatörleri ile tetiklenme; bu yolda birbirini tamamlayan ölüm aktivatörlerinin (Fas-L ve TNF) hücre yüzeyindeki Fas ve TNF reseptörlerine bağlanmasıyla sitoplazmaya kaspaz-8'i aktive eden sinyaller yayılır. Kaspaz-8 diğer kaspazları uyarır ve hücrenin fagositozuna yol açar (89,90).

2. Mitokondri/sitokrom c aracılı apoptozis oluşturulması; mitokondrial stres durumlarında serbestlenen sitokrom-c apoptotik hücre ölümünde kaspaz-3 aktivasyonu için önemli rol teşkil eder (6, 64, 91). Kaspaz-3'te diğer kaspaz kaskadının tetiklenmesini sağlar (89,90).

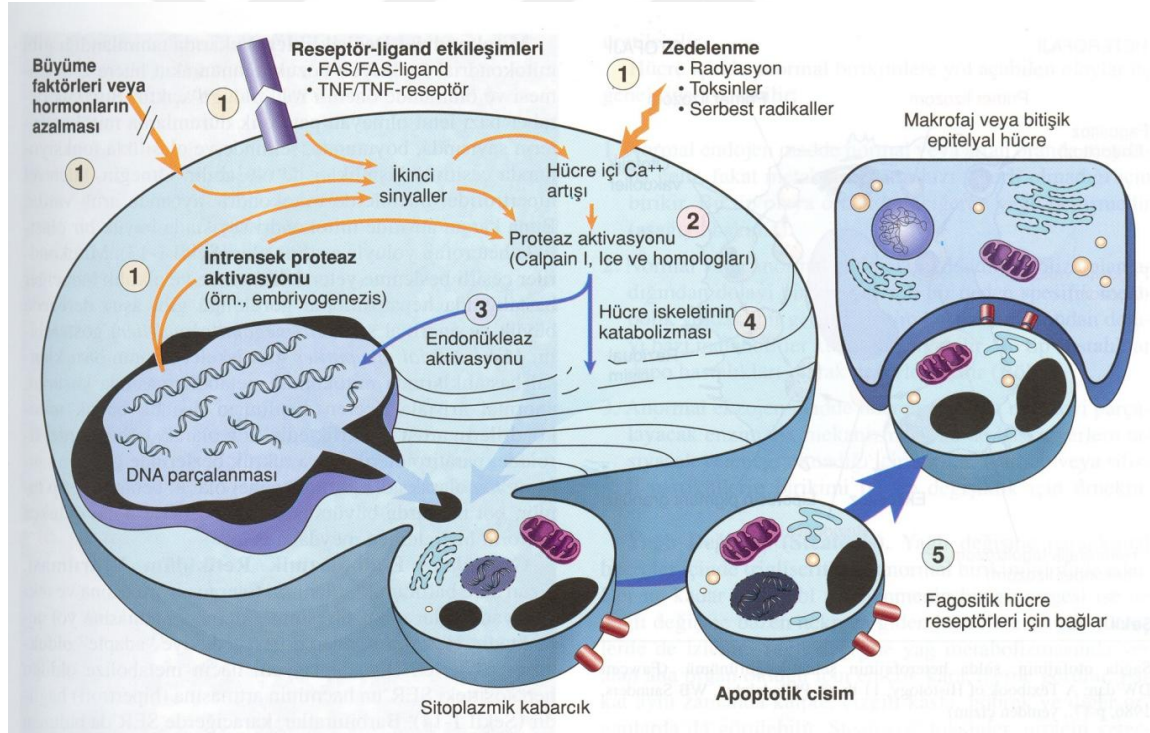
3. Endoplazmik retikulum aracılı apoptozis oluşturulması: Kaspaz-12, endoplazmik retikulum membranında lokalize olan ve endoplazmik retikulum aracılı apoptozis için esas teşkil eden bir kaspazdır. Son çalışmalar Ca^{++} seviyelerinin ve kalpainin endoplazmik retikulumu etkilemesi ile prokaspaz-12'nin aktiflendiği yönündedir. Aktiflenmiş kaspaz-12 sitoplazmaya yönelir, kaspaz-9 ile karşılıklı olarak etkileşip sitozolik kaspaz kaskadını aktive ederek apoptoziste görev alır (92,93).

2.6.2.4.1. Apoptotik Hücrede Gözlenen Morfolojik Değişiklikler

Apoptozise giden hücrenin morfolojisinde şu değişiklikler gözlenir;

1. Yüzey organellerinin kaybı (94, 95),
2. Hücre büzülmesi (94-96),
3. Kromatin yoğunlaşması (94, 95, 97) (Şekil 2.14),
4. Sitoplazmik baloncuklar ve apoptotik cisimlerin oluşması (95,96).

Apoptozis için morfolojik değişimler olurken fosfolipidlerin açığa çıkar. Sağlıklı hücrelerde plazma membranının içinde bulunan fosfolipidlerin apoptotik hücrelerde plazma membranının dış yüzünde bulunur ve fagositik hücreler için sinyal görevi görür (64). Hücre yüzeyinde işaretler taşıyan bu apoptotik cisimcikler makrofajlar ya da bitişik epitelyal hücrelerce fagosit edilirlir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13: Apoptozis ve fagositoz (98)

SKT sonra hücre membran rüptürü ve inflamasyona bağlı hücre ölümü meydana gelirken hücre ölümünün bir kısmından apoptozis sorumludur (99-101). SKT gibi pek çok spinal hastalıkta apoptozise bağlı hücre ölümü meydana gelmektedir (102,103).

Reseptör bağımlı apoptozis hücre dışı sinyallerle, özellikle de tümör nekroz faktör ile uyarılmaktadır. Spinal kord hasarı ile tümör nekroz faktör (TNF) hasarlı alanda hızla birikir. Nöronların, mikroglia ve oligodendrositlerdeki fas reseptör aktivasyonu kaspaz aktivasyonuna neden olur. Bunlar kaspaz-8 ve etkileyici kaspaz olarak bilinen kaspaz-3, kaspaz-6'dır. Bu kaspazların aktivasyonu etkilenen hücrelerin ölümü ile sonuçlanır (102).

Mitokondri-sitokrom c aracılı reseptör bağımsız yol, hücre içi sinyallerle aktive edilir. Bu yolun aktivasyonu, spinal kord hasarı sonrası artan hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun mitokondrial hasarı, sitokrom c salınımını ve alternatif programlı kaspaz aktivasyonunu teşvik ettiği düşünülmüştür. Bu aşamada sitokrom c ile apoptoz aktive edici faktör birleşerek kaspaz 9'u aktive eder. Reseptör bağımlı yoldaki gibi kaspaz-6 ve kaspaz-3 aktive edilir (102). SKT'nin özellikle kaspaz aktivasyonunu anlamlı derecede aktive ettiği bilinmektedir (103,104).

2.6.2.5. Yaşayan Aksonların Demiyelinizasyonu

Santral sinir sisteminde miyelin oligodendrositler tarafından yapılır. Oligodendrositler travma sonrası; glutamak eksitotoksitesi, apoptoz, serbest radikal hasarı, proinflamatuvar ve inflamatuvar mediatör ve sitokinlerin aktivasyonu ile hasara uğrarlar. SKT' den sonra saatler içinde hasar merkezinde oligodendrosit kaybı olur. Bu kayıp haftalar boyunca yukarı ve aşağı yönde beyaz maddede apoptoz ile devam eder (105,106). Bu patolojik süreç özellikle SKT'den sonra subakut ve kronik fazlarda görünür (56,107). Oligodendrositlerdeki bu kayıp demiyelinizasyona yol açar. Miyelinin kaybıyla aksonlar, serbest radikallerin ve inflamatuvar sitokinlerin tahrip edici etkilerine direk olarak maruz kalırlar. Bu da nekroz ve apoptoz ile nöronların kaybına yol açar. Demiyelinizasyon iletinin yavaşlamasına ya da kesilmesine yol açar (73,108).

2.6.2.6. Lokal Vasküler Hasar

Akut spinal kord travmasında spinal kordda vasküler hasara bağlı ciddi değişiklikler meydana gelmektedir. Vasküler hasar; iskemi reperfüzyon,

otoregülasyonun bozulması, sistemik hipotansiyon, hemoraji ve mikrosirkülasyon hasar şeklinde görülür (109). Travmatize spinal kordda, daha çok gri madde olmak üzere ciddi hemorajiler gözlenir. Bu durum hemorajik nekroz ve onu takip eden santral miyelomalaziye neden olur (110).

Travma bölgesindeki büyük arterlerin hasar görme olasılığı düşük olup lokal mikrosirkülasyonda (kapiller ve venüllerde) major değişiklikler meydana gelmektedir. Bu durum kısa zaman içinde travma bölgesinde kan akımını azaltmaktadır (111,112). Kan akımındaki ciddi derecede azalma iskemiyeye yol açmaktadır. Sekonder yaralanmanın ortaya çıkmasındaki önemli etkenlerden biri olan bu iske mi ilk birkaç saat içinde progresif olarak ilerler. İske mi, dokulara yeterli glukoz ve oksijen sağlanamamasına, dolaylı olarak da enerji yetersizliği ve ATP depolarında azalmaya neden olur (113). İske mi nedeni olarak; laktik asidoza bağlı doku pH'sının düşmesi, fibrin ve trombosit birikimine bağlı venöz staz ve konjesyon, kapiller endotelial hasar, ödem, peteşiyal kanamalar, yaralanma sonucunda organizmanın bir yanıtı olarak vazoa ktif ajanların ortamda bulunması gibi birçok teori ileri sürülmüştür. Ancak tam mekanizması bilinmemektedir. iske mi ve sonucunda oluşan anaerobik solunum birçok patolojik sürecin tetiklenmesine yol açar (114,115). Sistemik hipotansiyon ve hipoksi, SKT bağlı iskemiyi daha da ağırlaştırır (116-118).

Travmatik kordda mikrosirkülasyon bozukluğuna bağlı oluşan direkt hasarın yanında hasarlı spinal segmentin damarlarında iske mi ve reperfüzyonun açığa çıkardığı serbest radikaller ve diğer toksik yan ürünler endotel hasarını meydana getirir (119). Bu hasar zaten ilerleyen bir kaskatı daha da alevlendirir (120). İske mi sırasında üretilen serbest oksijen radikalleri özellikle en çok erken reperfüzyon sürecinde artar (121,122). Bu çok yüksek reaktif oksijen ve nitrojen türleri oksidatif sitrese neden olur. SKT'deki vasküler olayların tam mekanizması hala incelenirse da erken dönemde endotelial hasarın oluştuğu bilinmektedir (110).

SKT sonrası oluşan ilk fazda, postkapiller venüller veya sulkal arterlerin rüptürüne bağlı olarak spinal kordun içinde peteşiyel hemorajiler ortaya çıkar. Bu arter veya venüller ya travmanın direkt etkisine bağlı olarak oluşan mekanik kopma sonucu veya venöz staz ve distansiyona bağlı olarak oluşan intravasküler koagülasyon sonucu

yırtılırlar (39, 116,123, 124). Anterior spinal arter, anterior sulcal arter gibi geniş damarlar direk mekanik yaralanmadan genellikle korunurlar (125).

Spinal kordun intrinsik damarlarından olan proteinöz sızıntı, hem yaralanma yerinde hem de çevre dokularda ödeme yol açar (50,116). Ödem, rölatif olarak spinal kordda basıncın artmasına; bu da spinal kord lokal kan akımının bozulmasına yol açar (126). Krater formasyonu, nonsellüler debrisin yapışması, mikroglobuler formasyonlar ve endotelial hücre fonksiyonlarındaki değişiklikler vasküler permeabilite ve ödem oluşumunu artırır (110). Hasar gören kapillerlerden açığa çıkan endotelin dahil olmak üzere, diğer mekanik, biyokimyasal ve nörojenik mekanizmalar da kord perfüzyon basıncının bozulmasına neden olurlar (116).

Şiddetli spinal kord zedelenmesinin kan akımında majör bir düşüşe yol açtığı ve travmadan hemen sonra iskeminin başladığı bilinmektedir (17, 127, 128). İskeminin tedavi edilmemesi halinde ilk 3 saat içinde kötüleştigi ve en az 24 saat devam ettiği gösterilmiştir (114). Normal spinal kord, ortalama sistemik kan basıncında büyük oynamalara rağmen otoregülasyonunu sağlayabilecek kapasitededir. Travmadan sonra spinal kord otoregülasyonu, travmanın şiddetine bağlı olarak kaybolabilir (129,130). Posttravmatik ortalama arteriyel kan basıncının 160 mm Hg'nın üzerine çıkarılmasının dahi spinal kord kan akımını anlamlı ölçüde düzeltmediği; aksine, komşu bölgelerde hiperemiye yol açtığı bildirilmiştir (131). SKT sonrası yaralanma bölgesinde birçok vasküler değişikliklik ortaya çıkmaktadır. Bu vasküler değişiklikler tedavi edilebilir. Sekonder hasarda önemli rol oynadığı düşünülen posttravmatik iskemi konsepti de, geri dönüşümlü ve tedavi edilebilir olması nedeniyle önem taşımaktadır (114).

2.6.2.7. Travmatize Spinal Kordda TNF- α Üretimi

Birçok inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıkların patogeneğinde önemli role sahip olan TNF- α major olarak aktive monosit ve makrofajlardan salınmaktadır. Etkisini membran bağımlı reseptör molekülleri TNF reseptör 1(TNFR1) ve TNFR2 aracılığıyla gösterir (132). Sentezi birçok eksojen (lipopolisakkaritler, β - glukanlar) ve endojen(IL)mediatörler aracılığıyla uyarılmaktadır.

TNF- α ;

1. Lökositler için vasküler endotelial adezyonu indükler,
2. Lökosit aktivasyonu,
3. IL-1, IL-6, IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını artırırken; IL-4, IL-10, IL-13 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını da artırır.
4. MHC-Class 1 molekül indüksiyonu yapar.
5. Endotel hücreleri ve astrositler üzerindeki ICAM-1 ekspresyonunu artırır.
6. Akut faz reaktanlarında artış oluşturmak gibi inflamatuvar süreçte etkili pek çok etkiye sahiptir.

Endojen TNF- α 'nın, SSS akut injurisindeki rolü üzerinde uzlaşa yoktur. SKT bölgesinde TNF- α üretimi ile sekonder hasar arasında kuvvetli bir ilişki vardır (119, 133-135). Travmatik spinal kord lezyon bölgelerinde TNF- α varlığını gösterilmiş fakat BOS ve serumda tespit edilememiştir (134). Ratlarda spinal kord injurisinde travma sahasında injuriden sonraki 30 dk içinde TNF- α mRNA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (133). Spesifik reseptörleri aracılığıyla travma sahasında birikmektedir. İnjurinin şiddeti TNF- α seviyesiyle orantılıdır. Travma sahasında TNF- α 'nın artmadığı lökositopenik ratlarda motor kaybın belirgin derecede az olduğu gösterilmiştir (119). Böylece injuri sahasındaki TNF- α artışının hasarın bir nedeni olduğu anlaşılmıştır (136-138).

TNF- α sinyal mekanizması çok karmaşıktır. TNF- α nın ortaya çıkması ve SSS'de biyolojik yanıtın oluşması için RGS7(regulator of G-protein signaling-7)'nin ortamda bulunması gerekmektedir (139).

Çok ilginç olarak birçok çalışmanın aksine travma sonrası hasarı iyileştirdiğine dair de kanıtlar vardır. Yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada TNF- α 'ya injuri fazına bağlı olarak ikili bir rol biçilmiştir. Akut fazda çok fazla salgılanması zararlı iken kronik fazda travmaya cevap olarak salgılanması yararlıdır (140).

TNF- α reseptörleri, travmaya karşı hücrenin cevabını ve biyolojik etkilerini düzenler (141,142). Ek olarak TNF- α , nötrofilleri direkt aktive ederek doku hasarını artırır (143,144). E-selektin gibi moleküllerin salınımını artırarak aktive nötrofillerin

endotelial hücre yüzeylerine yapışmasını sağlar (145). Endotelial hücre yüzeylerine nötrofil yapışmasının inhibisyonu travmanın yarattığı spinal kord hasarının şiddetini azaltır (146). Mikrogliazis ve astrogliozisin güçlü bir mediatörü olan TNF- α hücre ölümüne neden olmaktadır.

2.6.2.8. İyonik Homeostazideki Değişiklikler

Hüresel fonksiyonların yerine getirilebilmesi için hücre içi ve hücre dışı ortamlar arasındaki Na⁺ ve K⁺ gradiyentinin korunması gerekir. Na⁺ konsantrasyonu hücre dışı sıvıda fazlayken K⁺ konsantrasyonu hücre içi sıvıda fazladır. Sağlam bir hücre membranı ve bu membrana bağlı olan Na⁺/K⁺-ATP_{ase} enziminin normal aktivitesi bu elektrokimyasal gradiyentin devamını sağlar (147). İskemi sonucu hücre membranından salınan serbest yağ asitleri ve serbest radikallere bağlı lipid peroksidasyonu sonucu Na⁺/K⁺-ATP_{ase} aktivitesi bozulmaktadır (148,149). Deneysel çalışmalarda Na⁺/K⁺-ATP_{ase} aktivitesinin spinal kord yaralanmasının 5. dakikasından itibaren düştüğü gösterilmiştir (148,149). Bu enzimin aktivitesinin bozulması Na⁺ konsantrasyonunun hücre içinde K⁺ konsantrasyonunun da hücre dışında artmasına yol açar. Bu durum aksonal iletiyi durdurur (150). Hücre dışında artan K⁺ konsantrasyonu hücrenin aşırı depolarizasyonuna neden olabilir. Bu durumun spinal şoktan da sorumlu olabileceği belirtilmiştir (151,152).

Hücre içine giren sodyum ve klor iyonları beraberinde suyun da hücre içinde toplanmasına neden olarak akut hücre şişmesine yol açarlar. Sürecin devam etmesine bağlı değişen membran polarizasyonu, Ca⁺⁺ iyonunun hücre içine girmesine ve eksitator aminoasitlerin sinaptik veziküllerden salınmasına yol açar (39).

Spinal kord yaralanması, doku magnezyum (Mg⁺⁺) konsantrasyonunu da etkilemektedir. Magnezyum iyon konsantrasyonunun azalması enzimatik aktiviteleri değiştirebilir, enerji üretimini ve protein sentezini azaltabilir. Doku Mg⁺⁺ konsantrasyonunun deneysel spinal kord yaralanmasından sonra azaldığı ve 7. günde normale döndüğü gösterilmiştir (147).

Metilprednizolon tedavisinin deneysel spinal kord yaralanmasında Na⁺/K⁺-ATPase aktivitesini anlamlı derecede artırdığı ortaya koyulmuştur (149).

2.6.2.9. Hücre İçine Aşırı Kalsiyum Girişi

Normal koşullarda hücre dışı Ca^{++} konsantrasyonu, hücre içi kompartmana oranla 10.000 kat daha yüksektir. Bu nedenle Ca^{++} 'nın hücre dışında tutulması için büyük bir elektromekanik güce ihtiyaç vardır (86).

Sekonder hasar mekanizmasının anahtar mekanizmalarından biri de hücre içine aşırı Ca^{++} girişidir. Ca^{++} girişi akut injuri ile tetiklenir sonrasında saatler ve haftalar boyunca devam eder (56). İnjury anında nörona Ca^{++} girişi hasarın akut fazına katkıda bulursa da akut injurinin tetiklediği ek bir Ca^{++} girişi de saatler boyunca devam eder (56). Konsantrasyon gradientine karşı Ca^{++} girişi mitokondrial hasara, aberran enzim aktivasyonlarına, gen ekspresyonunda değişikliklere ve apoptoza neden olur. Hücre içine girdiğinde Ca^{++} iyonları sadece kaspaz ve kalpainleri aktive ederek lokal aksoplazmayı bozmakla kalmaz aynı zamanda hemen yakın bölgedeki kalpain aktivasyonunun eşliğini yükselterek aksoplazma ve membranın yıkılmasına ve daha fazla Ca^{++} girişine neden olurlar (103,153). Beyaz cevherde hasarlanan aksonlardaki Ca^{++} girişinin önemli bir kısmı da akut injurinin ilk anında Na^+ 'nın içeri girişi ve Na^+ - Ca^{++} pompası ile Na^+ 'yı dışarı atmak için hasar verici seviyede Ca^{++} 'nın içeri girişine bağlıdır. Bu çok basamaklı kaskat optik sinir ve spinal kordun miyelinize aksonlarında gösterilmiştir (154,155). Gecikmiş Ca^{++} bloklama, spinal kord aksonlarına sekonder hasarı azaltmak için seçilebilecek tedavi yöntemlerinden biridir (56).

Tablo 2.1: Hücre içine aşırı Ca^{++} girişine bağlı meydana gelen olaylar

1. Serbest radikallerin ortaya çıkması,
2. Aksonal dejenerasyon,
3. Serbest yağ asitlerinin serbestlenmesi,
4. Fosfalipaz A2 aktivasyonu,
5. Mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulması,
6. Toksik eikosanoidlerin sentezlenmesi,
7. Hücre iskeletinin mikrotubuler ve mikroflament komponentlerinin modifikasyonu,
8. Proteaz, fosfataz ve endonükleaz gibi litik enzimlerin aktivasyonu,
9. Ca^{++} bağımlı ATP aktivasyonu sonucu enerji rezervlerinin tükenmesi,
10. Reseptör proteinlerin kovalent modifikasyonu.

Hücre içine aşırı Ca^{++} girişi pek çok ölümcül mekanizmanın tetiklenmesine yol açmaktadır. Pek çok deneysel çalışmada hüce içine Ca^{++} girişini engelleyen Ca^{++} kanal blokerleri denenmiştir. Bu ajanların spinal kord kan akımını düzelttiği ve iyileşmeyi olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (87, 113, 114, 156-158). Bu yararlı etkilerin, kalsiyumun nörotoksik etkilerinin antagonize edilmesinden çok, vazospazmın azaltılması sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (39, 87). Nimodipin gibi kalsiyum kanal blokerlerinin yararlı etki potansiyellerini, birlikte kullanılan vazopressör ajanlara bağlayan araştırmacılar da vardır (113, 157, 158).

2.6.2.10. Opioid Peptidlerin Lokal Salınımı

İlk kez 1973'te gösterilen opioid reseptörleri beyin sapı, talamus, amygdala, arka hipofiz ve medulla spinalis'in substantia gelatinosa'sında yoğun biçimde bulunmakta ve bütün opioidler bu reseptörlere spesifik bir biçimde bağlanmaktadır. Bu reseptörlerin opioidlerle veya elektrikle uyarılması sonucu analjezi meydana gelmekte ve bu etki antagonistlerle ortadan kaldırılmaktadır (159).

Spinal kord, opioid peptidler yönünden oldukça zengin bir dokudur. Opioid reseptörler spinal kordda duyuşal, otonomik ve somato-motor fonksiyonlarla ilişkilidir (160).

Spinal kordda iyi tanımlanmış 3 tip opioid reseptörü; γ (gamma), κ (kappa) ve μ (mü) reseptörleri vardır. Farklı dağılımlara, farklı fizyolojik ve farmakolojik etkilere sahip olan bu reseptörlerin üçü de spinal kordun dorsal hornunda yoğun bir biçimde yer almaktadır (160).

SKT sonrası kappa reseptör üretimi artar (39). Spinal kord yaralanmasında opioidler, kappa reseptörlerini aktive ederek mikrosirkülasyonu bozarlar. Bu nedenle, kappa reseptörleri üzerine selektif etkili opioid reseptörleri ile yapılan çalışmalar daha başarılı sonuçlar vermiştir (39, 19, 160, 161-163).

Naloksan ve Tiroid serbestleştirici hormon gibi endojen opioid reseptör antagonistlerinin spinal kord kan akımını arttırdıkları ve nörolojik defisitleri azalttıkları deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (128,156, 164-167).

2.6.2.11. Nitrit Oksit

Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-Arginin'den sentezlenen nitrit oksit (NO), potent serbest radikal yapıda bir gaz olup sekonder hasar mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır (168). SSS'de bir takım fizyolojik ve patolojik olaylar içinde yer alan en küçük endojen biyolojik mediatörlerden biridir. Nöronal NOS (nNOS), endotelial (eNOS) ve inducible NOS (iNOS) olarak adlandırılan NOS'un 3 ayrı izoformu tarafından sentezlenir. İNOS ise inflamatuvar ve diğer uyarımlarla sentezlenir (169).

NO su ve yağda kolayca çözünebilir ve hücre içine serbestçe diffüze olabilir. O₂ ile reaksiyona girerek nitrojen dioksit ve peroksinitrit gibi çok yüksek okside edici özellikleri olan moleküllere dönüşür. Bu oksidanlar NO'dan daha toksiktir. Peroksinitrit, superoksit ile NO'nun reaksiyonundan ortaya çıkan toksik bir serbest radikaldir ve patolojik durumlarda NO ototoksitesine neden olur.

Patolojik koşullardaki iNOS'a bağlı NO aşırı üretimi ve peroksinitrit oluşumu; protein hasarı, lipit peroksidasyonunun artışı, DNA hasarı, mitokondrial respirasyonun durması, DNA replikasyonunun inhibisyonu ile hücre ölümüne neden olur (170).

Diğer SSS yaralanma tiplerine benzer şekilde spinal kord yaralanmasında da doku NO seviyeleri hızla yükselir. iNOS daha geç bir fazda travmadan bir gün sonra indüklenir.

SKT sıçan modellerinde immünohistokimyasal çalışmalarda yaralanma sonrası nötrofil, makrofaj, ependimal, endotelial ve glial hücreleri içeren iNOS immünreaktivitesi gösterilmiştir (169).

Nonspesifik NOS inhibitörleri, spesifik iNOS inhibitörleri ve iNOS'un genetik inhibisyonu ile yapılan deneysel spinal travma çalışmalarında fonksiyonel iyileşme görülmüştür (169, 171). Spinal kord yaralanmasının erken dönemlerinde NOS inhibisyonunun nörolojik fonksiyonun iyileştirilmesinde ve kronik dönemde histopatolojik değişimlerin düzeltilmesinde faydalı etkileri vardır (172).

NOS nöronları, spinal kord kan akımına etki eder ve kan - spinal kord bariyeri fonksiyonunu regüle ediyor görülmektedir. Dorsal hornda spinal kord iskemisi veya perifer sinir yaralanmasını takiben NOS ekspresyonu görülür. Kord hemiseksiyonu ya

da darbe yaralanması NOS(+) internöronlarda özellikle lezyon rostralinde upregülasyonla sonuçlanır.

NOS ekspresyonunun selektif inhibitörlerle blokajı SKT' nin indüklediği kan – spinal kord bariyer tahribatı, ödem formasyonu, hücre reaksiyonlarının azaltılması, düzelmiş motor fonksiyonlarla ilişkilidir (173).

2.6.3. Sekonder Hasarın Kontrolü Çalışmaları

Primer hasarın önüne geçilemez ancak primer hasarı azaltmak amacıyla dekompresyon yapılabilir. Sekonder hasarı azaltmak için pek çok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Sekonder hasarı değerlendirmek için yapılan çalışmalara göre; hasar azaltılabilir, iyileşme hızlandırılabilir ve iyileşmeyi artırılabilir. Bu amaçla aşağıdaki çalışmalar yapılmaktadır;

A) Nöroinflamasyonu azaltmak (immün modulator ilaçlar= minosiklin ve lokosit adezyon moleküllere karşı antikor (59,174-176), glukokortikoid, demir şelasyonu, glutasyon ile serbest radikal azaltılması (177-180)) .

B) Eksitotoksik hasarı azaltmak: NMDA reseptör antagonistleri (181).

C) Kan akımını artırmak: Opioid antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri (182).

D) Hasarlanmış membranların tamiri: Sürfaktanlar (183,184).

E) Lokal elektrolit imbalansının düzeltilmesi: Na⁺ ve Ca⁺⁺ kanal blokerleri (185-189).

F) Alternatif olarak ölü nöronları yerine koymaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır;

-Yeni nöron veya miyelin hücrelerine akson rejenerasyonu için uygun ortam yaratılması(190).

- Periferik sinir hücresi(191), schwann hücresi(192), olfaktör hücre(193), embriyonik kök hücre(194-196), yetişkin kök hücre(197-200), laboratuvar kök hücre transplantasyonu(201-203).

G) Moleküler terapiler klinik olarak henüz kanıtlanabilir sonuç vermemiştir.

- Nöroprotektif terapiler (204),

- Büyüme faktörleri(205, 206),
- Miyelin inhibitörlerin inhibisyonu(207),
- Matriks düzenleyicilerin modifiye edilmesi(208).

Sekonder hasar süreci çok kompleks bir süreç olup her açıdan ele alınmalıdır (56, 190, 209).

2.7. Spinal Kord Yaralanmasının Patolojisi

Spinal kordda travmayı takiben başlayan ikincil hasar sürecindeki patolojik değişiklikler akut, subakut ve kronik olarak sınıflandırılmıştır. Hemoraji ve hızlı hücre ölümünü takiben inflamatuvar hücreler travma bölgesine göç eder. Yaralanmadan haftalar sonra skar dokusu ve kavite oluşur (53).

2.7.1. Spinal Kord Yaralanmasının Akut Dönem Patolojisi

Omuriliğe şiddetli darbe geldikten sonraki ilk bir kaç dakika içinde omuriliğin kabaca görünümü ve histolojisi normaldir. İlk birkaç saat içinde geri dönüşebilen kommosyo ve nekroza giden bir kontüzyon oluşur. Işık ve elektron mikroskopi çalışmalarında 5. dakikada aksonlar normal olup, gri cevherdeki venüller şişer, 15-30. dakikada eritrositler kapiller ve venüllerin etrafına sızar. Omurilik gri cevherinde peteşiyal kanamalar gözlenir. Bu kanamalar bir kaç saat içinde beyaz cevher ve arka gri cevheri de kapsar.

Nöronlarda nekrozun belirtileri birinci saatte görülmeye başlar. Sitoplazmik eozinofili, hayalet hücreler, nissl cisimciğinin kaybolması, küçülmüş nöronlar, hiperkromatizasyon, irregüler şekil nekrozun belirtileridir.

Yaralanmadan 2 saat sonra mikroglia ve polimorfonükleer lökositler gibi inflamatuvar hücrelerin invazyonu başlar, 4. saatte miyelin kılıfları yırtılır ve aksonlar dejenere olur, 6. saatte vazojenik ödem gelişir. Omurilik hasarı sonrası 12-24. saatlerde omuriliğin santral bölgesi anatomik yapıları normal görünümünü kaybederler. Santral bölge diğer bölgelere göre travmadan daha fazla etkilenmektedir, bunun nedeni olarak

bu bölgenin daha vasküler ve yumuşak olması gösterilmiştir. 24-48. saatte santral hemoraji bölgelerinde nekroz oluşur. Bu dönemde gri ve beyaz cevher ayrımı yapılamaz.

Akut dönemde lezyon bölgesinde görülen polimorf nüveli lökositlerin yerini sonraki günlerde makrofajlar alır. Bir hafta sonunda nekrotik alanların kistik dejenerasyonu belirginleşir (210-212). Akut dönemde omurilikte kontüzyon ve laserasyona neden olan patolojik olaylarla birlikte subaraknoid kanama da sık olarak görülmektedir (213).

2.7.2. Spinal Kord Yaralanmasının Subakut Dönem Patolojisi

Yaralanmadan günler sonra ortaya çıkar. Subakut fazda, aktive olmuş mikroglia ve astrositlerin reaktif gliozisi oluşturduğu tespit edilmiştir. Mikroglianın nöronal dejenerasyon varlığında, kimyasal uyarılar altında sitotoksik makrofajlara dönüştüğü gösterilmiştir. Bu hücreler lezyon merkezinde çalışırlar ve nöroji yaparlar. Reaktif astrositler birinci haftada lezyon yanında birikmeye başlar. Astrositik cevap 14. günde en fazla iken, 28. güne kadar görülebilir.

Schwann hücreleri, meningeal hücreler ve fibroblastlar lezyon bölgesine göç eden diğer periferel hücrelerdir. Schwann hücrelerinin yaralı akson miyelinini tamir ederek ve nörotrofik faktörleri salgılayarak aksonal rejenerasyonda rol aldıkları gösterilmiştir.

Nekrotik dokuların rezorbsiyonu ile “Lückenfelder” denilen boş kistik alanlar oluşur (211,214).

2.7.3. Spinal Kord Yaralanmasının Kronik Dönem Patolojisi

Yaralanmadan haftalar sonra açığa çıkar. Akut ve subakut faz olaylarının çözülmeye başlamasıyla santral kanal ile birleşmiş, beyin-omurilik sıvısı ile dolu kistik kaviteler gelişir. Lezyon bölgesinin rostral ve kaudalinde dejeneratif ve rejeneratif olaylar gelişir. Polimorfonükleer lökositler azalırken, makrofajların sayısı giderek artar.

Makrofajlar yaralanma bölgesindeki hücresel artık, miyelin ve eritrositleri fagosite ederler.

Astrositik ve fibrotik bir skar dokusu oluşur. Arka köklerde amputasyon nöromaları oluşur. Nekrotik bölge, kist formasyonu veya posttravmatik siringomiyeliye dönüşebilir. Omurilikte yara iyileşmesi kistik kavite oluşması ile sonuçlanır. Kronik dönemde görülen diğer patolojik olaylar kistik miyelomalazi, wallerian dejenerasyon, skar, gliozis, araknoidit ve atrofi şeklinde sıralanabilir (215).



3. MATERYAL

Spinal travma modeli çalışmalarında pek çok ilaç denenmektedir. Biz çalışmamızda bir fosfodiesteraz tip 5 enzim inhibitörü olan tadalafili kullandık. Tadalafilin etki mekanizmasının anlaşılabilmesi için penil ereksiyonda düz kas gevşeme fizyolojisinin bilinmesi gerekmektedir.

Penil ereksiyon oluşması için korpus kavernozum düz kasının gevşemesi gerekmektedir. Bu gevşeme çeşitli mekanizmalar sonucu hücre içindeki Ca^{++} iyon konsantrasyonunun düşürülmesi ile oluşur. Hücre içindeki bu fizyolojik süreçte iki ana haberci (second messenger) sistem rol oynar; siklik adenozin monofosfat (c-AMP) ve siklik guanozin monofosfat (c-GMP). ATP'den c-AMP oluşumu için adenil siklaz enziminin aktive edilmesi gerekir, bu aktivasyonda; adenozin, prostaglandin, vasoaktif intestinal peptid (VIP) ve kalsitonin gene-related peptide (CGRP) rol oynayarak c-AMP oluşumunu hızlandırırlar (216).

GTP'den c-GMP'ye dönüşümü sağlayan guanil siklaz enzimini, nitrik oksit (NO), karbon monoksit (CO) ve natriüretik peptid aktive eder. Küçük bir molekül olan NO, L-arjinin ve oksijen varlığında nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi yardımı ile oluşmaktadır. Ereksiyon mekanizmasında endotel hücrelerindeki eNOS ve nöronlardaki nNOS NO oluşumunda rol alırlar. Oluşan NO düz kas hücresi içine girdikten sonra soluble guanil siklaz enzimi üzerinden c-AMP düzeyini yükseltir (216). Bir sonraki basamakta, sitoplazma içi artmış iki haberci molekül (c-AMP ve c-GMP) hücre içinde protein kinaz enzimini uyarır, aktive olmuş protein kinaz hücrede belli protein ve iyon kanallarının fosforilasyonuna neden olur (216).

Fosforilasyon sonucu ise:

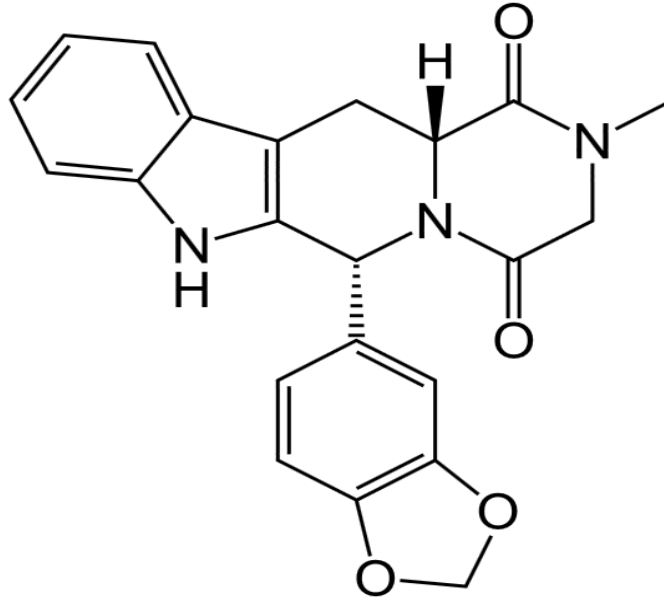
1. Potasyum kanalları açılır,
2. Sitoplazmadaki Ca^{++} iyonu endoplazmik retikulum içine gönderilir,
3. Voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının inhibisyonu ile hücre içine dışarıdan Ca^{++} iyon girişinin azalması sağlanır.

Tüm bu karışık mekanizmalar sonunda sitoplazmada Ca^{++} seviyesi düşer ve düz kas gevşemesi ve penil ereksiyon gerçekleşir. Bir süre sonra cGMP fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzimi tarafından yıkılarak inaktif form olan 5'-GMP'ye çevrilir. cGMP'nin azalması ile Ca^{++} kanalları tekrar açılır ve hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunun artması ile vazokonstrüksiyon olur ve ereksiyon sonlanır. FDE-5 inhibitörleri c- GMP üzerinden etkilidir. Erektile disfonksiyonun medikal tedavisinde kullanılan bu ilaçlar düz kas içerisine girerek cGMP yıkımına neden olan FDE5'i bloke eder ve böylece hücre içi cGMP düzeyinin yüksek kalmasını ve dolayısı ile vazodilatasyonun devamını sağlarlar.

Memeli hücrelerinde 11 farklı fosfodiesteraz enzimi tanımlanmıştır; bunlardan PDE 5, PDE 6 ve PDE 9 c-GMP'ye özgün olarak çalışmaktadırlar. PDE-5'in özellikle korpus kavernozumda c-GMP yolu üzerinden etkili olduğu bilinmektedir (217). PDE-5 inhibitörünün kullanılması, ereksiyonun tetiklenmesi sonrası korpus kavernozum düz kası içinde c-GMP'nin etkinliğini artırarak ereksiyonu kolaylaştırmaktadır. Bu ilaçların etkilerinin ortaya çıkabilmesi için NO'nun oluşması ve sitoplazmada c-GMP düzeyinin artması gerekmektedir. Nörojenik erektil disfonksiyon hastalarında (örneğin diabet) NO'nun oluşma yolu bozuk olduğundan FDE-5 inhibitörlerinin etkileri kısıtlı olmaktadır.

Günümüzde klinik uygulamalarda üç molekül PDE inhibitörü (sildenafil, vardenafil, tadalafil) bulunmaktadır (218,219). İlk iki molekülün yapısı birbirine benzer iken tadalafilin yapısı değişiklik gösterir (Şekil 3.1) ; bu da onun etkisinde farklılığa yol açmaktadır (220).

FDE-5 inhibitörleri c-GMP molekülüne benzeyen yapıları nedeniyle kompetitif inhibisyon yolu ile etki göstermektedirler.



Şekil 3.1: Tadalafilin moleküler yapısı (C₂₂H₁₉N₃O₄)(221).

Tadalafil en uzun etkili fosfodiesteraz inhibitörüdür. Yarılanma ömrü 17,5 saat olup etki süresi ise 36 saattir. Karaciğerde metabolize edilerek safra yolu ile vücuttan atılmaktadır. Karaciğerde ağırlıklı olarak CYP3A4 enzim sistemi tarafından metabolize edilir. Aynı sistem tarafından metabolize edilen diğer ilaçlarla birlikte alındığında yarılanma ömrü ve etki süresi değişmektedir.

Tadalafil erektil disfonksiyon tedavisine ek olarak pulmoner arteryal hipertansiyon, hipertansiyon, prostat hiperplazisi ve koroner kalp hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaktadır. Diğer yandan deneysel çalışmalarda PDE5 inhibitörlerinin beyin, kalp kası, spinal kord ve böbrek gibi pek çok dokuda koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (222).

Klinik farmakolojik çalışmalarda tadalafilin nitratların hipotansif etkisini potansiyalize ettiği görülmüştür. Bu nedenle herhangi bir nedenle nitrat alan kişilerde tadalafil kullanımı belirgin hipotansiyona neden olacağından kullanılmamalıdır.

Tadalafil selektif PDE5 inhibitörüdür. PDE5; korpus kavernozumdaki düz kaslar, prostat, vasküler düz kaslarda, iç organlar ve mesane düz kaslarında, plateletlerde, iskelet kası, böbrek, akciğer, serebellum ve pankreasta bulunmaktadır. Tadalafil PDE5'e PDE1, PDE2, PDE4 ve PDE7'den 10.000 kat daha güçlü etkilidir. Bu

PDE' ler kalp, beyin, kan damarları, karaciğer, lökosit, iskelet kası ve diğer organlarda bulunmaktadır.

Tadalafil kullanımına bağlı artan hücre içi cGMP düzeyi pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde gevşeme ve arter yatağında vazodilatasyona neden olarak pulmoner hipertansiyonda azalmaya neden olmaktadır. Tadalafil kullanımına bağlı; baş ağrısı, dispepsi, bel ağrısı, yüzde kızarıklık, miyalji, daire, gastritis, burun akıntısı, atralji, karın ağrısı gibi bazı yan etkiler görülebilmektedir.

Tadalafilin diyabetik farelerde antiinflamatuvar etkisi üzerine yapılan bir çalışmada TNF- α ve IL-1 β değerlerini düşürdüğü görülmüştür (223). Başka bir çalışmada uzun süre tadalafil kullanan arterial erektil disfonksiyonu olan hastalarda endotelial apoptozisin baskılandığı görülmüştür (224).

Ratlarda renal iskemi reperfüzyon modeliyle yapılan bir çalışmada tadalafil kullanımının eNOS düzeyini azalttığı görülmüştür. Aynı çalışmada MDA düzeylerinde de baskılanma olduğu tespit edilmiştir (225).

4. METOD

Bu deneysel çalışma, Kobay Deneysel Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. yerel etik kurulu (protokol no:49) onayı alındıktan sonra Kobay Deneysel Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Çalışmada 3 gruba ayrılan 20 adet yetişkin erkek Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratların ağırlıkları 250-320 gr. arasında olup ortalama ağırlıkları 272 gramdı. Ratlardan alınan örnekler Hacettepe Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarında incelendi.

Grup 1: Sadece laminektomi yapıldı (n=6)

Grup 2: Laminektomi ve travma yapıldı (n=7).

Grup 3: Ratlar 1 hafta boyunca oral 10mg/kg tadalafil ile doyuruldu. 7. gün laminektomi yapılarak travma uygulandı (n=7).

4.1. Anestezi

Omurilik travması oluşturmak için cerrahi işlem yapılacak ratlara 60 mg/kg ketamin hidroklorid (Alfamine %10, Egevet Hayvancılık) i.p. ve 5 mg/kg ksilazin (Alfazyne %2, Egevet Hayvancılık) i.p. ile anestezi uygulandı.

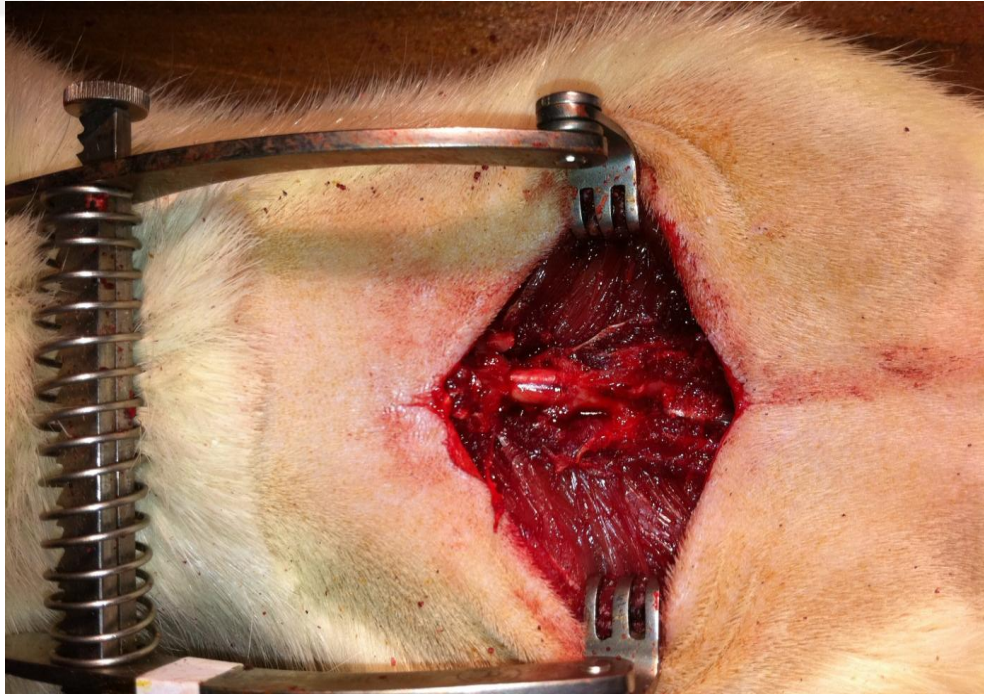
4.2. Cerrahi işlem

Ratlar, ksilazin ve ketamin ile sedasyon yapıldıktan sonra cerrahi girişim amacı ile tespit tahtalarına prone pozisyonunda yerleştirildi (Resim 4.1). Torakal bölgesi önce PVD iyodin (Batticon st solüsyon, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş., Samsun) ile sterilize edildikten sonra traşlandı. Tekrar PVD iyodin ile cilt silinerek sterilizasyon sağlandı. İnterskapular mesafe referans alınarak T6-T12 seviyesinde yaklaşık 2 cm.'lik bir cilt insizyonu ile cilt, cilt altı ve fasya geçilip paravertebral kaslar sıyrıldı ve laminalar ortaya çıkarıldı. Sedasyon ihtiyacı halinde başlangıç dozunun %20'si aralıklı olarak tekrarlandı. T 7-8-9 laminektomi yapılarak dura mater ortaya

konuldu (Resim 4.2). Bu işlem sırasında dura materin intakt olması için azami dikkat gösterildi.



Resim 4.1: Sedasyon ardından sırtı tıraş edilen rat tahta üzerine prone pozisyonda fikse edildi.



Resim 4.2: Laminektomi sonrası dura açığa çıkarıldı.

4.3. Travma Oluşturulması

Standart omurilik travma modeli olarak Modifiye Allen Ağırlık Düşürme Modeli kullanıldı. 10 cm. yüksekliğindeki cam tüp içerisinden 5 gram ağırlığında silindirik metal cisim düşürülerek omurilikte kontüzyon oluşturuldu (Resim 4.3). Hemostazı takiben katlar usulüne uygun olarak 3/0 ipek ile sütünre edildi. Operasyon boyunca ve anestezi etkisi sonlanana kadar ısıtıcı pedle vücut sıcaklığı 37°C’da tutuldu. Ratlar işlem sonrası 24 saat, normal vücut sıcaklığının sağlandığı ayrı kafeslere konuldu. 24 saat sonunda ratların sırtları tekrar açılarak spinal kordlar çıkarıldı.



Resim 4.3: Hazırlanan standart düzenekle açık olan dura üzerine ağırlık düşürüldü.

4.4. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi

Fonksiyonel değerlendirme için kullanılan kantitatif birçok skalanın birbirlerine göre üstünlükleri veya eksiklikleri mevcuttur (226,227).

Fonksiyonel değerlendirme çalışmadan bağımsız iki farklı araştırmacı tarafından yapıldı. Her bir hayvan sakrifikasyondan hemen önce değerlendirilerek skorları belirlendi.

Hayvanların klinik motor muayeneleri Tarlov (228) tarafından tanımlanan ve daha sonra modifiye edilen değerlendirme testi kullanılarak yapıldı (229,230).

Tablo 4.1: Modifiye Tarlov Skalası

Derece	Modifiye Tarlov Skalası
0	Arka ekstremitelerde tam paralizi, arka ekstremitelerde hareket yok, ağırlık taşıma yok
1	Fark edilebilir arka ekstremitte hareketleri, ağırlık taşıma yok
2	Sık ve/veya güçlü arka ekstremitte hareketi, ağırlık bindirme veya lokomasyonla sonuçlanmayan belirgin arka ekstremitte hareketleri.
3	Arka ekstremiteler vücut ağırlığını destekler, bir veya iki adım atabilir.
4	Yürüyüşte hafif bir kayıp vardır.
5	Normal yürüyüş.

4.5. Perfüzyon ve Spinal Kordun Çıkarılması

Bütün denekler travma oluşturulduktan sonra; ayrı kafeslerde, normal vücut sıcaklığı korunarak, standart fare yemi ve içme suyu ile beslenip 24 saat sonra işleme alındı. Tüm deneklere perfüzyon yöntemi için önce ketamin 200 mg/kg/i.p. ve ksilazin 10mg/kg/i.p. enjeksiyonu yapıldı. Daha sonra toraks duvarı; prosesus ksifoideus'dan başlanıp, kostaların iki yanından, parasternal çizgi hizasından kesilerek açıldı ve kranial yönde kaldırılıp sabitlendi. Diyafram ve perikardiyum kesildi. Sonra sağ atriuma bir

insizyon yapılarak, kanın dışarı akışı sağlandı. Kalp kontraksiyonu devam ederken, kanül ile apeks tarafından sol ventrikül içine girildi. Kanül vasıtası ile kan vücuttan tamamen uzaklaşmaya kadar sol ventriküle yaklaşık 100 ml % 0,9'luk serum fizyolojik solüsyonu verildi. Perfüzyona organlar (karaciğer, akciğer v.s.) beyazlaşmaya kadar devam edildi ve sıçanın tüm kanı dışarı aktıldı. Daha sonra her bir deneğin cerrahi sahaları tekrar açılarak yaklaşık 1 cm olacak şekilde spinal kord doku örnekleri alındı.

4.6. Biyokimyasal Değerlendirme

Örneklerin hazırlanışı:

Bu amaçla sıçanlardan elde edilen omurilikler tartıldı. Omurilikler PBS içerisinde % 10 (ağırlık/ hacim) olacak şekilde Ultrathorax homojenizatörü kullanılarak 1 + 1 dakika süre ve 3000 rpm hızda buz üzerinde homojenize edildi. Homojenat 12 000 x g'de + 4°C'ta 25 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası üst sıvı ayrılıp, bölündü. Bu bölünmüş örnekler ELISA ve MDA tayini deneylerinde kullanıldı.

Lipit peroksidasyonu /Malondealdehit (MDA) ölçümü:

Lipit peroksidasyonu (MDA) ölçümünde OxiSelect™ TBARS Assay Kiti kullanıldı. Bu yöntemin prensibi MDA'nın Tiyobarbiturik asit (TBA) ile 1: 2 konjugat oluşturmasına dayanır. Öncelikle örnekler 5% Butile hydroxytoluen ile seyreltildi. Ardından 100 µL örneğe 100 µL SDS lizis çözeltisi eklenerek mikrofüj tüplerine alındı. Tüpler karıştırılıp 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu süre sonrasında örneklere 250 µL TBA eklendi ve tüpler 95°C'ta 45 dakika inkübe edildi. Ardından tüpler buz üzerinde 5 dakika soğutuldu ve 10 000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi. Bu işlem sonrasında üst sıvıdan 200 µL alınarak yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine 300 µL Butanol eklendi. Karışım 3 dakika 3000 rpm'de vortekslenip ardından 10 000 x g 'de 5 dakika santrifüjlendi. Üst sıvı Molecular Devices firmasının Spectramax M2 mikrolpaka okuyucusunda 532 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar standart grafik yardımı ile hesaplandı.

Tumör Nekrozis Faktör – α (TNF- α) ölçümü:

Tumör Nekrozis Faktör – α (TNF- α) ölçümünde Invitrogen Rat Tumör Nekrozis Faktör – α (TNF- α) ELISA kiti kullanıldı. Bu kitte mikroplakalara monoklonal TNF- α antikoru yapılandırılmış bulunmaktadır. Bu şekilde, örnek ve standartlarda var olan TNF- α bu antikor tarafından tanınır ve tutulur. Daha sonra bağlı örnekleri tanıyan biyotinlenmiş bir poliklonal TNF- α antikoru tutunmuş protein tanır. Sandviç sisteminin en son bileşeni olan streptavidin – peroksidaz konjugatı ise biyotinli antikoru tanıyarak ortama eklenen kromojen substrat yardımı ile çok düşük miktarlarda bile varolan TNF- α miktarının saptanmasını sağlar. Deney üreticinin prensiplerine uygun olarak yapılmıştır. Deney ortamında 50 μ L örnek kullanılmıştır. Kısaca özetle her kuyuya 50 μ L örnek veya standart eklenip üzerleri kapatılarak 2 saat oda sıcaklığında inkube edildi. Daha sonra kuyular beş kez 200 μ L yıkama tamponu ile yıkandı. Plakalardaki sıvı uzaklaştırıldıktan sonra her kuyuya 50 μ L biyotinlenmiş TNF- α eklenerek 2 saat oda sıcaklığında inkube edildi. Daha sonra kuyular beş kez 200 μ L yıkama tamponu ile yıkandı. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra kuyu başına 50 μ L streptavidin – peroksidaz konjugatı eklenerek 30 dakika inkube edildi. İnkubasyon sonunda kuyular beş kez 200 μ L yıkama tamponu ile yıkandı. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra kuyu başına 50 μ L kromojen substrat eklenerek 8 dakika inkube edildi. Bu sürenin sonunda renk oluşumu tepkimesini durdurmak amacı ile kuyu başına 0,5 N HCl asitten oluşan 50 μ L durdurma çözeltisi eklendi ve sonuçlar hemen Molecular Devices firmasının Spectramax M2 mikrolaka okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar 4 parametrelili regresyon analizi ile standart grafikten elde edildi.

İnterleukin 6 Ölçümü:

İnterleukin 6 (IL-6) ölçümünde Invitrogen Rat İnterleukin-6 (IL-6) ELISA kiti kullanıldı. Bu kitte mikroplakalara monoklonal IL-6 antikoru yapılandırılmış bulunmaktadır. Bu şekilde, örnek ve standartlarda var olan IL-6 bu antikor tarafından tanınır ve tutulur. Daha sonra bağlı örnekleri tanıyan biyotinlenmiş bir poliklonal IL-6 antikoru tutunmuş protein tanır. Sandviç sisteminin en son bileşeni olan streptavidin – peroksidaz konjugatı ise biyotinli antikoru tanıyarak ortama eklenen kromojen substrat yardımı ile çok düşük miktarlarda bile varolan IL-6 miktarının saptanmasını sağlar. Deney üreticinin prensiplerine uygun olarak yapılmıştır. Deney ortamında 50 μ L örnek

kullanılmıştır. Kısaca özetle her kuyuya 50 µL örnek veya standart eklenip üzerleri kapatılarak 2 saat oda sıcaklığında inkube edildi. Daha sonra kuyular beş kez 200 µL yıkama tamponu ile yıkandı. Plakalardaki sıvı uzaklaştırıldıktan sonra her kuyuya 50 µL biyotinlenmiş IL-6 eklenerek 2 saat oda sıcaklığında inkube edildi. Daha sonra kuyular beş kez 200 µL yıkama tamponu ile yıkandı. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra kuyu başına 50 µL streptavidin – peroksidaz konjugatı eklenerek 30 dakika inkube edildi. İnkubasyon sonunda kuyular beş kez 200 µL yıkama tamponu ile yıkandı. Sıvı uzaklaştırıldıktan sonra kuyu başına 50 µL kromojen substrat eklenerek 8 dakika inkube edildi. Bu sürenin sonunda renk oluşumu tepkimesini durdurmak amacı ile kuyu başına 0,5 N HCl asitten oluşan 50 µL durdurma çözeltisi eklendi ve sonuçlar hemen Molecular Devices firmasının Spectramax M2 mikropilaka okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu. Sonuçlar 4 parametrelili regresyon analizi ile standart grafikten elde edildi.

4.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesi bilgisayarda SPSS For Windows 17.0 paket (Statistical Package of Social Sciences) programında gerçekleştirildi. İki grubun ölçüm ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi uygulandı. Çoklu grup ölçüm ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve istatistik anlamlılık düzeyi $P < 0,05$ kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Fonksiyonel Nörolojik iyileşme Sonuçları

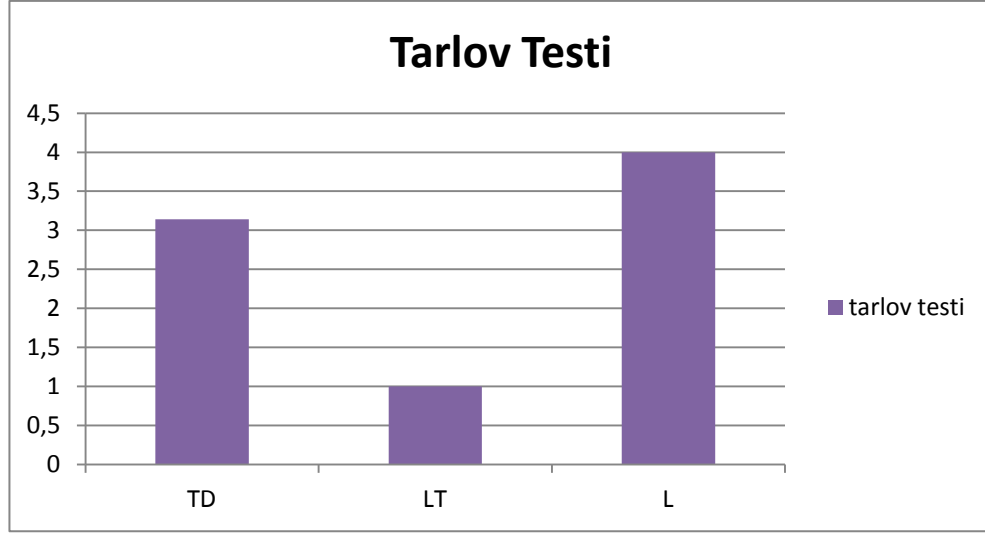
TD, LT, L gruplarında modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarının dağılımları Tablo 5.1’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1: TD, LT, L gruplarında modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarının dağılımları

	n	ortalama	S*	P değeri	P _{TD-LT} değeri	P _{TD-L} değeri	P _{LT-L} değeri
Tarlov	TD	7	3,1429	0,89974	0,004	0,005	0,103
	LT	7	1,0000	1,00000			
	L	6	4,0000	1,54919			

S*: Standart Sapma

Çalışmamızda modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarına göre TD(3,14±0,89), LT(1,00±1,00), L(4,00±1,54) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı(P=0,004) bir fark bulundu. TD grubunda modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha yüksek bulundu (P=0,005). L grubunda modifiye edilmiş tarlov testi değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha yüksek bulundu (P=0,011). Modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarına göre TD grubu ile L grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı (P=0,103). TD, LT, L gruplarına ait modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarının dağılımını gösterir veriler Grafik 5.1’de verilmiştir.



Grafik 5.1: TD, LT, L gruplarında modifiye edilmiş Tarlov Testi değerlerinin ortalamalarının dağılımı

5.2. Biyokimyasal Sonuçlar

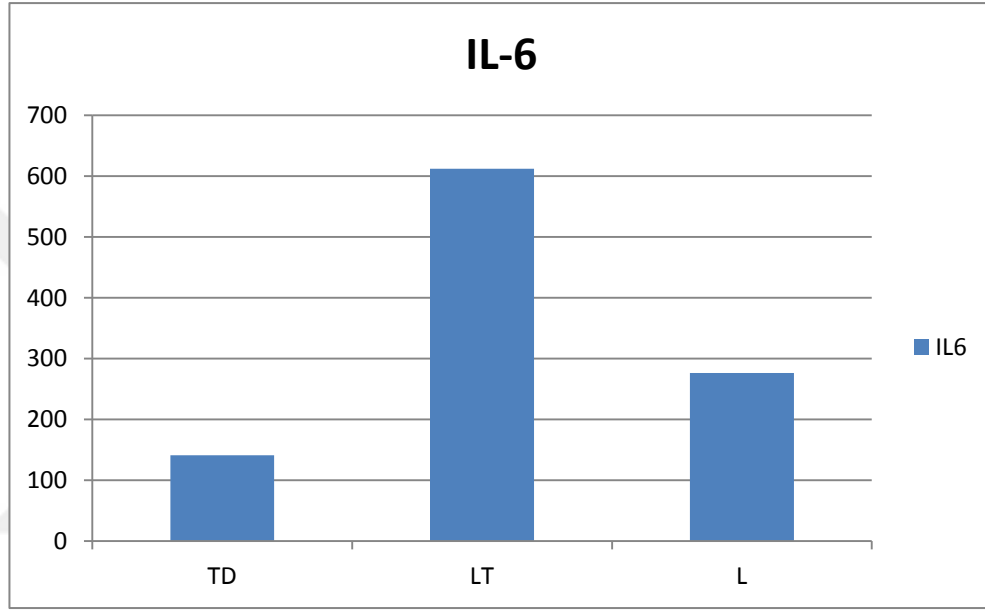
Çalışmamıza TD grubunda n=7, LT grubunda n=7 ve L grubunda n=6 olmak üzere toplam 20 adet deney hayvanı dahil edildi. TD, LT, L gruplarında IL-6, TNF- α ve MDA değerlerinin ortalamalarının dağılımları Tablo 5.2’de gösterilmiştir.

Tablo 5.2: TD, LT, L gruplarında IL-6, TNF- α ve MDA değerlerinin ortalamalarının dağılımları

	n	ortalama	S*	P değeri	P _{TD-LT} değeri	P _{TD-L} değeri	P _{LT-L} değeri
IL-6	TD 7	141,15	74,706	0,001	0,002	0,022	0,007
	LT 7	612,02	235,373				
	L 6	276,12	88,016				
TNFalfa	TD 7	48,7566	0,63119	0,006	0,003	0,022	0,475
	LT 7	51,7617	1,67588				
	L 6	51,0980	1,74444				
MDA	TD 7	0,7314	0,65384	0,020	0,013	0,253	0,046
	LT 7	1,7521	1,00129				
	L 6	0,8208	0,43593				

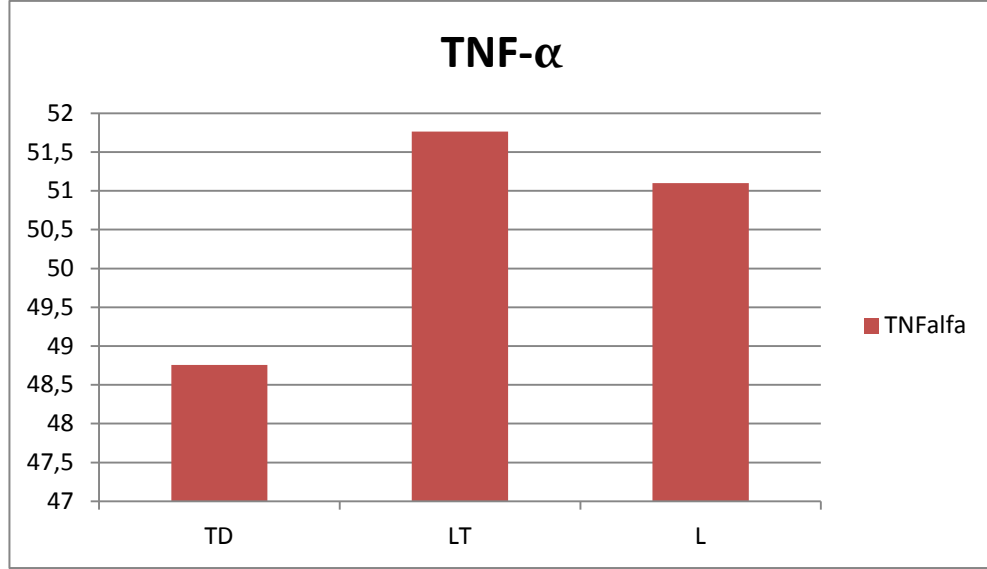
S*: Standart Sapma

Çalışmamızda IL-6 değerlerinin ortalamalarına göre TD(141,15±74,70), LT(612,02±235,37), L(276,12±88,01) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı (P=0,001) bir fark bulundu. TD grubunda IL-6 değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha düşük bulundu (P=0,002). TD grubunda IL-6 değerlerinin ortalaması L grubuna göre daha düşük bulundu (P=0,022). L grubunda IL-6 değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha düşük bulundu (P=0,007). TD, LT, L gruplarına ait IL-6 değerlerinin ortalamalarının dağılımını gösterir veriler Grafik 5.2’de verilmiştir.



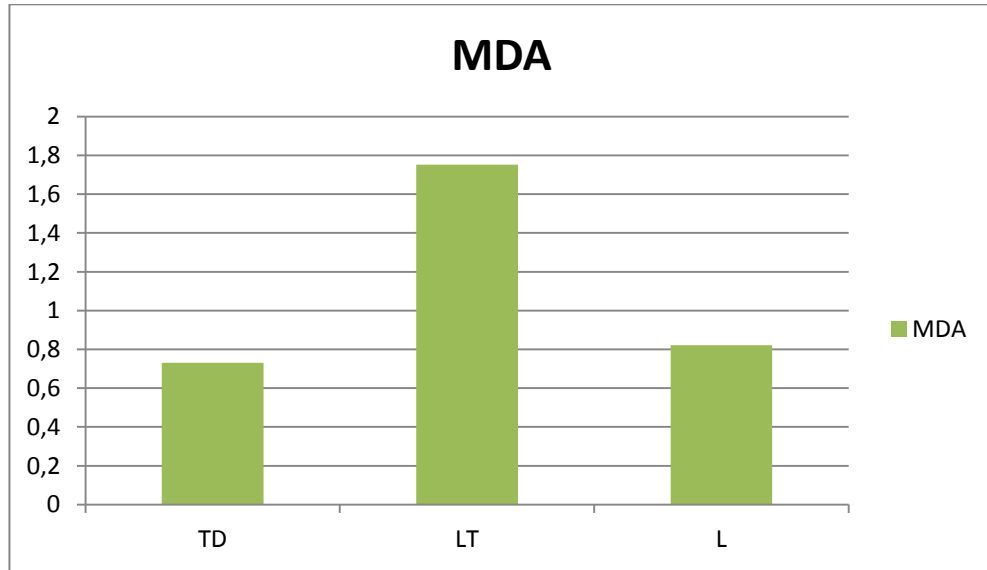
Grafik 5.2: TD, LT, L gruplarında IL-6 değerlerinin ortalamalarının dağılımı(pg/ml)

Çalışmamızda TNF- α değerlerinin ortalamalarına göre TD(48,75±0,63), LT (51,76±1,67), L(51,09±1,74) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı (P=0,006) bir fark bulundu. TD grubunda TNF- α değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha düşük bulundu (P=0,003). TD grubunda TNF- α değerlerinin ortalaması L grubuna göre daha düşük bulundu (P=0,022). TNF- α değerlerinin ortalamalarına göre LT grubu ile L grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (P=0,475). TD, LT, L gruplarına ait TNF- α değerlerinin ortalamalarının dağılımını gösterir veriler Grafik 5.3’de verilmiştir.



Grafik 5.3: TD, LT, L gruplarında TNF- α değerlerinin ortalamalarının dağılımı(pg/ml)

Çalışmamızda MDA değerlerinin ortalamalarına göre TD($0,73\pm 0,65$), LT ($1,75\pm 1,00$), L($0,82\pm 0,43$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($P=0,020$) bir fark bulundu. TD grubunda MDA değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha düşük bulundu ($P=0,013$). L grubunda MDA değerlerinin ortalaması LT grubuna göre daha düşük bulundu ($P=0,046$). MDA değerlerinin ortalamalarına göre TD grubu ile L grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($P=0,253$). TD, LT, L gruplarına ait MDA değerlerinin ortalamalarının dağılımını gösterir veriler Grafik 5.4'de verilmiştir.



Grafik 5.4: TD, LT, L gruplarında MDA değerlerinin ortalamalarının dağılımı ($\mu\text{M/mg}$)

6. TARTIŞMA

Medulla spinalise darbe olduğu anda oluşan mekanik hasara primer hasar denir (39,40). Günümüzde primer hasarı iyileştirecek tedavi yöntemi halen yoktur. Ancak cerrahi ile yapılan dekompresyon, primer hasarın etkisini azaltmakta ama tam olarak iyileştirememektedir. Primer hasarın oluşmasını engellemek ve yaralanma sırasında aktif ve pasif güvenlik önlemleriyle vücudun sabitlenmesini sağlamak ortaya çıkacak hasarı azaltabilir.

Primer hasardan sonra saatler ve günler içerisinde gelişen bir dizi fizyopatolojik sürece bağlı olarak sekonder hasar meydana gelmektedir (34-38). Günümüzde akut omurilik yaralanmasının tedavisine yönelik çalışmalarda sekonder hasara odaklanılmış, geliştirilmeye çalışılan farmakolojik tedavi protokolleri ile ilerleyici nöronal hasarın azaltılması hedeflenmiş ve oluşan nörolojik sekelin en aza indirilmesi amaçlanmıştır (231). Ancak yine da spinal kord hasarını tamamen tedavi eden etkin bir ilaç bulunamamıştır.

Spinal kord hasarının aydınlatılması için birçok deneysel çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda; klip kompresyon, balon kompresyon ve ağırlık düşürme gibi pek çok yöntem denenmektedir. Bu yöntemlerin her birinin birbirlerinden üstün ve eksik oldukları noktalar mevcuttur. Biz çalışmamızda ağırlık düşürme metodunu kullandık. Bu yöntem ilk kez Allen tarafından köpekte bildirilmiş ve daha sonra rat dahil olmak üzere başka hayvanlara da adapte edilmiştir (232,233). Bu model klinik olgularda rastlanan travma şeklini en iyi taklit eden yöntem olması nedeniyle birçok yazar tarafından benimsenmiştir. Bu yöntemin en önemli dezavantajlarından biri, travmanın kordun ventral kısmında dorsalden daha şiddetli olmasıdır (234). Bu yöntemde travmanın şiddeti, ağırlık ile yüksekliğin çarpımı şeklinde olup gr-cm şeklinde ifade edilir.

Ratlarda yapılan spinal travma çalışmalarında spinal kordun açığa çıkarılması aşamasında azami dikkat gösterilmesine rağmen kordda minimal düzeyde kontüzyon meydana gelmektedir. Sonuçlar değerlendirilirken bu durum dikkate alınmalıdır.

Çalışmamızda IL-6 değerlerinin ortalaması L grubunda LT grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p < 0,005$). MDA ve TNF- α değerlerinin ortalamaları L grubunda LT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşük bulunmuştur.

Sekonder hasarın oluşmasında birbirleriyle ilişkili onlarca mekanizma yer almaktadır. Serbest radikal hasarı, lipid peroksidasyonu, hücre içine aşırı Ca^{++} girişi ve inflamatuvar cevap bunların başlıcalarıdır.

Serbest radikal, dış yörüngesinde çiftlenmemiş serbest elektron bulunduran kimyasal bileşiktir. Bu yapı sayesinde, lipidler başta olmak üzere hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler. Yüksek oranda poliansatüre yağ asitleri içeren hücre membranının yıkılması, serbest radikallere bağlı nöronal hasar oluşmasının en önemli aşamasıdır (235). Serbest yağ asitlerinin serbest radikal ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyon düzeyi lipid peroksidasyonu sırasında oluşan malondialdehit (MDA) gibi ara ürünler aracılığı ile tayin edilmektedir (236).

Biz çalışmamızda erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan ve bir fosfodiesteraz tip 5 enzim inhibitörü olan tadalafili kullandık. Cinsel uyarımı takiben penisteki sinir uçlarından salınan nitrik oksit (NO) korpus kavernozumdaki düz kas tabakasında guanil siklaz enzimini uyararak hücre içerisinde siklik guanozin monofosfat (cGMP) sentezine neden olur. Bu etkileşim sonucunda protein kinaz aktive olur ve pek çok proteinin fosforilasyonu gerçekleşir. Sonuç olarak; kalsiyum iyonu (Ca^{++}) hücre dışına atılır ve hücre içi Ca^{++} konsantrasyonu düşer. Bu olaylar sonucunda düz kas hücresi gevşer ve vazodilatasyon ile penise kan akımı hızlanır. Bir süre sonra cGMP fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enzimi tarafından yıkılarak inaktif form olan 5'-GMP'ye çevrilir. cGMP'nin azalması ile Ca^{++} kanalları tekrar açılır ve hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunun artması ile vazokonstriksiyon olur ve ereksiyon sonlanır. Erektile disfonksiyonun medikal tedavisinde kullanılan PDE5 inhibitörleri düz kas içerisine girerek cGMP yıkımına neden olan PDE5'i bloke eder ve böylece hücre içi cGMP düzeyinin yüksek kalmasını ve dolayısıyla vazodilatasyonun devamını sağlarlar (237-239).

Spinal travma modelinde tadalafilin etkinliği ile ilgili literatürde yeterli çalışma yoktur. Yakın zamanda tadalafilin spinal travmada etkinliği ile ilgili yapılan bir

çalışmada, MDA düzeylerini düşürüp fonksiyonel iyileşmeye yol açtığı görülmekle birlikte NO düzeylerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (240). NO' nun dokuda birikmesi reaktif nitrojen ürünlerinin ortaya çıkmasına bunlar da lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (73,74).

Çalışmamızda MDA düzeyi, tadalafil grubunda LT grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,013$). MDA düzeyi yine tadalafil grubunda sadece laminektomi yapılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşük bulundu. Bu durum spinal travmada tadalafil kullanımının lipid peroksidasyon(MDA) düzeyinde anlamlı derecede azalma oluşturduğunu göstermektedir. Tadalafil kullanımı sonrası artan NO düzeyine rağmen MDA düzeylerinde azalma olması araştırılması gereken bir konudur.

İnflamasyon; sekonder hasar mekanizmalarında kilit bir role sahip olup travmadan hemen sonra başlayarak aylarca sürebilir (52). Bu cevap endotel hasarı, inflamasyon mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferal inflamatuvar hücrelerin göçü ve mikroglianin aktivasyonu şeklindedir.

Spinal kord yaralanmalarında IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir. Bu sitokinler inflamasyon yanıtını artırır. Bu inflamatuvar cevap ölü hücrelerin temizlenmesinde önemli bir görev alırken hayatta kalan nöronların ise rejenerasyonunu engeller. İnflamatuvar cevabın aşırı aktivasyonu ise korddaki hasarın şiddetini artırmakta ve aksonal büyümeyi inhibe etmektedir (63).

Çalışmamızda inflamatuvar yanıtı IL-6 ve TNF- α düzeylerine bakarak değerlendirdik. Literatürde spinal travma modelinde tadalafilin IL-6 ve TNF- α düzeylerine etkisini gösteren bir çalışma yoktur ancak ratlarda tadalafil ile pulmoner hipertansiyon ve artrit çalışmaları yapılmış olup bu çalışmalarda tadalafil kullanımının TNF- α düzeylerini düşürdüğü görülmüştür (241,242).

Çalışmamızda IL-6 değerlerinin ortalaması TD grubunda LT grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,002$). TD grubunda IL-6 değerlerinin ortalaması L grubuna göre de anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,022$). Bu sonuçlar tadalafil kullanımının spinal travmada IL-6 düzeyinde belirgin bir azalma oluşturduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda TD grubunda TNF- α değerlerinin ortalaması LT (p=0,003) ve L grubuna göre (p=0,022) anlamlı derecede düşük bulundu. Bu sonuçlar tadalafil kullanımının spinal travmada TNF- α düzeyinde belirgin bir azalma oluşturduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda tadalafil verilen ratlarda TNF- α ve IL-6 değerlerinin düşük bulunması bu sitokinler aracılığıyla oluşan inflamatuvar yanıtın baskılandığını göstermektedir. Tadalafilin spinal travmada bu inflamatuvar moleküllere etkisi ile ilgili yeterli çalışma yoktur ancak cGMP üzerinden hücre içi Ca⁺⁺ düzeyini azaltarak inflamatuvar süreçte baskılayıcı rol oynadığını düşünmekteyiz.

Fonksiyonel nörolojik değerlendirme Modifiye Tarlov Testi'ne göre yapıldı. MTT, Basso ve arkadaşlarının tanımladığı skalaya göre daha pratik oluşu nedeniyle rat spinal kord travmalarında birçok yazar tarafından kullanılmıştır (232,243). Fonksiyonel nörolojik değerlendirme sonucu Modifiye Tarlov Testi TD grubunda LT grubuna göre daha yüksek bulundu (p=0,005). Bu durum tadalafil kullanımının spinal travma uygulanan ratlarda nörolojik değerlendirmede anlamlı derecede iyileşme oluşturduğunu göstermektedir.

7. SONUÇ

Ratlarda ağırlık düşürme yöntemiyle oluşturduğumuz spinal travma, fonksiyonel nörolojik iyileşme (Modifiye Tarlov Testi) ve biyokimyasal ölçümlerle (MDA, İL-6, TNF- α) değerlendirildi. Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü olan tadalafilin deneysel spinal kord hasarındaki rolü incelenen çalışmamızda;

1. Spinal kord hasarı sonrasında İL-6, TNF- α ve MDA düzeylerinde belirgin artış olduğu görüldü.

2. 1 hafta tadalafil verilen ratlarda spinal travma sonrası İL-6, TNF- α ve MDA düzeylerinin laminektomi+ travma yapılan gruba göre anlamlı derecede ($p<0,05$) düşük olduğu görüldü.

3. 1 hafta tadalafil verilen ratlarda fonksiyonel nörolojik iyileşmenin laminektomi+ travma yapılan gruba göre anlamlı derecede ($p<0,05$) yüksek olduğu görüldü.

Sonuç olarak fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü olan tadalafilin deneysel spinal kord travma uygulanan ratlarda MDA, TNF- α ve İL-6 düzeylerini azalttığı ve fonksiyonel nörolojik iyileşmeye katkıda bulunduğu görüldü. Spinal travma modeli çalışmalarında daha önce çok az kullanılan tadalafilin fizyopatolojik etkisinin araştırılması ve ilerleyen dönemde tedavi amaçlı kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKLAR

1. Tator CH, Carson CD, Edmonds VE: Spinal injuries in ice hockey. Clin Sports Med 1998; 17: 183-194.
2. Tong JS, Naranja RJ, Povlav H et al. The relationship of developmental narrowing of the cervical spinal canal to reversible and irreversible injury of cervical spinal cord in football players. J Bone Joint Surg Am 1996; 78: 1308-1314.
3. Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C: The role and timing of decompression in acute spinal cord injury. Spine 2001; 26: s 101-s110.
4. Tator CH: Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. Neurosurg 1998; 42; 4: 696-708.
5. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. Physiol Rev 1996; 76: 319-370.
6. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS: Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. Nat Med 1997; 3: 73-76.
7. Hughes JT: The Edwin Smith Surgical Papyrus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. Paraplegia 1988; 26: 71-82.
8. Marketos SG, Skiadas PK: Hippocrates. The father of spine surgery. Spine 1999; 24: 1381-1387.
9. Celsus AC. De Medicina (transl Spencer WG). Cambridge, MA: Harvard University Press, 1935-1938
10. Aretaeus: The Extant Works of Aretaeus the Cappodocian (transl Adams F). London: Sydenham Society, 1856
11. Marketos SG, Skiadas PK: Galen: A Pioneer of spine research. Spine 1999; 24: 2358-2362.

12. Albertsone CD, Naderi S, Benzel EC: History of spine surgery. İn: Benzel EC(Ed.): Spine surgery. Techniques, complication avoidance, and management. Second edition. Elsevier Churchill Livingstone, 2005, Philadelphia, pp 1-21
13. Sonntag VKH: History of spinal disorders in: Menezes AH and Sonntag VKH(ed.s): Principles of spinal surgery. Mcgraw-Hill, New York, 1996, pp3-23
14. İplikçioğlu C: Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. M.Zileli, Fahir Özer, 1. Baskı, Bzmir, Saray Medikal Yayıncılık, 2002, s: 459-465
15. Naderi S, Zileli M, Özer AF. Omurga cerrahisini tarihçesi. Omurga ve spinal kord cerrahisi. Editörler: M. Zileli, AF Özer, Bölüm 1, Sayfa 1-13, 2002, İzmir.
16. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. JAMA 1911; 57: 877-880.
17. Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. Neurochirurgie 1991; 37: 291-302
18. <http://www.forumgercek.com/showthread.php?t=83447>
19. Lasfargues JE, et al. A model for estimating spinal cord injury prevalence in United States. Paraplegia 1995.3; 33: 62-68,
20. Nobugana AI, Go BK, Karunas RB: Recent demographic and injury trends in people served by the model spinal cord injury care systems. Arch Phys Med Rehabil 1999; 80: 1372-1382.
21. Dryden DM, Saunders LD, Rowe BH, May LA: The Epidemiology of traumatic spinalcord injury in Alberta, Canada. Can J Neurol Sci 2003; 30 (2); 113- 21.
22. Griffin MR, Opitz JL, Kurland LT, Ebersold MJ: Traumatic spinal cord injury in Olmsted Countey, Minneseta,1935-1981. Amerikan Journal of Epidemiology, 1985; 121(6): 884-895
23. Pagliacci MC, Celani MG, Zampolini M, Spizzichino L: AnItalian survey of traumatic spinal cord injury. Arch Physc Med Rehabil 2003; 84(9); 1266-75.

24. Pirice C, Makintubee S, Herndon W, İstre GR: Epidemiology of traumatic spinal cord injury and acute hospitalization and rehabilitation charges for spinal cord injuries Oklahoma 1988-1990. American Journal of epidemiology, 1994; 139(6): 37-47.
25. Tator CH: Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. J Neurosurg, 1991; 75: 15-26
26. Netter FH: Embriyoloji, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007, pp:130-147.
27. Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918, Newyork Bartleby. com. 2000
28. Netter FH: Beyin ve omurluğun anatomisi, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007, pp: 36-66, 133.
29. <http://apbrwww5.apsu.edu/thompsonj/Anatomy%20&%20Physiology/2010/2010%20Exam%20Reviews/Exam%204%20Review/CH%2012%20Gross%20Anatomy%20of%20the%20Spinal%20Cord.htm>
30. <http://www.anatomyatlases.org/MicroscopicAnatomy/Section17/Plate17316.shtml>
31. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley/Nervous%20System.htm
32. Snell RS: Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomi, Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, İstanbul, 2000, s: 157-177.
33. <http://www.frca.co.uk/article.aspx?articleid=100360>
34. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. Neurosurgery 1999; 44(5)1027-1040.

35. Cumming MC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 88-101.
36. Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1998; 36: 683-690.
37. Lu J, Aswell K, Ken WS, Waite P: Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine*, 2000; 25: 1856-1866.
38. Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in; Wilkins RH, Rengachary SS (ed.): *Neurosurgery*. McGraw Hill, 2 edition, Philadelphia 2623-2637.
39. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44: 1027-1039
40. Kaptanoğlu E; Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi, *Temel nöroşirürji*, Ed.Aksoy K, Palaoglu S, Pamir N, Tuncer R, 2.cilt, s;1144-1155, Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları, Ankara, 2005
41. Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in. Wilkins RH, Rengachary (ed). *Neurosurgery*. McGrawHill, 1996.pp 2623-2637.
42. Ray AM, Owen DE, Evans ML, Davis JB, Benham CD: Caspase inhibitors are functionally neuroprotective against oxygen glucose deprivation induced CA1 death in rat organotypic hippocampal slices. *Brain Res* 2000; 9: 62-69.
43. Tator CH: Spine-spinal cord relationship in spinal cord trauma. *Clin Neurosurg* 1991; 491: 479-494
44. Young W: Secondary injury mechanisms in acute spinal cord injury. *J Emerg Med*. 1993; 11: 13-22
45. Bligt AR, Young W: Central axons in injured cat spinal cord recover electrophysiological function following remyelination by schwan cells. *J Neurol Sci*. 1989; 91: 15-34
46. Kaptanoğlu E, Solaroğlu İ, Okutan Ö, Sürücü S, Akbıyık F, Beşkonaklı E: Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on

- lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg rev.* 1991; 27(2):113-20, 2004.
47. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG: pathological finding in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1971; 35: 700-708.
 48. Nemecek ST: Morphological evidence of microcirculatory in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol* 1978; 20: 395-405.
 49. Eugene SF, Ramachandra PT: Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. *Current Opinion in Anaesthesiology*; 2005; 18: 181-187.
 50. Sandler AN, Tator CH: Effect of acute spinal cord compression injury regional spinal blood flow in primates. *J Neurosurg* 1976; 45: 660-676.
 51. Charles Aidemise Oyinbo: Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade *Acta Neurobiol Exp* 2011, 71: 281–299
 52. Fehlings MG, Nguyen DH Immunoglobulin G: a potential treatment to attenuate neuroinflammation following spinal cord injury. *J Clin Immunol* 2010; 1: S109–S112
 53. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of the axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996; 76: 319-370.
 54. Schnell L, Fearn S, Klassen H, Schwab ME, Perry VH Acute inflammatory responses to mechanical lesions in the CNS: Differences between brain and spinal cord. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 3648–3658.
 55. Bareyre FM, Schwab ME Inflammation, degeneration and regeneration in the injured spinal cord: Insights from DNA microarrays. *Trends in Neurosci* 2003; 26: 555–563.
 56. Liverman TC, Altevogt MB, Joy EJ, Johnson TR (2005) Spinal cord injury: progress, promise, and priorities. National Academy of Sciences. N.W. Washington, DC.
 57. Young W Methylprednisolone and spinal cord injury. *J Neurosurg* 2002; 96: 141–142.

58. Ditor DS, Bao F, Chen Y, Dekaban GA, Weaver LC A therapeutic time window for anti-CD 11d monoclonal antibody treatment yielding reduced secondary tissue damage and enhanced behavioral recovery following severe spinal cord injury. *J Neurosurg Spine* 2006; 5: 343–352.
59. Popovich PG, Guan Z, Wei P, Huitinga I, van RN, Stokes BT Depletion of hematogenous macrophages promotes partial hindlimb recovery and neuroanatomical repair after experimental spinal cord injury. *Exp Neurol* 1999; 158: 351–365.
60. Rossignol S, Schwab M, Schwartz M, Fehlings G Spinal Cord Injury: Time to Move? *J Neurosci* 2007; 27: 11782–11792.
61. Hamada Y, Ikata T, Katoh S, et al. Involvement of an intercellular adhesion molecule 1-dependent pathway in the pathogenesis of secondary changes after spinal cord injury in rats. *J Neurochem* 1996; 66: 1525–31.
62. Bsaksson J, Farooque M, Olsson Y: Spinal cord injury in ICAM-1 deficient mice: assessment of functional and histopathological outcome. *J Neurotrauma* 2000; 17: 333-344.
63. Segal JL, Gonzales E, Yousefi S, Jamshi-dipour L, Brunnemann SR: Circulating levels of IL-2R, ICAM-I, and IL-6 in spinal cord injuries. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78: 44-47.
64. Lu J, Ashwell K, Ken WS, Waite P: Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine* 2000; 25: 1859-1866.
65. Bethea JR, Castro M, Keane RW, et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. *J Neurosci* 1998; 18: 3251–60.
66. Randall J. Dumont, David O. Okonkwo, Subodh Verma, et al: Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clinical Neuropharmacology*. 2001, Vol. 24, No. 5, pp. 254–26
67. Liau LM, Bergsneider M, Becker DP in: Youmans JR (ed): *Neurological Surgery*. W.B. Saunders Co. 4th edition, 1997 pp.

68. Kılınç A, Kılınç K; Nitrik oksit: Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme, Ankara, 2003.
69. Heffner JE, Repine JE: Pulmonary strategies of antioxidant defence. *Am. Res. Dis.* 1989; 140:531.
70. Hall ED, Yokers PA, Andrus PK. Biochemistry and Pharmacology of Lipid Antioxidant Inacute Brain and Spinal Cord Injury. *J Neuro Trauma*, 1992; 9 (1): 165-172.
71. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radikal biochemistry. *British Med Bulletin* 1993; 49: 481-493.
72. Freeman BA, Crapo JD: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
73. McTigue DM (2008) Potential therapeutic targets for pparγ after spinal cord injury. *PPAR Res* 517162.
74. Hall ED, Springer JE (2004) Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx* 1: 80-100.
75. Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1975; 41; 12: 1819-1828.
76. Choi DW: Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1988; 1: 623-634, 1988
77. Sullivan PG, Krishnamurthy S, Patel SP, Pandya JD, Rabchevsky AG (2007) Temporal characterization of mitochondrial bioenergetics after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 24: 991–999.
78. Xiong Y, Rabchevsky AG, Hall ED (2007) Role of peroxynitrite in secondary oxidative damage after spinal cord injury. *J Neurochem* 100: 639–649.
79. Farooqui AA, Horrocks LA: Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain Res Rev* 1991; 16: 171-191
80. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf>(26.12.2012).

81. Collindrige GL, Singer W: Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. *TiPS* 1990; 11: 290-296.
82. Lipton SA, Rosenberg PA: Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *N Eng J Med* 1994; 330: 613-622.
83. Greenamyre JT, Porter RHP: Anatomy and physiology of glutamate in the CNS. *Neurology* 1994; 44 (Suppl 8): S7-S13.
84. Hollmann M, Hartley M, Heinemann S: Ca⁺⁺ permeability of KA – AMPA gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* 1991; 252: 851-853.
85. Pellegrini-Giampietro DE, Gorter JA, Bennett MVL, Zukin RS: The Glu R2 (GluR-B) hypothesis: Ca⁺⁺ permeable AMPA receptors in neurological disorders. *TINS* 1997; 20: 464-470.
86. Tymianski M, Tator CH: Normal and Abnormal Calcium Hemostasis in Neurons: A Basis for the Pathophysiology of Traumatic and Ischemic Central Nervous System injury. *Neurosurg* 1996; 38: 1176-1195.
87. Hall ED, Wolf DL: A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg* 1986; 64: 951-961.
88. Bellamy CO, Malcomson RD, Harrison DJ, Wyllie AH: Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology* 1995; 6: 3-16.
89. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Bethea JR, Krajewski S, Reed JC, Dietrich WD: Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; 60: 422-429.
90. Dumont AS, Dumont RJ, Oskouian R: Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? *Current Opinion in Neurology* 2002; 15: 713-720

91. Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1998; 36: 683-690.
92. Rao RV, Hermel E, Castro-Obregon S, et al: Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program: mechanism of caspase activation. *J Biol Chem* 2001; 276: 869-874.
93. Bao F and Liu D: Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptosis cell death and activates caspase-3. *Neuroscience* 2003; 116: 59-70.
94. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555-556.
95. Balakumran A, Champbell GA, Maslen MT: Calcium channel blockers induce thymic apoptosis in vivo in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996; 139: 122- 127.
96. Cohen JJ: Apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 126-130.
97. Cohen JJ: Apoptosis: The physiological pathway of cell death. *Hosp Pract* 1993; 15: 35-43.
98. <http://www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1260110359.pdf>
99. Martin ES: Regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in the adult rat spinal cord under experimental conditions. *Spinal Cord* 1997; 35: 400- 473.
100. Finger S: Brain damage and neuroplasticity: mechanisms of recovery or development? *Brain Res* 1985; 10: 177-186.
101. Bracken MB, Holford TR: Effects of timing of methylprednisolone or naloxane administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg* 1993; 79: 500-507.
102. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB and Dumont AS (2001) Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. *Clin Neuropharmacol* 24: 254–264.
103. Ray SK, Hogan EL, Banik NL (2003) Calpain in the pathophysiology of spinal cord injury: Neuroprotection with calpain inhibitors. *Brain Res Rev* 42: 169–185.

104. Taoka Y, Okojima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 341-358.
105. Casha S, Yu WR, Fehlings MG (2001) Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with FAS and p75 expression following spinal cord injury in the rat. *Neurosci* 103: 203–218.
106. Grossman SD, Rosenberg LJ, Wrathall JR Temporal-spatial pattern of acute neuronal and glial loss after spinal cord contusion. *Exp Neurol* 2001; 168: 273–282.
107. Guest JD, Hiester ED, Bunge RP Demyelination and Schwann cell responses adjacent to injury epicenter cavities following chronic human spinal cord injury. *Exp Neurol* 2005; 192: 384–393
108. Hall ED and Traystman RJ Role of Animal Studies in the Design of Clinical Trials. *Front Neurol Neurosci* 2009; 25: 10–33.
109. Tator CH, Koyanagi I Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997; 86: 483–492.
110. Sekhon HS and Fehlings MG Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine* 2001; 26: S2–S12.
111. Senter HJ, Venes JL Altered blood flow and secondary injury in experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1978; 49: 569–578.
112. Tator CH, Fehlings MG (1991) Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 75: 15–26.
113. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD: The effect of nimodipine and dextran on axonal function and blood flow following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1989; 71: 403-416.
114. Wallace MC, Tator CH, Frazee P: Relationship between posttraumatic ischemia and hemorrhage in the injured rat spinal cord as shown by colloidal carbon angiography. *Neurosurgery* 1986; 18: 433-439.

115. Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG. Role of L and N type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience* 2000; 99: 179-188.
116. Sandler AN, Tator CH: Review of the effect of spinal cord trauma on the vessels and blood flow in the spinal cord. *J Neurosurg* 1976; 45: 638-646.
117. Anthes DL, Theriault E, Tator CH: Ultrastructural evidence for arteriolar vasospasm after spinal cord trauma. *Neurosurg* 1996; 39: 804-814.
118. Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ: Three-dimensional analysis of the vascular system in the rat spinal cord with scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. Part 2: acute spinal cord injury. *Neurosurg* 1993; 33: 285-292.
119. Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Harada N, Johno M, et al: Activated protein C reduces the severity of compression-induced spinal cord injury in rats by inhibiting activation of leukocytes. *J Neurosci* 1998; 18: 1393–1398.
120. Lee SM, Yune TY, Kim SJ, Park DOW, Lee YK, Kim YC, et al: Minocycline reduces cell death and improves functional recovery after traumatic spinal cord injury in the rat. *J Neurotrauma* 2003; 20: 1017–1027.
121. Zini I, Tomasi A, Grimaldi R, Vannini V, Agnati LF Detection of free radicals during brain ischemia and reperfusion by spin trapping and microdialysis. *Neurosci Lett* 1992; 138: 279–282.
122. Nagel S, Su Y, Horstmann S, Heiland S, Gardner H, Koziol J, Martinez-Torres FJ, Wagner S Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat - effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase. *Brain Res* 2008; 1188: 198–206.
123. Dolan EJ, Tator CH: The effect of blood transfusion, dopamine, and gamma hydroxybutyrate on posttraumatic ischemia of the spinal cord. *J Neurosurg* 56: 350-358, 1982
124. Hall ED: The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone. *J Neurosurg* 1992; 76; 13-22.

125. Tator CH in. Wilkins RH, Rengachary SS (ed). Neurosurgery. McGraw- Hill, 2nd edition pp. 1996; 2847-2859.
126. De La Torre JC: Spinal cord injury: review of basic and applied research. Spine 1981; 6: 315-335.
127. Bingham WG, Goldman H, Friedman SJ, Murphy S, Yashon D, Hunt WE: Blood flow in normal and injured monkey spinal cord. J Neurosurg 1975; 43: 162- 171.
128. Young W, Flamm ES, Demopoulos MB, Tomsula JJ, DeCrescito V: Effect of naloxane on posttraumatic ischemia in experimental spinal contusion. J Neurosurg 1981; 55: 209-219.
129. Young W, Flamm ES: Effect of high-dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials, and extracellular calcium in experimental spinal injury. J Neurosurg 1982; 57: 667-673.
130. Iwasita Y, Kawaguchi S, Murata M: Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat. Nature 1994; 367: 167-173.
131. Guha A, Tator CH, Rochon J: Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury in rats. Stroke 1989; 20; 3: 372- 377.
132. Bazzoni E, and Beutler B. Neze Engl. I.Med. 1996; 334, 1717-1725.
133. Yakovlev AG, Faden AI Sequential expression of c-fos protooncogene, TNF-alpha, and dynorphin genes in spinal cord following experimental traumatic injury. Mol Chem Neuropathol 1994; 23: 179-190.
134. Wang X, Nuttin B, Heremans H, Gybels R Production of tumor necrosis factor in spinal cord following traumatic injury in rats. J Neuroimmunol 1996; 89: 151-156.
135. Pan W, Zhang L, Liao J, Csernus B, Kastin JA Selective increase in TNF α permeation across the blood-spinal cord barrier after SCI. J neuroimmunol 2003; 134: 111-117.
136. Hurtado O, Lizasoain I, Fernández-Tome P, Alvarez- Barrientos A, Leza JC, Lorenzo P, Moro MA TACE/ADAM17-TNF-alpha pathway in rat cortical

- cultures after exposure to oxygen-glucose deprivation or glutamate. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 576–585.
137. Pradillo JM, Romera C, Hurtado O, Cardenas A, Moro MA, Leza JC, Davalos A, Castillo J, Lorenzo P, Lizasoain I TNFR1 upregulation mediates tolerance after brain ischemic preconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25: 193–203.
 138. Figiel I Pro-inflammatory cytokine TNF- α as a neuroprotective agent in the brain. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2008; 68: 526–534.
 139. Hausmann ON, Hu W-H, Keren –Raifmana T, et al. Spinal cord injury induces Expression of RGS7 in microglia/macrophages in rats. *Eur J Neurosci* 2002(in pres)
 140. Chi LY, Yu J, Zhu H, Li X, Zhu S, Li Z, Pettigrew LC, Grass D, Hickman JJ, Kindy MS Dual neuronal response to tumor necrosis factor-alpha following spinal cord injury. *Neural Regeneration Res* 2010; 5: 917–926.
 141. Declercq W, Denecker G, Fiers W, Vandenaabeele P Cooperation of both TNF receptors in inducing apoptosis: involvement of the TNF receptor-associated factor binding domain of the TNF receptor 75. *J Immunol* 1998; 161: 390–399.
 142. Quintana A, Giralt M, Rojas S, Penkowa M, Campbell IL, Hidalgo J, Molinero A Differential role of tumor necrosis factor receptors in mouse brain inflammatory responses in cryolesion brain injury. *J Neurosci Res* 2005; 82: 701–716.
 143. Klebanoff SJ, Vadas MA, Harlan JM Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. *J Immunol* 1986; 136: 4220–4225.
 144. Genovese T, Mazzon E, Di Paola R, Cannavo G, Muia C, Bramanti P, Cuzzocrea S Role of endogenous ligands for the peroxisome proliferators activated receptors alpha in the secondary damage in experimental spinal cord trauma. *Exp Neurol* 2005a;194: 267–278.
 145. Mulligan MS, Varani J, Dame MK, Lane CL, Smith CW, Anderson DC, Ward PA Role of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) in neutrophil-mediated lung injury in rats. *J Clin Invest* 1991; 88: 1396–1406.

146. Taoka Y, Okajima K, Uchiba M, Murakami K, Kushimoto S, Johno M, Naruo M, Okabe H, Takatsuki K Role of neutrophils in spinal cord injury in the rat. *J Neurosci* 1997; 79: 1177–1182.
147. Lemke M, Demediuk P, McIntosh TK, Vink R, Faden AI: Alterations in tissue Mg^{++} , Na^+ and spinal cord edema following impact trauma in rats. *Biochem Biophys Res Com* 1987; 147: 1170-1175.
148. Faden AI, Chan PH, Longar S: Alterations in lipid metabolism, $Na^+ -K^+$ ATPase activity, and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J Neurochem* 1987; 48: 1809-1816.
149. Hall ED, Braughler JM: Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and $Na^+ -K^+$ -ATPase activity. *J Neurosurg* 1982; 57: 247-253.
150. Young W, Koreh I: Potassium and calcium changes in injured spinal cords. *Brain Res* 1986; 365: 42-53.
151. Zileli M. Omurilik Yaralanmasının Farmakolojik Tedavisi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi. Ed. M.Zileli, Fahir Özer, 1. Baskı, İzmir. Saray Medikal yayıncılık 1997; 466-478.
152. Eidelberg E, Sullivan J, Brigham A: Immediate consequences of spinal cord injury: possible role of potassium in axonal conduction blok. *Surg Neurol.* 1975; 3 (6): 317-21.
153. Beirowski B, Adalbert R, Wagner D, Grumme DS, Addicks K, Ribchester RR, Michael P Coleman MP The progressive nature of Wallerian degeneration in wild-type and slow Wallerian degeneration (WldS) nerves. *BMC Neurosci* 2005, 6: 6.
154. Stys PK, Waxman SG, Ransom BR Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian CNS white matter: Role of Na^+ channels and Na^+ / Ca^{2+} exchanger. *J Neurosci* 1992b; 12: 430–439.
155. Imaizumi T, Kocsis JD, Waxman SG Anoxic injury in the rat spinal cord: Pharmacological evidence for multiple steps in Ca^{2+} dependent injury of the dorsal columns. *J Neurotrauma* 1997; 14: 299–311.

156. Faden AI: Pharmacotherapy in spinal cord injury: A critical review of recent developments. *Clin Neuropharm* 1987; 10: 193-204.
157. Guha A, Tator CH, Piper I: Effect of calcium channel blocker on posttraumatic spinal cord blood flow. *J Neurosurg* 1987; 66: 423-430.
158. Ross IB, Tator CH, Theriault E: Effect of nimodipine or methylprednisolone on recovery from acute experimental spinal cord injury in rats. *Surg Neurol* 1993; 40: 461-470.
159. Moskowitz A, Goodman RR, Autoradiographic distribution of MU1 and MU ad Delta Opioid binding in the central nervous system of C-57 BL/6 BY and CYBK (Opiid receptor deficient) mice brain. 1985. *Res. Vol.360 p.108-129*
160. Olsson Y, Sharma HS, Nyberg F, Westman J: The opioid receptor antagonist naloxane influences the pathophysiology of spinal cord injury. *Prog Brain Res* 1995; 104: 381-399.
161. Sharma HS, Olsson Y, Nyberg F: Influence of dynorphin A antibodies on the formation of edema and cell changes in spinal cord trauma. *Prog Brain Res* 1995; 104: 401-415.
162. Faden AI, Jacobs T, Holaday J. Comparison of Early and Late Naloxone Treatment in Experimental Spinal Injury. *Neurology*, 1982; 32: 677-681.
163. Faden AI, Jacobs TP, Holaday JW: Opiate antagonist improves neurologic recovery after spinal injury. *Science* 1980; 211: 493-494.
164. Faden AI, Jacobs TP; Smith MT, Holaday JW: Comparison of thyrotropinreleasing hormone (TRH), naloxane, and dexamethasone treatments in experimental spinal injury. *Neurology* 1983; 33: 673-678.
165. Faden AI: Neuropeptides and central nervous system injury. *Arch Neurol* 1986; 43: 01-504
166. Flamm ES, Young W, Demopoulos HB, DeCrescito V, Tomasula JJ: Experimental spinal cord injury: Treatment with naloxane. *Neurosurg* 1982, 10: 227-231.

167. Koc RK, Akdemir H, Kurtsoy A, Pasaoglu H, Kavuncu I, Pasaoglu A, Karakucuk I. Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. Comparison of treatment with Ginkgo biloba, TRH and methylprednisolone. *Res Exp Med (Berl)*. 1995; 195(2):117-23.
168. Diaz –Ruiz A, Ibarra A, Perez-Severiano F, et al: Constitutive end inducible nitric oxide synthase activities after spinal cord contusion in rats. *Neuroscience Letters*, 2002; 319: 129-132.
169. Isaksson J, Farooque M, Olsson Y: Improved functional outcome after spinal cord injury in iNOS –deficient mice. *Spinal cord* 2005; 43: 167-170.
170. Chabrier PE, Pallardy CD, Auget M: Nitric oxide synthases: targets for therapeutic strategies in neurological diseases. *CMLS*, 1999; 55: 1029-1035.
171. Gaviria M, Privat A, d'Arbigny P, et al: Neuroprotective effects of a novel NMDA antagonist, Gacyclidine, after experimental contusive spinal cord injury in adult rats. *Brain Research*, 2000; 874:200-209.
172. Suzuki T, Tatsuoka H, Chiba T, et al: Beneficial effects of nitric oxide synthase inhibition on the recovery of neurological function after spinal cord injury in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2001; 363: 94-100.
173. Sharma H, Badgaiyan RD, Alm P, et al: Neuroprotective effects of nitric oxide synthase inhibitors in spinal cord injury-induced pathophysiology and motor functions. *Ann. N.Y.Acad. Sci.* 2005; 1053: 42-434.
174. Wells JE, Hurlbert RJ, Fehlings MG, Yong VW Neuroprotection by minocycline facilitates significant recovery from spinal cord injury in mice. *Brain* 2003; 126:1628–1637.
175. Gris D, Marsh DR, Oatway MA, Chen Y, Hamilton EF, Dekaban GA, Weaver LC Transient blockade of the CD11d/CD18 integrin reduces secondary damage after spinal cord injury, improving sensory, autonomic, and motor function. *J Neurosci* 2004; 24: 4043–4051
176. Schwartz M, Yoles E Immune-based therapy for spinal cord repair: autologous macrophages and beyond. *J Neurotrauma* 2006; 23: 360–370.

177. Hall ED, Braughler JM Glucocorticoid mechanisms in acute spinal cord injury: a review and therapeutic rationale. *Surg Neurol* 1982; 18: 320–327.
178. Schultke E, Kendall E, Kamencic H, Ghong Z, Griebel RW, Juurlink BH Quercetin promotes functional recovery following acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2003; 20: 583–591.
179. Golding JD, Rigley MacDonald ST, Juurlink BH, Rosser BW The effect of glutamine on locomotor performance and skeletal muscle myosins following spinal cord injury in rats. *J Appl Physiol* 2006; 101: 1045–1052.
180. Liu-Snyder P, Logan MP, Shi R, Smith DT, Borgens RB Neuroprotection from secondary injury by polyethylene glycol requires its internalization. *J Exp Biol* 2007; 210: 1455–1462.
181. Hirbec H, Gaviria M, Vignon J Gacyclidine: A new neuroprotective agent acting at the N-methyl-D-aspartate receptor. *CNS Drug Rev* 2001; 7: 172–198.
182. Faden AI, Jacobs TP, Mougey E, Holaday JW Endorphins in experimental spinal injury: Therapeutic effect of naloxone. *Ann Neurol* 1981; 10: 326–332.
183. Luo J, Borgens R, Shi R Polyethylene glycol immediately repairs neuronal membranes and inhibits free radical production after acute spinal cord injury. *J Neurochem* 2002; 83: 471–480.
184. Laverty PH, Leskovar A, Breur GJ, Coates JR, Bergman RL, Widmer WR, Toombs JP, Shapiro S, Borgens RB (2004) A preliminary study of intravenous surfactants in paraplegic dogs: Polymer therapy in canine clinical SCI. *J Neurotrauma* 21: 1767–1777.
185. Winkler T, Sharma HS, Stalberg E, Badgaiyan RD, Gordh T, Westman J, Badgaiyan R An L-type calcium channel blocker, nimodipine influences trauma induced spinal cord conduction and axonal injury in the rat. *Acta Neurochir Suppl* 2003; 86: 425–432.
186. Hains BC, Saab CY, Lo AC, Waxman SG Sodium channel blockade with phenytoin protects spinal cord axons, enhances axonal conduction, and improves functional motor recovery after contusion SCI. *Exp Neurol* 2004; 188: 365–377.

187. Kaptanoglu E, Solaroglu I, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonakli E Blockade of sodium channels by phenytoin protects ultrastructure and attenuates lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien)* 2005; 147: 405–412.
188. Nehrt A, Rodgers R, Shapiro S, Borgens R, Shi R The critical role of voltage-dependent calcium channel in axonal repair following mechanical trauma. *Neurosci* 2007; 146: 1504–1512.
189. Baptiste DC, Fehlings MG Pharmacological approaches to repair the injured spinal cord. *J Neurotrauma* 2006; 23: 318–334.
190. Thuret S, Moon LD, and Gage FH Therapeutic interventions after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7: 628–643.
191. Levi AD, Dancausse H, Li X, Duncan S, Horkey L, Oliviera M. Peripheral nerve grafts promoting central nervous system regeneration after spinal cord injury in the primate. *J Neurosurg* 2002; 96: 197–205.
192. Papastefanaki F, Chen J, Lavdas AA, Thomaidou D, Schachner M, and Matsas R Grafts of Schwann cells engineered to express PSA-NCAM promote functional recovery after spinal cord injury. *Brain* 2007; 130: 2159–2174.
193. Li Y, Decherchi P, Raisman G Transplantation of olfactory ensheathing cells into spinal cord lesions restores breathing and climbing. *J Neurosci* 2003; 23: 727–731
194. Teng YD, Lavik EB, Qu X, Ourednik J, Zurakowski D, Langer R, Snyder EY Functional recovery following traumatic spinal cord injury mediated by a unique polymer scaffold seeded with neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 3024–3029.
195. Jablonska A, Kozłowska H, Markiewicz I, Domanska-Janik K, Lukomska B Transplantation of neural stem cells derived from human cord blood to the brain of adult and neonatal rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2010; 70: 337– 350.
196. Szymczak P, Wojcik-Stanaszek L, Sypecka J, Sokołowska A, Zalewska T Effect of matrix metalloproteinases inhibition on the proliferation and differentiation of HUCB-NSCs cultured in the presence of adhesive substrates. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2010; 70: 325–336.

197. Koda M, Okada S, Nakayama T, Koshizuka S, Kamada T, Nishio Y, Someya Y, Yoshinaga K, Okawa A, Moriya H, Yamazaki M Hematopoietic stem cell and marrow stromal cell for spinal cord injury in mice. *Neuroreport* 2005; 16: 1763–1767.
198. Karimi-Abdolrezaee S, Eftekharpour E, Wang J, Morshead CM, Fehlings MG Delayed transplantation of adult neural precursor cells promotes remyelination and functional neurological recovery after spinal cord injury. *J Neurosci* 2006; 26: 3377–3389.
199. Sypecka J, Dragun-Szymczak P, Zalewska T, Domańska- Janik K Laminin promotes oligogliogenesis and increases MMPs activity in human neural stem cells of HUCB-NSC line. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2009; 69: 37–45.
200. Nakamura M, Okano H.: Cell transplantation therapies for spinal cord injury focusing on induced pluripotent stem cells. *Cell Research* (2012) :1-11.
201. Chen J, Bernreuther C, Dihne M, Schachner M Cell adhesion molecule L1-transfected embryonic stemcells with enhanced survival support regrowth of corticospinal tract axons in mice after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2005; 22: 896–906.
202. Ali H, Jurga M, Kurgonaitė K, Forraz N, McGuckin C Defined serum-free culturing conditions for neural tissue engineering of human cord blood stem cells. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2009; 69: 12–23.
203. Buzanska L, Ruiz A, Zychowicz M, Rauscher H, Ceriotti L, Rossi F, Colpo P, Domaska-Janik K, Coecke S Patterned growth and differentiation of human cord blood derived neural stem cells on bio-functionalized surfaces. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2009; 69: 24–36.
204. Fehlings MG, Baptiste DC Current status of clinical trials for acute spinal cord injury. *Injury* 2005; 36: B113–B122.
205. Zhou L, Shine HD Neurotrophic factors expressed in both cortex and spinal cord induce axonal plasticity after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2003; 74: 221–226.

206. Bartkowska K, Turlejski K, Djavadian RL Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2010; 70: 454–467.
207. Fouad K, Klusman I, Schwab ME Regenerating corticospinal fibers in the Marmoset (*Callitrix jacchus*) after spinal cord lesion and treatment with the anti-Nogo-A antibody IN-1. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 2479–2482.
208. Klapka N, Hermanns S, Straten G, Masannek C, Duis S, Hamers FP, et al. Suppression of fibrous scarring in spinal cord injury of rat promotes long-distance regeneration of corticospinal tract axons, rescue of primary motoneurons in somatosensory cortex and significant functional recovery. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 3047–3058.
209. Webb AA, Sybil N, Fowler D Spinal cord injury I: A synopsis of the basic science. *Can Vet J* 2010; 51: 485–492.
210. Wagner FC, Dohrmann GJ, Bucy PC. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. *J Neurosurg* 1981;35: 272-276.
211. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC. The microvascularity in transitory traumatic paraplegia. An electron microscopic study in monkey. *J Neurosurg* 1971;35: 263-271.
212. Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 1996; 19: 206-214.
213. Güzel A, Tatlı M, Ökten A İ, Çaylı S: Pathology and Physiopathology of Spinal Cord Injury. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2006; 28 (2): 73 – 78.
214. Bullock R, Fujisawa H. The role of glutamate antagonist for the treatment of CNS injury. *J Neurotrauma* 1992; 9: 443-462.
215. Gülmen V, Zileli M. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. In: Zileli M, Özer F (eds): *Omurilik ve omurga cerrahisi*, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 833-839.
216. Andersson KE. Pharmacology of erectile function and dysfunction. *Urol Clin North Am* 2001; 28(2): 233.

217. Eardley I, Ellis P, Boolell M, Wulff M. Onset and duration of action of sildenafil for the treatment of erectile dysfunction. *Br J Clin Pharmacol*,2002; 53 Suppl 1: 61S.
218. Alwaal A, Al-Mannie R, Carrie S. Future prospects in the treatment of erectile dysfunction: focus on avanafil. *Drug Design Development and Therapy* 2011; 5: 435.
219. Kim H, Sohn DW, Kim SD ve ark. The effect of mirodenafil on the penile erection and corpus cavernosum in the rat model of cavernosal nerve injury. *International Journal of Impotence Research* 2010; 22: 291,
220. Corbin JD, Francis SH. Molecular biology and pharmacology of PDE-5- Inhibitor Therapy for erectile dysfunction. *Journal of Andrology* 24: No 6 Suppl. 2003.
221. http://en.wikipedia.org/wiki/File:Tadalafil_skeletal.
222. Ockaili R, Salloum F, Hawkins J et al Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial KATP channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283:263–269.
223. Varma A, Das A, Hoke NN, Durrant DE, Salloum FN, Kukreja RC: Anti-inflammatory and cardioprotective effects of tadalafil in diabetic mice. *PLoS One*:2012: 7(9)e45243).
224. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, et al: Endothelial antioxidant compound prolonged the endothelial antiapoptotic effects registered after tadalafil treatment in patients with arterial erectile dysfunction. *J Androl* 2012 Mar- Apr; 33(2):170-5)
225. A. Küçük, M. Yucel, N. Erkasap, M. Tosun, T. Koken, M. Ozkurt, S. Erkasap. The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats: *Mol Biol Rep* (2012) 39: 9775–9782.
226. Tarlov IM, Klinger H. Spinal cord compression studies: III. Time limits for recovery after acute compression in dogs. *Arch Neurol Psychiatry*. 1954;71: 588-97.

227. Rivlin AS, Tator CH: Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J Neurosurg* 1978; 49: 844-853.
228. Tarlov IM: spinal cord compression. Mechanism of paralysis and treatment. Springfield III, Charles C Thomas, 1957.
229. Hoerlein BF, Redding RW, Hoff EJ, McGuire JA. Evaluation of dexamethasone, DMSO, mannitol, and solcoseryl in acute spinal cord trauma. *J Am Anim Hosp As-soc* 1983;19: 216-26.
230. Zileli M, Taniguchi M, Cedzich C, Schramm J. Vestibulospinal evoked potential versus motor evoked potential monitoring in experimental spinal cord injuries of cats. *Acta Neurochir (Wien)* 1989;101:141-8.
231. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5): 265-279.
232. Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment. *Exp Neurol* 1985; 88(1): 123-34.
233. Yu K, Rong W, Li J, Jia L, Yuan W, Yie X et al. Neurophysiological evidence of spared upper motor conduction fibers in clinically complete spinal cord injury: incomplete SCI in rats. *J Neurol Sci* 2001; 189: 23-36.
234. Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Solaroğlu I, Kılınç A, Taşkın Y. Magnesium sulfate treatment in experimental spinal cord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurg Rev* 2003; 26: 283-7.
235. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T, et al: Relationship between free radical production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. *Brain Res.*1991; 554: 186-192.
236. Görgülü A, Kırış T, Ünal F, et al: Superoxide dismutase activity and the effects on NBQX and CPP on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Res Exp Med* 2000; 199: 285-293.
237. Jeremy JY, Ballard SA, Naylor AM, Miller A, Angelini GD. Effects of sildenafil, a type-5 cGMP phosphodiesterase inhibitor, and papaverine on cyclic GMP and

- cyclic AMP levels in the rabbit corpus cavernosum in vitro. *Br J Urol* 1997; 79:958-63.
238. Corbin JD, Turko IV, Beasley A, Francis SH. Phosphorylation of phosphodiesterase-5 by cyclic nucleotide-dependent protein kinase alters its catalytic and allosteric cGMP-binding activities. *Eur J Biochem* 2000 May; 267(9): 2760-7.
239. Lue TF. Erectile dysfunction. *N Eng J Med* 2000; 342: 1802-13.
240. Serarslan Y, Yonden Z, Ozgiray E, Oktar S, Guven E.O, Soğüt S, Yılmaz N, Yurtseven T. Protective effects of tadalafil on experimental spinal cord injury in rats: *Journal of Clinical Neuroscience* 17 (2010) 349–352
241. Tsai B.M., Turrentine M.W., Sheridan B.C. et al. Differential effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary artery cytokine expression. *Ann. Thorac. Surg.* (2006) 81 272–278.
242. Rocha FA, Silva FS Jr, Leite AC, Leite AK, Girão VC, Castro RR, Cunha FQ. Tadalafil analgesia in experimental arthritis involves suppression of intra-articular TNF release. *Br Pharmacol* 2011 Sep; 164(2b): 828-35.
243. Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Okutan O, Sürücü HS, Taşkın Y. Effect of magnesium sulfate in experimental spinal cord injury: evaluation with ultrastructural findings and early clinical results. *J Clin Neurosci* 2003; 10(3): 329-34.