

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

KARVEDİLOL'ÜN SPİNAL TRAVMADA İKİNCİL HASAR ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

YAŞAR KARATAŞ

UZMANLIK TEZİ

KONYA
2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

KARVEDİLOL'ÜN SPİNAL TRAVMADA İKİNCİL HASAR ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

YAŞAR KARATAŞ

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
YRD.DOÇ.DR.ŞAHİKA LİVA CENGİZ

KONYA
2013

1.3 Teşekkür

Bu tez çalışması 121518007 proje no ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün (BAP) desteği ile yapılmıştır. Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda destek olan; mesleki ve kişisel gelişimimde büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof.Dr.Ertuğ Özkal, Prof.Dr.Mehmet Erkan Üstün, Prof.Dr.Yalçın Kocaoğulları, Prof.Dr.Önder Güney, Prof.Dr.Alper Baysefer'e, Doç.Dr.Erdal Kalkan' a, Yrd.Doç.Dr.Fatih Keskin, Yrd.Doç.Dr.Bülent Kaya, Yrd.Doç.Dr.Fatih Erdi' ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı planlamam, uygulamam ve sonuçlandırmamda bilgi, beceri ve desteğini esirgemeyen tez hocam Yrd.Doç.Dr.Şahika Liva Cengiz'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada histopatolojik ve immunhistokimyasal incelemeleri büyük bir titizlikle yapan Yrd.Doç.Dr.H.Hasan Esen'e, biyokimyasal incelemeleri yapan Yrd.Doç.Dr.Aysun Toker'e ve değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Desteğini ve sevgisini benden hiç bir zaman esirgemeyen aileme, sevgili eşim Ayşegül'e ve enerji kaynağım oğlum Muhammed Yaşar'a yürek dolusu sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yaşar Karataş

Konya, 2013

ÖZET

KARVEDİLOL'ÜN SPİNAL TRAVMADA İKİNCİL HASAR ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

YAŞAR KARATAŞ UZMANLIK TEZİ KONYA 2013

Amaç: Bu deneysel çalışmada karvedilolün spinal travmada ikincil hasar üzerine olan etkilerini inceledik.

Yöntem: Yirmi dört adet Wistar albino sıçan 3 gruba randomize edildi. Spinal kord yaralanması ağırlık düşürme modeliyle gerçekleştirildi. Grup 1'e sadece laminektomi uygulandı ve herhangi bir tedavi verilmedi. Grup 2'ye laminektomi ardından spinal kord travması uygulandı ve herhangi bir tedavi verilmedi. Grup 3'e laminektomi ardından spinal kord travması uygulandı ve karvedilol verildi (2 mg/kg oral). Tüm gruplardaki deneklerin travmanın 1. ve 24. saatlerinde nörolojik muayeneleri Tarlov skoru kullanılarak kaydedildi. 24. saatte tüm hayvanlar sakrifiye edildi. Spinal kord doku örnekleri alınarak süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA), glutatyonperoksidaz (GSH), myeloperoksidaz (MPO) düzeyleri belirlendi ve histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak da Tunnel yöntemi ile apoptoz düzeylerine bakıldı ve hematoksilen eozin boyalı preparatlarla ışık mikroskopi bulguları incelendi. Elde edilen sonuçlar karşılaştırıldı.

Bulgular: Karvedilol grubu incelendiğinde travma grubuna göre 1. saat motor skorları üzerine fonksiyonel iyileştirici etkisi olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p:0.234$), 24. saat motor skorları üzerine istatistiksel olarak anlamlı ölçüde fonksiyonel iyileşme sağladığı görüldü ($p:0.005$). Karvedilolün hem beyaz cevherde hem de gri cevherde travma grubuna göre apoptozisi azalttığı ancak istatistiksel farklılık oluşmadığı saptandı ($p>0.05$). Dejenere nöron sayısı ve dejenere glial hücre sayısı da karvedilol grubunda travma grubuna göre düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Karvedilol antioksidan enzim düzeyleri üzerine olumlu etki gösterdi ancak bu istatistiki olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Sonuç: Karvedilol uygulamasının ratlarda özellikle fonksiyonel iyileşmede ve histopatolojik değişiklikler üzerine olumlu etkilerinin olduğu ve spinal travmada apoptozu engelleyerek ikincil hasarı azalttığı saptandı.

ABSTRACT

THE EFFECT OF CARVEDILOL IN SPINAL TRAUMA ON THE SECONDARY DAMAGE

YAŞAR KARATAŞ

KONYA 2013

Aim : This study was performed to investigate the effect of carvedilol on the secondary damage in experimental spinal cord injury

Material-Methods: Twenty four Wistar albino rats were divided into three groups of eight rats in each groups. Spinal cord injury was produced by using weight drop technique. Group 1 underwent laminectomy alone. Group 2 underwent laminectomy followed by SCI and received no medication. Group 3 underwent laminectomy followed by SCI and received carvedilol (2 mg/kg orally). The neurological function of the hind limbs was assessed by the Tarlov's motor scale at the first and 24 th. hours. All rats were sacrificed after 24. th hours of the trauma. Spinal cord specimens divided into two groups for biochemical and histopathological evaluation. Oxidative stress status was assessed by measuring the spinal cord tissue content of malonyldialdehyde (MDA), superoxidase dismutase (SOD), myeloperoxidase (MPO), glutathione (GSH) activities. A TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) based apoptosis kit was used for evaluating apoptosis on the spinal cord samples and hematoxylin- and eosin-stained specimens used for light microscopy examination.

Results: There was a statistically difference on the functional recovery at the 24 th hours between the carvedilol and trauma groups ($p:0.005$). At the first hour of the trauma there was no statistically difference between the groups ($p:0.234$). Histopathological assesment showed that carvedilol reduced the apoptotic cell counts in the white matter and gray matter but there was no statistically difference ($p>0.05$). As well as carvedilol reduced degenerated neurons and degenerated glial cell counts but there was no statistically difference ($p>0.05$). Carvedilol increased the SOD and GSH levels and reduced the MDA and MPO levels but there was no statistically difference between the groups ($p>0.05$).

Conclusion: Carvedilol has statistically therapeutic effect especially on the functional recovery and we found that carvedilol reduced secondary damage by inhibiting apoptosis.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

Teşekkür	iii
Özet	iv
Abstract	v
İçindekiler.....	vi
Tablolar dizini	vii
Şekiller dizini.....	viii
Grafikler dizini	ix
Resimler dizini	x
Simgeler ve Kısaltmalar	xi
2 TEZ METNİ.....	1
2.1 Giriş ve Amaç.....	
2.2 Genel Bilgiler	
2.2.1 Spinal kord travmasının tarihçesi	
2.2.2 Spinal travma epidemiyolojisi.....	
2.2.3 Omurilik yaralanması fizyopatolojisi	
2.2.4 Birincil hasar	
2.2.5 İkincil hasar	
2.2.6 Sekonder hasar oluşumunu etkileyen faktörler	
2.2.6.1 İyon mekanizmaları	
2.2.6.2 Eksitatör aminoasitler	
2.2.6.3 Opiat reseptörleri	
2.2.6.4 İnflamatuvar cevap	
2.2.6.5 Vasküler mekanizmalar ve endotel hasarı	

2.2.6.6 Apopitozis	
2.2.6.7 Serbest radikaller ve lipit peroksidatif mekanizmalar	
2.2.7 Serbest radikallerin hücresele etkileri	
2.2.7.1 Membran lipitleri ve lipit peroksidasyonu	
2.2.7.2 Malonildialdehit (MDA)	
2.2.7.3 Nükleik asitler ve DNA (deoksiribonükleik asit)	
2.2.7.4 Proteinler	
2.2.7.5 Karbonhidratlar	
2.2.8 Omurilik yaralanmasında lezyon bölgesindeki patolojik değişiklikler	
2.2.8.1 Akut faz (Hemorajik nekroz)	
2.2.8.2 Subakut faz	
2.2.8.3 Geç faz	
2.3 Karvedilol	
2.3.1 Farmakokinetik özellikleri	
2.3.2 Farmakodinamik özellikleri	
2.3.3 Endikasyonları	
2.3.3.1 Hipertansiyon	
2.3.3.2 Koroner kalp hastalığı	
2.3.3.3 Kronik kalp yetmezliği	
2.3.4 Kontrendikasyonları	
2.3.5 Yan etkiler/ Advers etkiler	
2.4 Gereç ve Yöntem	
2.4.1 Anestezi.....	
2.4.2 Cerrahi işlem	
2.4.3 Omurilik travması oluşturulması.....	

2.4.4 İlaç uygulaması	
2.4.5 Fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi	
2.4.5.1 Klinik motor muayene.....	
2.4.6 Histopatolojik inceleme.....	
2.4.7 Biyokimyasal incelemeler	
2.4.7.1 Doku MDA düzeyinin ölçülmesi	
2.4.7.2 Myeloperoksidaz aktivite tayini	
2.4.7.3 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü	
2.4.7.4 Glutasyon ölçümü	
2.4.8 İstatistiksel analiz	
2.5 Bulgular	
2.5.1 SOD değerleri	
2.5.2 MPO değerleri	
2.5.3 GSH değerleri	
2.5.4 MDA değerleri	
2.5.5 Nörolojik muayene skorları	
2.5.6 Histopatolojik bulgular	
2.5.6.1 Kontrol grubu	
2.5.6.2 Tedavi grubu	
2.5.6.3 Travma grubu	
2.6 Tartışma.....	
2.7 Sonuç ve Öneriler	
3. KAYNAKLAR.....	

TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Tablo 1. Deneysel omurilik yaralanması	
Tablo 2. Spinal kord yaralanmasında fizyopatolojik mekanizmalar	
Tablo 3. İnsan omurilik yaralanmasında birincil mekanizmalar	
Tablo 4. SOD değerleri (u/g protein)	
Tablo 5. MPO değerleri (u/g protein)	
Tablo 6. GSH değerleri (micromol/g protein)	
Tablo 7. MDA değerleri (micromol/g protein)	
Tablo 8. Kontrol grubuna ait motor skorlar	
Tablo 9. Tedavi grubuna ait motor skorlar	
Tablo 10. Travma grubuna ait motor skorlar	
Tablo 11. Motor skorları ortalaması	
Tablo 12. Denekler ait histopatolojik bulgular (ortalama + standart sapma)	
Şekil 1. Karvedilolün kimyasal formülü	

GRAFİKLER VE RESİMLER DİZİNİ

SAYFA

Grafik 1. SOD değerlerinin gruplara göre dağılımı	
Grafik 2. MPO değerlerinin gruplara göre dağılımı	
Grafik 3. GSH değerlerinin gruplara göre dağılımı	
Grafik 4. MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı	
Grafik 5. Beyaz cevherde apopitozis düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması	
Grafik 6. Gri cevherde apopitozis düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması	
Grafik 7. Nöron sayısının gruplara göre karşılaştırılması	
Grafik 8. Dejenere nöron sayısının gruplara göre karşılaştırılması	
Resim 1. Kontrol grubuna ait hemotoksilen&eoziin boyalı preperat	
Resim 2. Kontrol grubuna ait apopitozis(TUNEL metot) preperatları	
Resim 3. Tedavi grubuna ait hemotoksilen&eoziin boyalı preperat	
Resim 4. Tedavi grubuna ait apopitozis(TUNEL metot) preperatları	
Resim 5. Travma grubuna ait hemotoksilen&eoziin boyalı preperat	
Resim 6. Travma grubuna ait apopitozis(TUNEL metot) preperatları	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
AF	: Atrial fibrilasyon
AMPA	: Alfa amino 3 hidroksi 5 metil isoazol propionik asit
ATP	: Adenozin tri fosfat
AV	: Atrioventriküler
Ca	: Kalsiyum
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DTNB	: 5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit
EAA	: Eksitatör aminoasitler
Fe	: Demir
GSH	: Glutatyon
HO2	: Perhidroksi radikal
H2O2	: Hidrojen peroksit
KY	: Kalp yetmezliği
LT	: Lökotrien
Mİ	: Miyokard infarktüsü
M.Ö	: Milattan önce
MPO	: Myeloperoksidaz
MDA	: Malonildialdehit
Na	: Sodyum
NMDA	: N metil D aspartat
NO	: Nitrit oksit
O2	: Süperoksit radikal
PG	: Prostaglandin
RNA	: Ribonükleik asit
ROO	: Organik peroksi radikal
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSS	: Santral sinir sistemi
TUNEL	: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling

2 TEZ METNİ

2.1 Giriş ve Amaç

Travma sonucu meydana gelen omurilik yaralanmalarında mortalite ve morbidite oranları halen günümüzde oldukça yüksektir. Meydana gelen sekeller bireysel, sosyal ve ekonomik olarak ağır sonuçlara neden olmaktadır (Nishida ve ark. 2006). Türkiye’ de bir yıl içerisinde ortalama 1600-2000 travmatik omurilik yaralanması olgusu meydana gelmektedir (Karamehmetoğlu ve ark 1995). Bu olguların % 64-80’i erkek olup % 61’i ülkenin genç dinamik nüfusunu oluşturan 16-30 yaşları arasındadır. Bu hastaların yarısı komplet nörolojik defisitli grubu oluşturur.. Komplet hasarın % 54 kadarı kuadriplejik ve % 46 sı paraplejiktir. Hastaların hastanede kalış süreleri oldukça uzun , yaşam kaliteleri ve topluma adaptasyonları hayli zordur (Schwab ve ark 1996, Sonntag 1997). Travmatik omurilik yaralanmalarının nedenleri sıklık sırasına göre; yaklaşık yarısını oluşturan motorlu araç kazaları , daha sonra düşmeler, ateşli silah yaralanmaları veya kesici-delici aletlerle oluşmuş penetran yaralanmalar ve spor kazalarıdır. En sık travmaya uğrayan bölgeler servikal ve torakolomber bileşkedir (De La Torre 1981, Aguayo 1982, Demediuk ve ark 1985, Schwab ve ark 1996). Omurilik yaralanmaları üzerine bir çok araştırma yapılmasına rağmen halen klinik üzerinde istenen derecede olumlu etkisi olan ve ortak bir tedavi protokolü geliştirilebilmiş değildir (Fehlings 2001, Dumont ve ark 2002). Omurilik yaralanmasında irreversibl birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile bir çok şekilde gelişebilir. Mekanik yaralanma sonrası meydana gelen biyokimyasal ve histopatolojik olaylar zincirinin oluşturduğu ikincil hasar mekanizması ise birincil hasarı takiben oluşmaya başlar.Travmadan sonra başlayan bu ikincil hasar zincirinin durdurulması yada yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır (Ducker ve ark 1971). Bu ikincil hasardan sorumlu tutulan pek çok etken olmasına karşın özellikle serbest oksijen radikalleri ve lipit peroksidasyonu ayrı bir öneme sahiptir. Son dönemdeki çalışmaların büyük kısmı bu iki parametre üzerinden yapılmaktadır.

Bu çalışmada antihipertansif, vazodilatör etkileri yanında antioksidan etkileri de olan bir beta bloker ilaç olan karvedilolün deneysel spinal kord yaralanmasında ikincil hasar üzerine olan nöroprotektif etkisini inceledik.

2.2.Genel bilgiler

2.2.1 Spinal kord travmasının tarihçesi

Travmatik omurilik yaralanması ile ilgili ilk belgeler M.Ö 2000-3500 yıllarında yazılan Edwin Smith Papirüs’ leri olarak adlandırılan Mısırlı cerrahlar tarafından yazılmış belgelerdir. O dönemde Mısırlı cerrahlarca travmatik omurilik yaralanmaları ya tedavi edilebilir ya tedavisi denenebilir veya tedavisi mümkün olmayan hastalıklar olarak

sınıflandırılmıştır (Breasted 1930, De La Torre 1984, Khan ve ark 1985, Freeman ve ark 2005). Omuriliğe ilk insizyon 2. yüzyılda Galen tarafından yapılmıştır. Hipokrat ise omurilik ve omurga yaralanmaları ile paraliziler arasında bir ilişki olduğunu belirtmiştir ancak omuriliğin fonksiyonunu açıklayamamıştır. Travma sonrası oluşan omurga deformiteleri için traksiyon uygulamıştır (Marketos ve ark 1999). Egeli Paulus ise omurilikteki işlev kaybının traksiyon ile tedavi edilmesinin mümkün olmadığını belirtmiştir. Dekompresif cerrahi uygulamıştır (Ohry ve ark 1989). Travmatik omurilik yaralanmaları ile ilgili 1911 yılında Allen' in köpek omurgası üzerine ağırlık düşürme yöntemi ile yaptığı deneysel çalışma sekonder hasar kavramını ortaya çıkarmış ve daha sonra yapılacak olan deneysel çalışmalarında öncülüğünü yaparak sistematikleşmesinde önemli rol oynamıştır (Amar ve ark 1999, Kwon ve ark 2002). Tarlov 1953'te epidural aralıkta balon şişirerek omurilik yaralanması oluşturmuştur. Rivlin ve Tator 1978'de omuriliği anevrizma klibi ile komprese etmiş, klip kapanma gücü ve kompresyon süresi ile omurilik yaralanma şiddeti arasında ilişkiyi ortaya koymuşlardır. Watson 1986'da lazer ile omurilik insizyonu yapmıştır (Zileli ve ark 2002). Bu deneysel modellerle birlikte bir çok deneysel omurilik yaralanma modeli geliştirilmiştir.

Tablo 1. Deneysel omurilik yaralanması (Zileli ve ark 2002)

A) Travmatik Yaralanma
1- Akut Kinetik Kompresyon – kaf, klip, balon, vertebral dislokasyon, <i>impactor</i> .
2- Akut Statik Kompresyon –ağırlık uygulanması
3- Ağırlık Düşürme
4- Akselerasyon-Deselerasyon
5- Distraksiyon
6- Transeksiyon-parsiyel, tam, lazer, bistüri
B) Non-travmatik Yaralanma
1- İskemi-aort oklüzyonu, selektif arter veya ven oklüzyonu
2-Tümör kompresyonu
3- Kimyasal

2.2.2 Spinal travma epidemiyolojisi

Travmatik omurilik yaralanması insidansı yılda 7.500-10.000 civarındadır. Bu oran tüm dünyada gelişmiş ülkeler arasında yılda 32.000 lezyona yani her 16 dakikada bir lezyona karşılık gelmektedir. Avrupa ve Kuzey Amerika istatistiklerine göre en yüksek yaralanma oranları 16-30 yaşlarında olmaktadır. ABD de travmatik omurilik yaralanmalarının % 40' ı motorlu taşıt kazası, % 25'i şiddet, % 20' si düşme, % 5-10' u spor kazalarından meydana gelmektedir (Horner ve ark 2000). Avrupada spor kazası oranı daha yüksek, şiddet oranı daha

azdır. Servikal yaralanmalar tetraplejiye neden olurken, aşağı lezyonlar paraplejiye neden olurlar. Tetrapleji ve parapleji yaralanmalarının yarısında mevcuttur (Raineteau ve ark 2001). Ülkemizde yılda 500-600 yeni akut omurilik travması vakası meydana geldiği bildirilmektedir. Epidemiyolojik çalışmalarda ülkemizde yıllık insidansın milyonda 12,7 olduğu ve % 82 sinin erkek olduğu, yaralanma sebebinin de yüksek oranla (% 48,8) taşıt kazalarının olduğu bildirilmiştir (Karamehmetoğlu ve ark 1997, Karacan ve ark 2000). Bu vakaların yarısından fazlasının 2. ve 3. dekatlarda olduğu saptanmıştır. Hastaların % 61'inin 16-30 yaşları arasında olması, sorunun ne kadar önemli olduğunu gözler önüne sermektedir (Hancı 2000). Güneydoğuda yapılan bir başka çalışmada ise yıllık insidansın milyonda 16,9 erkek kadın oranı 5,8: 1 bulunmuş, yaralanma nedeni olarak en fazla yüksekten düşme (% 37,3) olarak gösterilmiştir (Karamehmetoğlu ve ark 1997, Karacan ve ark 2000). Omurilik hasarına neden olan travmalar en çok yaz aylarında, özellikle hafta sonu ve günün en sık 24-05 saatleri arasında meydana geldiği görülmüştür (Kirshblum ve ark 1998).

2.2.3 Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi

Çarpma, kompresyon, distraksiyon, laserasyon, transeksiyon gibi mekanik etkiler sonucunda spinal kordda birincil hasar gelişir. Oluşan bu primer hasar travmanın şiddeti ile doğru orantılı olup zamanla artmaktadır (Khalof ve ark 2000). Yapılan otopsi çalışmalarında omurilik yaralanmalarında klinik olarak komplet işlev kaybı olsa bile , omuriliğin anatomik olarak sağlam kalabildiği gösterilmiştir. Deneysel çalışmalarda da spinal aksonların %12 kadar az bir oranın korunmasının, nörolojik fonksiyonel iyileşmeye önemli ölçüde katkıda bulunacağı saptanmıştır. Böylece, hasarlı bölgede fonksiyonel akson oranını artıran ya da bu aksonlardan gelen zayıf uyarılara alt motor nöronların yanıtını artırıcı her türlü girişim, nörolojik iyileşmede belirgin etki gösterir (Kaptanoğlu 2005). Trafik ve iş kazaları, yüksekten düşmeler, günlük yaşama ait kazalar, spor yaralanmaları ve ateşli silah yaralanmaları omurilik yaralanmalarının başlıca sebepleridir. Medulla spinalise darbe olduğu ilk anda nöron ve aksonlarda oluşan mekanik hasar; primer yaralanma olarak adlandırılmaktadır. Primer yaralanma spinal kordun kendisine veya çevresindeki vertebral kolona ait çeşitli travma şekillerini takiben gelişir ve oluşan hasarın büyüklüğü birçok biyomekanik faktöre bağlıdır ve kırılan kemik fragmanın derecesiyle ilişkili olmayabilir. Primer mekanik hasar daha sonra hasarın artmasına neden olacak sekonder mekanizmaların oluşmasında bir çekirdek işlevi görür. Bu sekonder hasar mekanizmaları ;oksidatif stres yanıtı, nörojenik şok, hemoraji ve iskemi reperfüzyon hasarı, eksitotoksisite, kalsiyumla ilişkili sekonder hasar, sıvı elektrolit dengesizliği, immünolojik hasar, apopitoz ve mitokondriyal disfonksiyonu

içermektedir(Dumont ve ark 2001). Spinal kord yaralanmaları birbiri içine girmiş mekanizmalar sonucu lokal ve sistemik etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle bu hastaların tedavisinde multidisipliner yaklaşım gerekir (Tator 1996).

Tablo 2. Spinal kord yaralanmalarında fizyopatolojik mekanizmalar (Kaptanoğlu 2005)

1. Sistemik Etkileri
Nabız (kısa süreli artışı takiben uzun süreli bradikardi)
Kan basıncı (kısa süreli arteryel tansiyon yüksekliği sonrası uzun süreli hipotansiyon)
Periferik dirençte azalma
Kardiyak output da azalma
Katekolaminlerde önce artma sonra azalma
2.Spinal kordun mikrosirkülasyonunda lokal vasküler hasarlanma
Kapiller ve venüllerde mekanik yırtılmalar
Hemoraji
Mikrosirkülasyonun durması
Spinal kord kan akımında azalma
Otoregülasyonun bozulması
3.Biyokimyasal değişiklikler
Eksitoksisite (Glutamat)
Nörotransmitter akümülyasyonu
Araşidonik asit salınımı
Serbest radikal oluşumu
Lipit peroksidasyonu
Endojen opioidler
Sitokinler
4.Elektrolit şifti
Ekstraselüler potasyum artışı
İntraselüler sodyum artışı
İntraselüler kalsiyum artışı
5.Ödem
Endojen opioidler

Tablo 2 devamı

Sitokinler
4.Elektrolit şifti
Ekstraselüler potasyum artışı
İntraselüler sodyum artışı
İntraselüler kalsiyum artışı
5.Ödem
6.Enerji metabolizmasında bozulma

2.2.4 Birincil Hasar

İnsanda birçok mekanizma ile spinal kord birincil hasarı meydana gelebilir. Omurilik yaralanması ile sonuçlanan travmalarda omuriliğin kendisi veya etrafındaki vertebral kolon etkilenebilir. Sonuçtaki hasarın derecesi, çeşitli biyomekanik faktörlere bağlıdır. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi, nöral elemanların kendisinde veya omurilik damarlarında gerilme veya yırtılmaya sebep olur. Diğer olası mekanik etkiler vertebral kolonu oluşturan kemik, ligamanlardan veya spinal kanal içindeki hematomlardan kaynaklanan kompresyon sonucu oluşur. Bu kuvvetler, sadece yaralanma esnasında akut olarak değil, aynı zamanda kalıcı deformiteye bağlı, kronik olarak da omuriliği tahrip edebilirler (Kaptanoğlu 2005). Mekanik instabilite, kompresif veya distraktif ek kuvvetler yükleyen posttravmatik kifoz gibi daha ileri yapısal deformasyonlara götürebilir ve nörolojik defisitte artmaya neden olabilir. Yaralanmanın yaygınlığı ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli boyutlarına da dayanmaktadır. Geniş kanallar mekanik strese karşı tampon sağlayabilse de, dar (stenotik) kanallarda böyle bir rezerv yoktur. Konus medullarisle ilişkisine göre yaralanmanın anatomik yerleşimi de kısmen prognostik öneme sahip gibi görünmektedir. Kauda ekuina yaralanmaları, omuriliğin kendisine göre daha iyi bir iyileşme prognozuna sahiptir, zira alt motor nöronlar travmaya daha dirençlidirler.

Tablo 3. İnsan omurilik yaralanmasında birincil mekanizmalar

Mekanik Kuvvet	Yaralanmanın Mekanizması
Darbe ile birlikte devamlı kompresyon	Burst fraktürü Disk yırtılması
Darbenin tek başına olduğu durum	Hiperekstansiyon
Distraksiyon	Hiperfleksiyon
Laserasyon, transeksiyon	Burst fraktürü Laminar fraktür Atesli silah yaralanması

2.2.5 İkincil Hasar

Allen' in 1900 lü yıllarda omurilik yaralanması olan hayvanlar üzerinde yaptığı çalışmalarda omurilikte ilerleyici hasar meydana geldiğini saptaması üzerine ikincil hasar kavramı gündeme gelmiştir (Li ve ark 1996). Bu kavramın açıklanması için, çeşitli patofizyolojik mekanizmalar öne sürülmüştür.

Omurilik yaralanması sonrasında, omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Ducker bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (Ducker ve ark 1971). Nemecek bu ciddi nekrozu "otodestruksiyon" olarak tanımlamıştır (Nemecek 1978). Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji değildir. Beyindeki inen yolların nöronları omurilikteki lokal yaralanmadan etkilenecek atrofî, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergilerler (Palmer ve ark 1994).

2.2.6 Sekonder Hasar Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Sekonder hasar mekanizmalarından üzerinde en fazla durulan spinal şok, vasküler değişiklikler, hücre içi Ca artması, serbest radikal teorisi, endojen opioid ve enflamatuar değişiklik ve apoptoz teorileridir (İplikçioğlu 2002).

2.2.6.1 Eksitator aminoasitler

Travma sonrası eksitator aminoasitlerden (EAA) glutamat ve aspartat seviyesi hızla yükselir. EAA doku hasarında, hücre içinde sodyum, kalsiyum artışı ve hücre şişmesi ile proteazlar, kinazlar ve fosfolipazlar gibi kalsiyum bağımlı olayların başlamasına neden olur (Choi 1992). Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri aracılığıyla olurken, travmatik omurilik yaralanmasında AMPA ve kainat gibi non-NMDA reseptörleri üzerinden olmaktadır (Kaptanoğlu 2005).

2.2.6.2 İyon mekanizmaları:

Spinal kord yaralanması sonrasında meydana gelen anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur. Na kanallarından hücre içine Na akar. İntraselüler Na konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, Na-Ca değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine yüksek miktarda Ca girişine neden olur. Kalsiyum'un hücre dışındaki konsantrasyonun fazla olmasına bağlı olarak hücre içine girişi artar. Hücre içindeki kalsiyum iyonları, fosfolipazları ve proteazları aktive eder. Fosfolipazlar

hücre membranının yıkılmasına neden olur. Hücre membranının yıkılması sonucunda, araşidonik asit ve metabolitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Araşidonik asit, siklooksijenaz ve lipooksijenaz ile yıkılarak Prostaglandinler(PG) ve Lökotrienler(LT) oluşur. Vazojenik ve enflamatuar özellikleri olan bu ürünler, kan akımını azaltır ve membranın geçirgenliğini artırır (Mauter ve ark 2000, Benzel ve ark 2002).

2.2.6.3 Opiat reseptörleri

Opiat reseptör blokajının ilerleyici doku hasarını önlemesi, sekonder yaralanma patofizyolojisinde endojen opioidlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür. Opiatlar SSS'de monoamin ve serotoninerjik nörotransmitter seviyelerini hızla değiştirirler. NMDA reseptör blokörlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar verici etkisini önlemesi ile opioidlerin eksitotoksik aminoasit salınımını artırdığını ve zararlı etkilerini eksitator aminoasitler üzerinden yaptığı gösterilmiştir (Bakshi ve ark 1990).

2.2.6.4 İnflamatuvar cevap

Omuriliğin travmatik yaralanması sonrası enflamasyon cevabı saatler içinde başlar. Bu cevap endotel hasarı, enflamasyon mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferel enflamatuar hücrelerinin göçü ve mikroglialın aktivasyonu şeklinde izlenir. Polimorfonükleer granülositler lezyon bölgesini ilk birkaç saat içerisinde infiltre etmeye başlar. Birinci günde en üst değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. İkinci dalgada yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferel hücreler monosit, makrofaj ve mikroglial gruptur. Metilprednizolon, PAF antagonistleri, siklooksijenaz inhibitörleri ve lipogenazların hepsi etkilerini enflamatuar cevapları kısmen azaltarak ya da tamamen inhibe ederek göstermektedirler (Anderson ve ark 1982, Braughler 1987, Kaptanoglu 2005).

2.2.6.5 Vasküler mekanizmalar ve endotel hasarı

1991 yılında Tator ve Fehlings' in yaptığı deneysel çalışmalarda şiddetli travma sonrası omurilikten 15. dakika, 2. ve 24. saatlerde aldığı kesitlerde hem travma bölgesinde hem de travma bölgesinin kranial ve kaudal bölgelerinde bulunan venüllerde, kapiller yapılarda ve arteriollerde yetersiz kan akımı olduğu tesbit edilmiştir (Tator ve ark 1991). Postravmatik iskeminin kesin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Yaralanmayı oluşturan mekanik travma, vazoaktif aminlerin salınımı, hemoraji, trombozis, trombosit agregasyonu, endotel hasarı ve şişme vazospazmı tetikleyebilir. Bir nörotransmitter ve eksitator aminoasit olan Glutamatın da sekonder vasküler yaralanmada etkisi olduğu düşünülmektedir. Glutamat reseptörlerinin uyarılmaları sonucu sodyum hücre içine toplanarak sitotoksik ödeme yol açar. Ayrıca hücre içi kalsiyum düzeyinin yükselmesi sonucu hücre yıkımı gelişir (Kurihara 1985, Ildan ve ark

1995, Savitz ve ark 1998). Endoteldeki NMDA reseptörlerinin blokajı ile hücre içi kalsiyum blokajı önlenir. Bir NMDA reseptör blokajı olan MK-801 in omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (Tator ve ark 1991, Kaptanoğlu 2005).

2.2.6.6 Apoptozis

Apoptozis ölen hücrenin fagositozu ile sonuçlanan, nükleer kromatinin kondansasyonu, sitoplazmik organellerin paketlenmesi ve plazma membranında değişiklikler ile karakterize bir programlı hücre ölümü çeşididir. Apoptozis intrasellüler proteolitik bir süreç tarafından regüle edilir. Primer olarak sistein proteinlerinden oluşan kaspas ailesinin üyelerinin proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteinini bölerek aktiflemesi ile hücre ölümünün gerçekleştirilmesi esasına dayanır (Barut ve ark 2005). Yakın tarihte yapılan çalışmalar antiapoptotik ajanların nöroprotektif olabileceğini göstermiştir. Li ve arkadaşları akut omurilik yaralanmasından sonra caspase-1 ve caspase-3 inhibisyonunun lezyon boyutunu küçülttüğünü ve nörolojik iyileşmeye neden olduğunu gösterdiler (Li ve ark 2000). Ancak Ozawa ve ark. ratlarda omurilik yaralanması sonrası uygulanan caspase blokerleri gibi apoptotik inhibitörlerin apoptozu önlemediği, histolojik ve klinik düzelmeye neden olmadığını göstermişlerdir (Ozawa ve ark 2002). Omurilik yaralanmalarında apoptoz inhibitörlerinin denenmesi çok yenidir. Omurilik yaralanmasında apoptoz mekanizmasının anlaşılması ve peptid olmayan apoptoz inhibitörlerinin geliştirilmesi ile ileride daha başarılı sonuçlar alınabilir.

2.2.6.7 Serbest radikaller ve lipid peroksidatif mekanizmalar

Demopoulos tarafından 1970 li yıllarda ilk kez ortaya atılan hipoteze göre oksijen serbest radikalleri ve ürünleri ilerleyici doku hasarına neden olurlar(Demopoulos ve ark 1981). Serbest radikaller, dış yörüngelerinde çiftlenmemiş elektron bulunduran kuvvetli reaktif moleküllerdir. Bu elektron başka biyolojik moleküllere kolayca aktarılarak oksidasyona yol açar. Serbest radikaller normal koşullarda mitokondride oluşur ve antioksidan sistemler ile zararlı etkileri engellenir (Liu ve ark 1997). Biyolojik dokularda serbest radikallerin en sık kaynağı moleküler oksijen radikalleridir. Reaktif oksijen türevleri arasında süperoksit radikal (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikal (OH), perhidroksi radikali (HO_2) ve organik peroksi radikal (ROO) sayılabilir. Mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit radikali oluşur. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksiti hidrojen peroksite, katalaz enzimi de hidrojen peroksiti H_2O ve O_2 ye dönüştürür. Ortamda demir (Fe^{+}) gibi katalizörlerin varlığında hidrojen peroksit hidroksil radikaline dönüşür(Kilinç ve ark 2003). Nitrojen dioksit (NO_2) ve Nitrik oksit (NO) de tek sayıda elektron içerirler ve radikal olarak kabul edilirler. NO; süperoksit radikali ile reaksiyona girerek bir ara basamak

ürünü olan peroksinitriti (ONOO-) oluşturur. Peroksinitrit güçlü oksidan özelliği ile birçok biyolojik molekülde hasar meydana getirir. Santral sinir sistemi yüksek konsantrasyonda poliansatüre yağ asidi içerdiği için serbest radikal reaksiyonları sonucu oluşan lipid peroksidasyonuna oldukça duyarlı bir dokudur (Troystman 1991). Lipit peroksidasyonu zincirleme bir reaksiyon olup başlama, ilerleme ve sonlanma olarak irdelenebilecek üç aşamada gerçekleşir (Southorn 1988, Cheeseman ve ark 1993).

Peroksidasyonun başlaması: Bir serbest radikalın çoklu doymamış yağ asidinin metilen grubundan hidrojen atomu koparmasıyla başlar. Bu hidrojen geride eşleşmemiş elektron taşıyan bir lipit radikali bırakır. Oluşan bu lipit radikal dayanıksız bir bileşik olup, molekül içi çift bağ aktarılması sonucunda dien konjugatlarına dönüşür. Bu konjugat oksijen ile birleşmeye eğilimlidir. Sonuçta oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikali oluşturur (Sevanian 1985).

Peroksidasyonun ilerlemesi: Peroksit radikalleri birbirleriyle birleşebilir ya da membran proteinlerine saldırabilir. Ancak zincirleme reaksiyonu başlatan asıl mekanizma peroksit radikalın membrandaki komşu yağ zincirinden bir hidrojen atomu çıkartmak suretiyle lipit hidroperoksidine dönüşmesidir. Bu radikaller reaksiyonun ilerlemesine neden olur .

Peroksidasyonun sonlanması: İki peroksit radikali (ya da bir lipit peroksit radikali ile bir lipit radikali ya da iki lipit radikali bir araya gelirse; eşleşmemiş elektron kalmayacağından zincirsel reaksiyon lipit peroksitlerin etan, pentan gibi hidrokarbon gazları ve ROH, ROOH, RCOH ve RCOOH gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitlerine dönüşmesiyle sonlanmış olur (Southorn 1988, Cheeseman ve ark 1993).

2.2.7 Serbest radikallerin hücresel etkileri

Serbest radikaller hücredeki lipid, deoksiribonükleik asit (DNA), hücre membranı ve proteinlere saldırarak onlara zarar verirler.

2.2.7.1 Membran Lipidleri ve Lipid Peroksidasyonu

Hücre membranındaki yağ asitleri, fosfolipidler, glikolipidler ve steroller serbest radikallerin en önemli hedefleridirler. Bu radikaller hücre membranında bulunan proteinler ve lipidleri oksidasyona uğratarak membran akışkanlığını ve iyonik gradiyenti bozarlar. Bu oksidasyon tepkimesi hidroksil, hidroperoksil ve tekil oksijen radikalleri tarafından gerçekleştirilir (Ayvaz 2005).

2.2.7.2 Malonildialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonun en belirgin ürünü olan malondialdehit (MDA) aynı zamanda lipid peroksidasyonunu belirlemede kullanılır. MDA oluşum yerinden kolayca difüze olur.

Membran yapısındaki lipid ve proteinlere çapraz bağlanarak membranın kendine özgü özelliklerin değişmesine yol açar ve permeabiliteyi bozmaktadır (Ayvaz 2005).

2.2.7.3 Nükleik Asitler ve DNA

Serbest radikallerle nükleotidlerin etkileşmesi sonucu DNA zincirinde kırılma ve mutasyonlar oluşabilir. DNA hasarının büyüklüğü serbest radikallerin polimeraz enzimi ile reaksiyona girerek DNA'nın onarılmasını engellemesi ile ilişkilidir (Ayvaz 2005).

2.2.7.4 Proteinler

Serbest radikaller protein yapısındaki aminoasitlerle reaksiyona girerek sülfidril gruplarının kaybına ve karbonil gruplarının oluşmasına neden olurlar (Kehrer 1993).

2.2.7.5 Karbonhidratlar

Hidroksil radikali glukoz, mannitol ve deoksi şekerlerle direkt olarak reaksiyona girer. Monosakkaritlerin oksidasyonu ile peroksitler, hidrojen peroksit ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler DNA, Ribonükleik asit (RNA) ve proteinlere bağlanabilme ve çapraz bağlar yapma özelliğinden dolayı hücrede zararlı etkilere yol açarlar (Ayvaz 2005).

2.2.8 Omurilik yaralanmasında lezyon bölgesindeki patolojik değişiklikler

2.2.8.1 Akut Faz (Hemorajik nekroz)

Yaralanmadan sonra ilk olarak omurilik gri cevher mikrovaskülaritesinde değişiklikler meydana gelir. Santral kanal etrafı ve ön boynuzdaki multifokal peteşial hemorajiler saatler içinde radial olarak yayılırlar. Mikrotrombüslerin gözlenmesi ve kanın ekstrasvaze olması ilk 24 saatte belirgin hale gelir. Yaralanmadan dakikalar sonra endotel bileşikleri açılmaya başlar. Santral peteşiler genişledikçe glial reaksiyon ve nöronal dejenerasyon belirginleşir. Gri cevherdeki nekrotik değişiklikler ilk saatlerde artar, 8. saatten sonra beyaz cevhere yayılım gösterir. Hücre içi kalsiyum artışı sonucu nükleazlar, proteazlar, kinazlar, lipazlar ve NO sentetazın aktivasyonu ile hücre hasarı artar ve hücre ölümü nekroz yada apoptoz şeklinde gerçekleşir (Iizuka ve ark 1986, Tator ve ark 1991, Kaptanoğlu 2005).

2.2.8.2 Subakut Faz

Aktive olmuş mikroglia ve astrositler reaktif gliosis oluştururlar. Mikroglia, nöronal dejenerasyon varlığında, kimyasal uyarılar altında sitotoksik makrofajlara dönüşür. Bu hücreler lezyon merkezinde çalışırlar ve nadiren yayılırlar. Yaralanmaya cevap olarak astrositler hipertrofi ve proliferasyona uğrar. Reaktif astrositler birinci haftada lezyon yanında birikmeye başlar. Astrositik cevap 14. günde en fazla iken, 28. güne kadar görülebilir. Yaralanmış kan-omurilik bariyerine bağlı ödem formasyonu, yaralanmadan sonra erken saatlerde başlar, radial ve longitudinal olarak ilerler, ilk 24 saatte belirginleşir. 8. güne

kadar süren ödem hidrostatik veya filtrasyona bağlıdır. Ödem, pia elastisitesi olmadığı için vasküler rezistansın artmasına ve dolayısı ile omurilik kan akımının azalmasına neden olur. Enflamatuar hücrelerin yaralı omuriliğe göçünde iki dalga vardır. Birincisinde, polimorfonükleer granulositler yaralanmadan saatler sonra lezyon bölgesine gelerek sitotoksik etkileri ile nöronofaji yapabilirler. 24 saatte maksimum düzeye ulaşırlar, 3. günde kaybolurlar. İkinci dalgada, lezyon bölgesine monositler gelir, hücre debrisini fagosite ederler. Schwann hücreleri, meningeal hücreler ve fibroblastlar lezyon bölgesine göç eden diğer periferik hücrelerdir (Iizuka ve ark 1986, Tator ve ark 1991, Kaptanoğlu 2005).

2.2.8.3 Geç Faz

Yaralanmadan haftalar ve aylar sonrası santral kanal ile birleşmiş beyin omurilik sıvısı ile dolu kistik kaviterler gelişir. Omurilikte yara iyileşmesi kistik kavite oluşması ile sonuçlanır. Kist gelişmesinde 3 evre vardır. Nekroz evresi: 1. gün başlar travmadan sonraki 1.-2. haftaya kadar sürer; Tamir evresi: travmadan sonraki 2.-8. haftalar arasındadır; Stabilizasyon evresi: 8. haftadan 1. yıla kadar değişir. Travmadan sonraki 3. günde parankimatöz hemorajiler, vasküler trombozis, ödem, aksonal segmentasyon ve enflamatuar infiltrasyon ile birlikte mikrokistik kaviterler görülmeye başlar. Travmadan 4-5 hafta sonra trabeküler sistem içindeki kistlerin sınırları belirginleşir. Geç lezyonun önemli bir komponenti de miyelin kaybıdır. Demiyelinizasyon ilk 24. saatte başlar, 2. haftada maksimum seviyesine ulaşır. Remiyelinizasyon 3. haftada başlar. Remiyelinizasyonda oligodentrositlerin rolü olabileceği gibi, lezyon sahasına dorsal köklerin giriş bölgesi “dorsal root entry zone” bölgesinden Schwann hücrelerinin göçü, bu hücrelerinde remiyelinizasyonda rol aldıklarını düşündürmektedir (Iizuka ve ark 1986, Tator ve ark 1991, Kaptanoğlu 2005).

2.3 Karvedilol

Karvedilol seçici olmayan beta-adrenerjik ve α_1 -reseptör antagonisti özelliği olan, kalp yetersizliği (KY) ve miyokard infarktüsü (MI) sonrası tedavide klinik etkinliği kanıtlanmış bir ilaçtır (Dargie 2001, Poole ve ark 2003). Diğer beta-bloker ilaçlarla karşılaştırıldığında daha olumlu sonuçlar elde edilmesine yardımcı olacak özellikleri de mevcuttur (Giugliano ve ark 1997, Keating ve ark 2003). Karvedilolün etkinliği, sadece KY’de değil, aynı zamanda koroner arter hastalığı, inme, böbrek yetersizliği, diabetes mellitus ve atriyal fibrilasyon (AF) gibi KY ile sıklıkla birlikte bulunan hastalıklarda da kanıtlanmıştır.

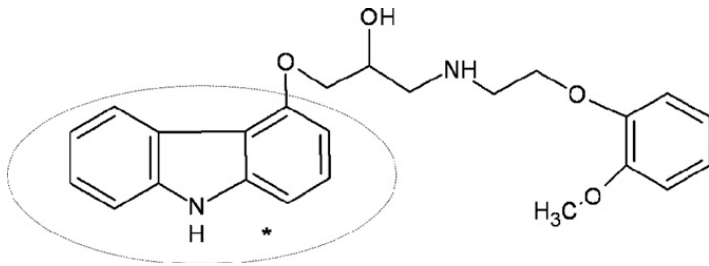
2.3.1 Farmakokinetik özellikleri

Karvedilol ağız yoluyla alındıktan sonra hızla emilir, bir-iki saat içinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşılır (Dunn ve ark 1997). Yemekler, karvedilolün emilme hızını biraz

etkiler, ancak emilme miktarına etkisi yoktur. Karvedilol hızla ve büyük oranda metabolize edilir. Karvedilol başlıca karaciğer tarafından metabolize edilir. Bu metabolitlerin yaklaşık %60'ı safraya salınır ve feçesle atılır. Karaciğer hastalığı olan bireylerde karvedilolün farmakokinetiği belirgin derecede değişir.

2.3.2 Farmakodinamik özellikleri

Karvedilol, α_1 , β_1 ve β_2 adrenerjik reseptör blokajı özelliği olan bir adrenerjik reseptör antagonistidir. Karvedilolün organ koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Karvedilol etkili bir antioksidandır ve reaktif oksijen radikallerini ortadan kaldırır. Karvedilolün hem R(+), hem S(-) izomerlerinin α_1 adrenerjik reseptör blokajı ve antioksidan özellikleri vardır. Karvedilolün insan damar düz kas hücreleri üzerine antiproliferatif etkisi vardır. Yürütülen klinik çalışmalarda kronik karvedilol tedavisi süresince çeşitli parametrelerle ölçülerek oksidatif strese bir azalma olduğu gösterilmiştir. β -adrenerjik reseptör blokaj özelliği, β_1 ve β_2 adrenoseptörleri için non-selektif olup karvedilolün S(-) enantiomeriyle ilişkilidir. Karvedilolün intrinsik sempatomimetik aktivitesi yoktur ve propranolol gibi membranı stabilize edici özelliklere sahiptir. Karvedilol, renin salıverilmesini azaltan β -blokör etkisiyle renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini baskılar; dolayısıyla sıvı retansiyonu nadiren görülür. Karvedilol, selektif α_1 blokajı etkisine bağlı olarak periferik damar direncini azaltır. Karvedilol bir α_1 adreno reseptör agonisti olan fenilefrinin neden olduğu kan basıncındaki artışı azaltırken anjiyotensin II' nin neden olduğu artışı azaltmaz. Karvedilolün lipid profili üzerine olumsuz etkisi yoktur. Yüksek yoğunluklu lipoproteinlerle düşük yoğunluklu lipoproteinler arasındaki oran (HDL/LDL) korunur.



Şekil 1. Karvedilolün kimyasal formülü (* işaretli bölüm antioksidan aktiviteden sorumlu karbazol parçası)

2.3.3 Endikasyonları

2.3.3.1 Hipertansiyon

Karvedilol, öncelikle esansiyel hipertansiyon tedavisinde endikedir. Tek başına ya da diğer antihipertansif ajanlarla (kalsiyum kanal blokörleri ve diuretikler; özellikle tiazid diuretikleri) birlikte kullanılabilir.

2.3.3.2 Koroner kalp hastalığı

Karvedilolün, koroner kalp hastalığında klinik etkinliği kanıtlanmıştır. Sessiz miyokard iskemisi ve unstabil (kararsız) anjinası olan hastalarda güvenilirliği ve etkinliği gösterilmiştir.

2.3.3.3 Kronik kalp yetmezliği

Karvedilol, iskemik ya da iskemik kökenli olmayan stabil, hafif, orta ve ağır kronik kalp yetmezliği tedavisinde endikedir. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE) inhibitörleri, diüretikler ve opsiyonel olarak dijitallerle (standart tedavi) birlikte karvedilol; Kronik kalp yetmezliği tedavisinde morbidite ve mortaliteyi azaltırken aynı zamanda hastalık ilerleyişini de geciktirir. Karvedilol, standart terapiye ek olarak kullanılabilen gibi dijital, hidralazin ve nitrat tedavisi gormeyen hastalarda da kullanılabilir.

2.3.4 Kontrendikasyonları

Karvedilol, aşağıdaki hastalarda kullanılmamalıdır:

Karvedilol veya ilacın içerdiği diğer yardımcı bileşenlere aşırı duyarlılık

Stabil olmayan/dekompanse kalp yetmezliği

Klinik olarak belirgin karaciğer disfonksiyonu

Diğer β -blokorlerle olduğu gibi, karvedilol şu hastalarda kullanılmamalıdır:

2. ve 3. derece AV blok (kalıcı pacemaker yerleştirilmediyse)

Ağır bradikardi (< 50 atım/dakika)

Hasta sinus sendromu (sino-atriyal blok dahil)

Ağır hipotansiyon (sistolik kan basıncı < 85 mmHg)

Kardiyojenik şok

Bronkospazm ya da astım öyküsü olan hastalar

2.4 Gereç ve Yöntem

Çalışmamız için fakülte etik kurul onayı alındı. Bu çalışmanın cerrahi işlem bölümü Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yapıldı; 3 grupta, 8'er adet olmak üzere toplam 24 adet Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Her grupta kullanılan sıçanların ağırlıkları yaklaşık 300 gramdı.

Grup I (Kontrol grubu, n:8 sıçan) Sadece laminektomi yapıldı.

Grup II (Tedavi grubu, n:8 sıçan) Cerrahi işlemden 30 dakika önce 2 mg/kg oral karvedilol izotonik sodyum klorid solüsyonu (pH 2) içinde çözünmüş olarak gavaj yoluyla verildi. Laminektomi yapıldı, omurilik yaralanması oluşturuldu.

Grup III(Travma grubu, n:8 sıçan) Laminektomi yapıldı omurilik yaralanması oluşturuldu.

2.4.1 Anestezi

Cerrahi işlem yapılacak olan tüm gruplardaki sıçanlara genel anestezi amaçlı intraperitoneal 10 mg/kg xylazin hidroklorür (Rompun,Bayer, İstanbul-Türkiye) ve 60 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbası, İstanbul-Türkiye) verilerek sedasyon sağlandı.

2.4.2 Cerrahi işlem

Sıçanlar tespit tahtalarına prone pozisyonunda yerleştirildi. Torakal bölgesi önce povidin iyodin (Batticon st solüsyon Adeka-Samsun) ile sterilize edildikten sonra tıraşlandı. Cilt tıraşından sonra tekrar povidin iyodin ile sterilizasyon sağlandı. İnterskapular mesafe referans alınarak T5-T12 seviyesinde 2 cm'lik insizyonla cilt, cilt altı geçilip paravertebral adeleler sıyrılıp, laminalar ortaya kondu. T 7-8-9 laminektomi yapıldıktan sonra, modifiye Allen ağırlık düşürme modeli kullanılarak standart omurilik travması oluşturuldu. Hemostazı takiben paravertebral adeleler ve cilt anatomik katlarına uygun olarak 3/0 vicryl ile primer suture edildi. Sıçanlar normal oda ısısında, normal olarak uyandırıldı.

2.4.3 Omurilik travması oluşturulması

Çalışmamızda, T 7-8-9 total laminektomi yapılan hayvanların dura materleri sağlam olarak ortaya kondu. 0,5 cm çaplı, 10 cm uzunluğunda boru kullanılarak, 10 cm yükseklikten 5 gram ağırlığında ağırlık düşürülerek standard omurilik yaralanması oluşturuldu.

2.4.4 İlaç uygulaması

Çalışmamızda tedavi grubunda Karvedilol Kinetra , Sanovel(İstanbul) kullanıldı.

Grup I'e sadece laminektomi yapıldı

Grup II ve grup III'e laminektomi ve ağırlık düşürülerek travma oluşturuldu.

Grup II' ye cerrahi işlemden 30 dakika önce 2 mg/kg oral karvedilol izotonik sodyum klorid solüsyonu (pH 2) içinde çözülmüş olarak gavaj yoluyla verildi

Sıçanlar uyandığında nörolojik motor muayeneleri yapıldı. Omurilik travması oluşturulan 16 sıçanın paraplejik olduğu görüldü. Sadece laminektomi yapılan, kontrol grubundaki 8 sıçanın motor kuvvetlerinin tam olduğu gözlemlendi. Sıçanlar motor fonksiyonları değerlendirilmek amacı ile her biri ayrı kafeste olacak şekilde kafeslerine kondu.Sıçanlar uygun ortam ısısının sağlandığı her biri ayrı kafeste olmak üzere standart fare yemi ile beslendi. Sıçanların motor fonksiyonları Modifiye Tarlov Skorlaması kullanılarak spinal kord yaralanması sonrası 1. ve 24. saatlerde değerlendirildi.

2.4.5 Fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi

2.4.5.1 Klinik motor muayene: Çalışmamızda sıçanların fonksiyonel iyileşmelerini

değerlendirmek için motor muayeneleri yapıldı. Sıçanların motor fonksiyonları cerrahi işlem sonrası 1. ve 24. saatlerde Modifiye Tarlov skorlaması kriterleri ile değerlendirildi .

Modifiye Tarlov skalası

Derece Motor muayene

- | | |
|---|---|
| 0 | Arka ekstremelerde tam paraliz, arka ekstremelerde hareket yok, ağırlık taşıma yok |
| 1 | Farkedilebilir 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 | Normal yürüyüş |

2.4.6 Histopatolojik inceleme

Doku örnekleri %10 paraformaldehit içerisinde fiske edildi ve ototeknikon ile hazırlanıp parafin bloklar hazırlandı. Mikrotom ile 5mm'lik kesitler alınarak hemotoksilen eozin ile boyandı. Hematoksilen eozin ile boyanan kesitler Olympus B51 (Olimpus Co. Japan) mikroskobu ile incelendi. Dokuda apoptoz incelemeleri için Tunel (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) hazır kiti (Fragel DNA fragmentation kit, Calbiochem, Darmstadt, Germany) kullanıldı. Bu metodla 4 mikron kalınlıkta kesitler alınarak parafin bloklara yerleştirildi. Daha sonra deparafinize edildi ve rehidrate edildi. Proteinkinaz K ve endojen peroksidaz %10'luk H₂O₂ ile inaktive edildi. DNA işaretleme için Tdt işaretleme reaksiyon karışımı ve Tdt enzim karışımı kullanıldı. Reaksiyonun tespit edilmesi için H₂O₂/üre karışımı içinde DAB solusyonu kullanıldı. %3'lük Metilen yeşili kontur boyama için kullanıldı. Örnekler dehidrate edildi ve xyelen ile kaplandı. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling- pozitif kahverengi boyanan hücreler üretici tarafından sağlanan kontrol ile karşılaştırılıp apoptotik kabul edildi.

2.4.7 Biyokimyasal incelemeler

Deney gününe kadar -20°C'de saklanan doku örnekleri, 1 mL soğuk fosfat tamponu (100 mM KH₂PO₄- K₂HPO₄, pH: 7.4) içinde homojenizatör (İka T10 basic ultra-turrax) kullanılarak homojenize edildi. Homojenatlar 13000 x g ve +4°C'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra, elde edilen berrak süpernatantlarda biyokimyasal analizler gerçekleştirildi.

2.4.7.1 Doku MDA düzeyinin ölçülmesi

Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyleri, Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi ile belirlendi. MDA ile thiobarbitürik asit reaksiyonunun meydana getirdiği renk oluşumu spektrofotometrik ölçümle değerlendirildi. Bu amaçla, 100 gr/l'lik trikloroasetik asit solüsyonundan 2.5 ml, her santrifüj tüpünde 0.5 ml seruma (süpernatant) eklenerek 15 dakika süreyle kaynayan su banyosuna tabi tutuldu. Musluk suyu altında soğutulan tüpler 1000 g hızda 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantın 2 ml'si, 6.7 g/l'lik thiobarbitürik solüsyonunun 1 ml'sine eklenerek 15 dakika kaynayan su banyosunda tutuldu. Bu solüsyon musluk suyunda soğutulduktan sonra absorbansı 532 nm'lik spektrofotometre ile ölçüldü. Malondialdehid düzeyi, MDA-thiobarbitürik asit kompleksinin emilim katsayısı (emilim katsayısı: $1.56 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$) ile hesaplandı. Sonuçlar, $\mu\text{mol/g}$ protein olarak ifade edildi.

2.4.7.2 Myeloperoksidaz Aktivite Tayini

H_2O_2 varlığında MPO ile o-dianisidine'nin oksidasyonu sonucu oluşan sarımsı-turuncu renkli kompleksin 460 nm dalga boyunda absorbansının kinetik olarak ölçümü esasına dayanır. Ölçüm reaktifi; 0.167 mg/mL o-dianisidine dihydrochloride, %0.0005 H_2O_2 (%30'luk) içeren fosfat tamponu (50 mM, pH: 6.0) hazırlandı. 15 μl numune, 285 μl ölçüm reaktifi ile karıştırıldı. Kör okuması ise 15 μl distile su ile yapıldı. Mikropileyte pipetlemeler yapıldıktan sonra ELİZA mikropileyt okuyucusunda 460 nm dalga boyunda köre karşı 5 dakika boyunca absorbans artışı ölçüldü. Lineer aktivite artışının gözlemlendiği reaksiyon grafiğinde hesaplamalar yapıldı. 1 ünite MPO aktivitesi 25°C 'de 1 μmol H_2O_2 'yi parçalayan enzim olarak belirlendi. U/L olarak ölçülen MPO değerleri g/mL protein değerlerine bölünerek spesifik MPO doku aktivitesi hesaplandı. Sonuçlar, U/g protein olarak ifade edildi.

2.4.7.3 Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivitesi ölçümü

Kolorimetrik ölçüm yöntemi ile çalışılır. Ksantinin ksantin oksidaz ile yıkımı sonucu süperoksit radikali oluşmaktadır. Bu oluşan süperoksit radikali de serumda bulunan SOD enzimi ile H_2O_2 'e dönüştürülür. SOD bu reaksiyonu gerçekleştirirken tetrazolyum tuzunun indirgenmesini inhibe etmektedir. Bir ünite SOD (U/ml) 1 mol tetrazolyum tuzunun birim zamanda indirgenmesini %50 inhibe eden enzim aktivitesi olarak ifade edilir. SOD düzeyleri Cayman Chemical Assay kit (kat no: 706002) kullanılarak ölçüldü. Okuma, Bio-Tek ELx-800 ELiZA cihazında yapıldı. Sonuçlar, U/g protein olarak ifade edildi.

2.4.7.4 Glutatyon Ölçümü

Glutatyonun sülfidril grupları ile DTNB (5,5'-ditio-bis-2-(nitrobenzoik asit)) arasındaki reaksiyon sonucu sarı renkli 5-tio-2- nitrobenzoik asit oluşmaktadır. Reaksiyonun 25.

dakikasında 410 nm de oluşan absorbans kullanılır. Standart eğri çizilerek total glutatyon miktarı $\mu\text{mol/L}$ olarak hesaplandı. Total glutatyon düzeyleri Cayman Chemical Assay kit (kat no: 703002) kullanılarak ölçüldü. Okuma, Bio-Tek ELx-800 ELiZA cihazında yapıldı. Sonuçlar, $\mu\text{mol/g}$ protein olarak ifade edildi.

Örneklerdeki protein miktarı BCA protein assay (Boster Biological Technology, kat no: AR0146) kit ile tayin edildi. Standard olarak sığır serum albumini kullanıldı. Homojenatlardaki protein miktarı g/mL olarak hesaplandı (Bradley ve ark 1982, Draper ve ark 1990).

2.4.8 İstatistiksel Analiz

İstatistik analiz SPSS istatistik programının 15 versiyonu kullanılarak yapıldı.

ve sonuçlar ortalama \pm standart sapma biçiminde verildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

2.5.Bulgular

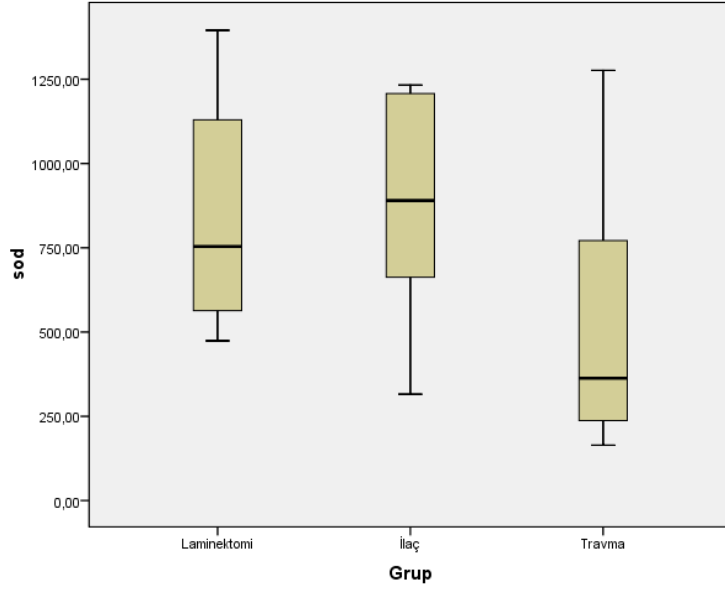
2.5.1 SOD değerleri

Tüm gruplarda doku SOD değerlerine bakıldı. Tablo 4 te doku SOD düzeyleri verilmiştir.

Tablo 4. SOD DEĞERLERİ (u/g protein)

DENEKLER	KONTROL GRUBU	TEDAVİ GRUBU	TRAVMA GRUBU
1	890,41	213,42	473,87
2	1233,01	164,31	1351,43
3	315,88	288,83	535,36
4	760,15	678,44	907,92
5	1226,99	863,95	1395,3
6	1188,84	1276,66	591,91
7	565,02	260,69	899,12
8	889,93	436,78	608,77

Grafik 1. SOD değerlerinin gruplara göre dağılımı



SOD aktivitesinde Grafik 1' de grldği gibi tedavi grubunda artış olmasına rağmen bu artış istatistiki olarak anlamlı değildi (p:0.088).

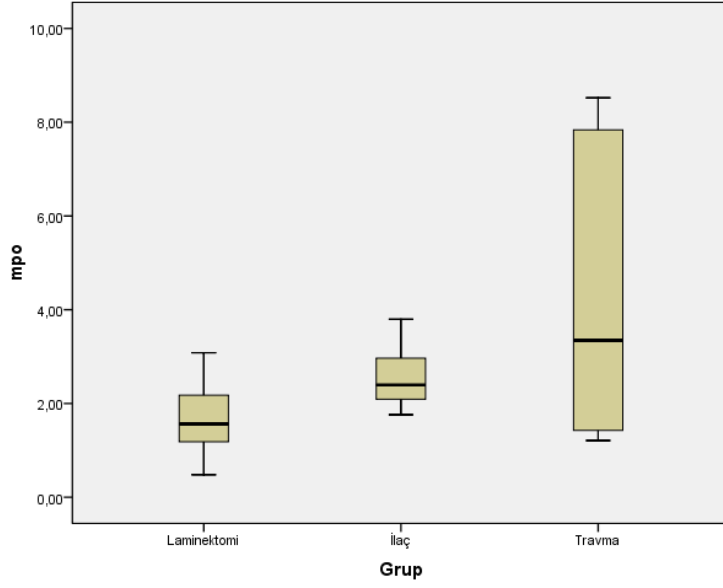
2.5.2 MPO değerleri

Tüm gruplarda doku MPO değerlerine bakıldı. Tablo 5 te doku MPO düzeyleri verilmiştir.

Tablo 5. MPO DEğERLERİ (u/g protein)

DENEKLER	KONTROL GRUBU	TEDAVİ GRUBU	TRAVMA GRUBU
1	3.44	1.25	0.92
2	1.95	1.95	3.08
3	3.8	1.6	2.64
4	2.49	8.52	1.49
5	2.44	7.43	0.48
6	1.76	1.21	1.71
7	2.23	8.24	1.64
8	2.35	4.74	1.45

Grafik 2. MPO değerlerinin gruplara göre dağılımı



MPO düzeyleri grafik 2' de grldği gibi tedavi grubunda travma grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı değildi (p:0.114).

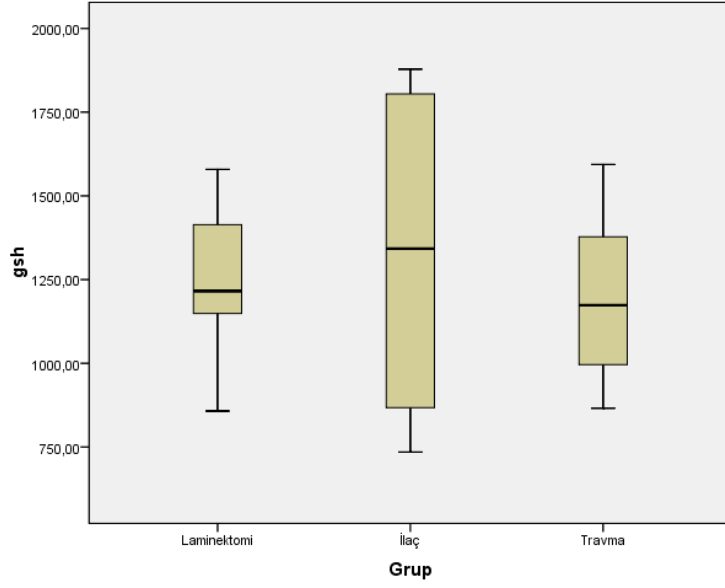
2.5.3 GSH değerleri

Tüm gruplarda doku GSH değerlerine bakıldı. Tablo 6 da doku GSH düzeyleri verilmiştir.

Tablo 6. GSH DEğERLERİ (micromol/g protein)

DENEKLER	KONTROL GRUBU	TEDAVİ GRUBU	TRAVMA GRUBU
1	734.92	1281.87	1178.66
2	1058.83	1042.2	1193.05
3	869.34	865.76	857.44
4	1782.96	950.1	1238.37
5	1825.6	1593.84	1310.58
6	1878.27	1275.44	1118.9
7	865.93	1474.12	1517.8
8	1626.03	1071.67	1579.21

Grafik 3. GSH değerlerinin gruplara göre dağılımı



GSH düzeyleri grafik 3' de görüldüğü gibi tedavi grubunda travma grubuna göre yüksek olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı değildi (p:0.833).

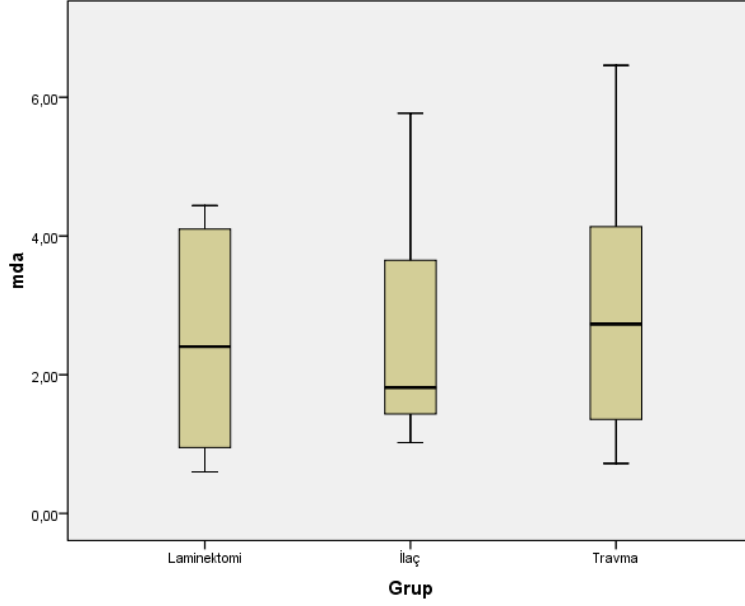
2.5.4 MDA değerleri

Tüm gruplarda doku MDA değerlerine bakıldı. Tablo 7 de doku MDA düzeyleri verilmiştir.

Tablo 7. MDA DEğERLERİ (micromol/g protein)

DENEKLER	KONTROL GRUBU	TEDAVİ GRUBU	TRAVMA GRUBU
1	5.77	0.72	0.7
2	2.03	3.83	2.5
3	1.9	2.53	1.2
4	1.73	4.44	4.26
5	1.55	1.99	0.6
6	1.32	6.46	2.31
7	1.02	0.72	4.44
8	5.27	2.93	3.94

Grafik 4. MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı



MDA düzeyleri grafik 4' de görüldüğü gibi tedavi grubunda travma grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı değildi (p:0.810).

2.5.5 Nörolojik muayene skorları

Tüm deneklerin cerrahi işlem sonrası 1. saat ve 24. saat nörolojik muayeneleri modifiye tarlov skorlaması kullanılarak kaydedildi.

Tablo 8. Kontrol grubuna ait nörolojik muayene motor skorları

DENEKLER KONTROL GRUBU	1. SAAT MOTOR SKOR	24. SAAT MOTOR SKOR
1	4	4
2	4	4
3	4	4
4	4	4
5	4	4
6	4	4
7	4	4
8	4	4

Tablo 9. Tedavi grubuna ait nörolojik muayene motor skorları

DENEKLER TEDAVİ GRUBU	1. SAAT MOTOR SKOR	24. SAAT MOTOR SKOR
1	0	0
2	0	1
3	1	1
4	0	2
5	1	2
6	0	1
7	1	1
8	1	2

Tablo 10. Travma grubuna ait nörolojik muayene motor skorları

DENEKLER TRAVMA GRUBU	1. SAAT MOTOR SKOR	24. SAAT MOTOR SKOR
1	0	0
2	0	0
3	1	1
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0

Tablo 11. MOTOR SKORLARI ORTALAMASI

	1. SAAT MOTOR SKOR ORTALAMA+SD	24. SAAT MOTOR SKOR ORTALAMA+SD
KONTROL GRUBU	4 ±0	4±0
TEDAVİ GRUBU	0.5±0.53452	1.25±0.70711
TRAVMA GRUBU	0.125±0.35355	0.125±0.35355

SD:standart sapma

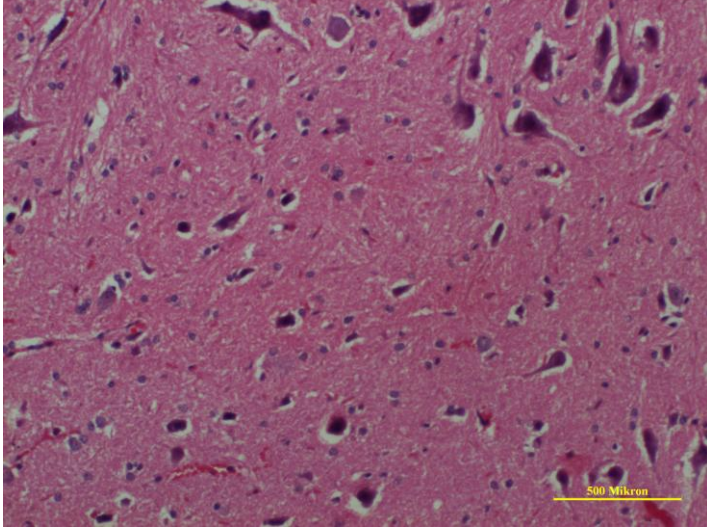
Modifiye Tarlov skorlamasına göre yapılan 1. saat motor muayene skorlarında tedavi ve travma grupları arasında fark olmadığı (p:0.234) ancak 24. saat motor muayene skorlarında tedavi grubunda travma grubuna göre iyileşme yönünde anlamlı bir fark olduğu (p:0.005) tespit edildi. Aynı zamanda tedavi grubunda 1. saat ile 24. saat motor muayene bulgularında da iyileşme yönünde anlamlı fark olduğu tespit edildi (p:0.034).

2.5.6 Histopatolojik bulgular

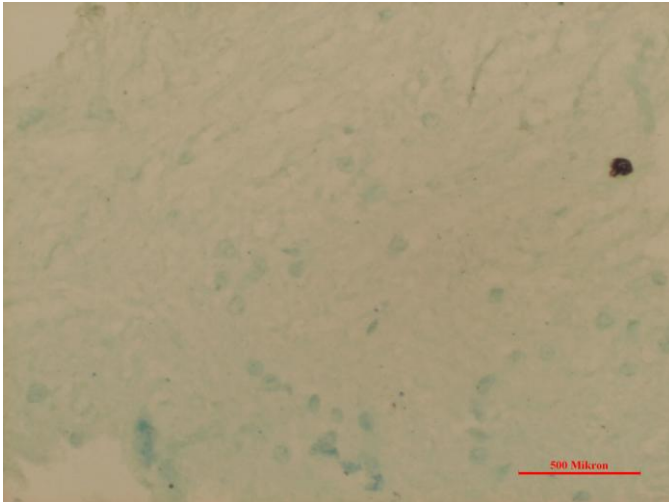
2.5.6.1 Kontrol grubu

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

Resim 1. Kontrol grubuna ait hemotoksilen&eoziin boyalı preparat



Resim 2. Kontrol grubuna ait apoptozis(TUNEL metot) preparatları

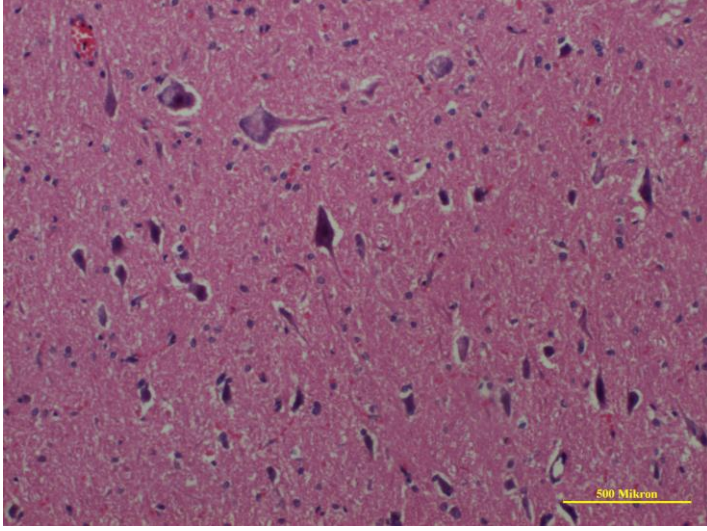


2.5.6.2 Tedavi Grubu

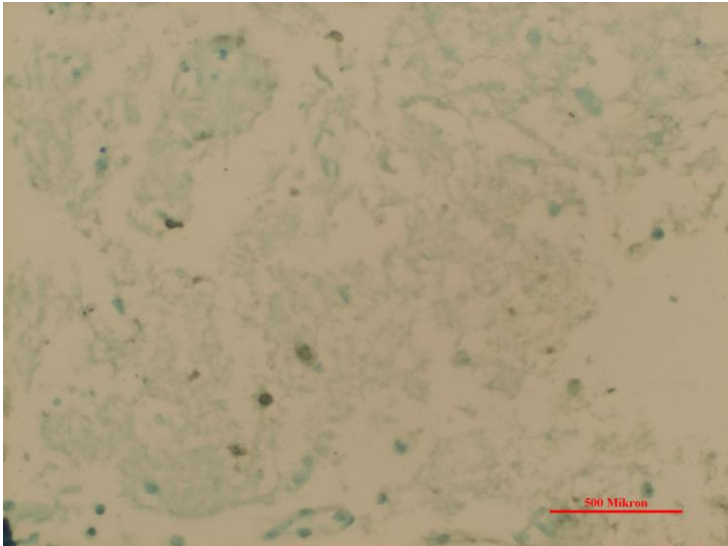
Bu gruba ait medulla spinalis kesitlerinde substantia grisea'daki motor nöronların şekil, uzantı, sitoplazmik özellikleri yönünden travma grubuna göre daha iyi olduğu dikkati çekerken, normal nöronların yanı sıra aynı alan içinde daha atrofik görünümlü, üçgen şekilli

ve eozinofilik sitoplazmalı travmatik nöronların varlığı da saptandı. Substantia alba kontrol grubuna yakın özellikteydi.

Resim 3. Tedavi grubuna ait hemotoksilen&eozin boyalı preparat



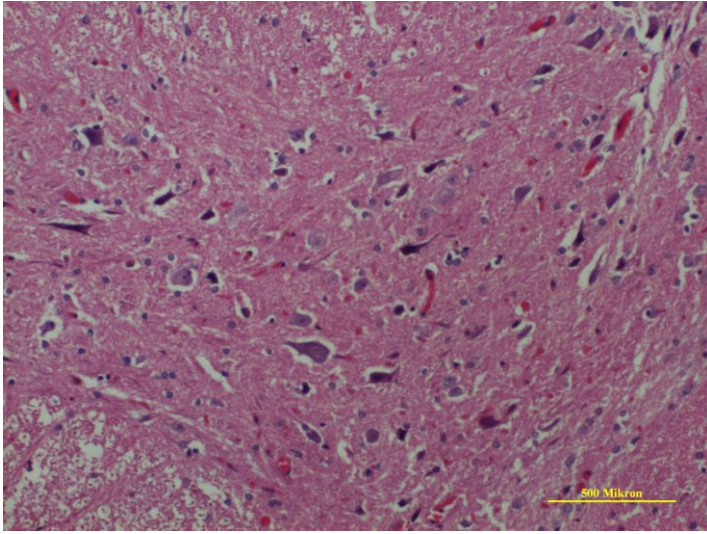
Resim 4. Tedavi grubuna ait apoptozis(TUNEL metot) preparatları



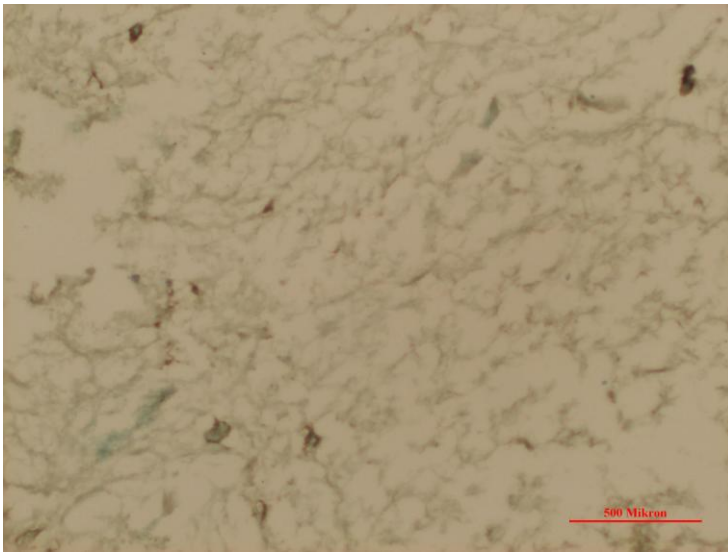
2.5.6.3 Travma Grubu

Bu gruba ait medulla spinalis kesitlerinde, her iki tabakada da hasarın olduğu görüldü. Substantia grisea'ya ait ön boynuz motor nöronlarının kontrol grubundaki motor nöronlara göre daha küçük, eozinofilik stoplazmalı, çok kutuplu şeklini kaybedip üçgen şekilli bir yapı edinmiş ve Niss cisimciklerinin ayırt edilemediği travmatik nöronlar şeklinde olduğu dikkati çekti. Substantia alba'ya ait miyelinli aksonların dejenerasyona giderek, bu tabakada çok sayıda vakuol yapısının oluştuğu saptandı. Bu grupta dejenere glial hücre, dejenere nöron sayısı ve beyaz ve gri cevher apoptotik hücre sayısının kontrol ve tedavi gruplarına göre fazla sayıda olduğu görüldü.

Resim 5. Travma grubuna ait hemotoksilen&eoizin boyalı preparat



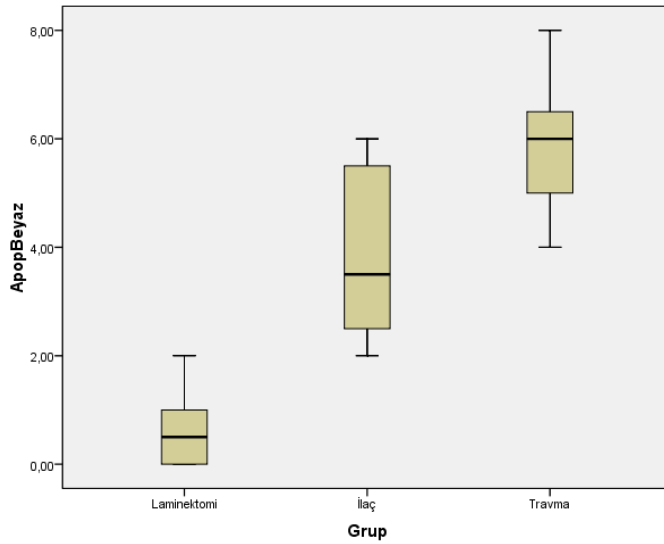
Resim 6. Travma grubuna ait apoptozis(TUNEL metot) preparatları



Tablo 12. Deneklere ait histopatolojik bulgular (ortalama + standart sapma)

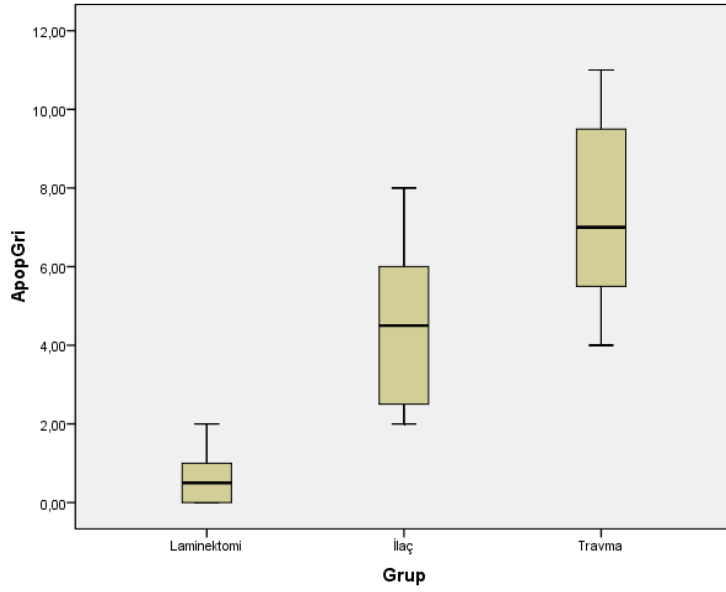
	APOPİTOZİS GRİ CEVHER	APOPİTOZİS BEYAZ CEVHER	NÖRON SAYISI	DEJENERE NÖRON SAYISI	GLİAL HÜCRE SAYISI	DEJENERE GLİAL HÜCRE SAYISI
KONTROL GRUBU	0,62500±,2	0,6250±0,2	21,87501±,4	1,0000±0,2	21,2500±3,8	0,7500±0,8
TEDAVİ GRUBU	4,5000±0,8	3,8750±0,5	18,75001±,0	2,00000±,2	18,25002±,4	2,25000±0,7
TRAVMA GRUBU	7,3750±0,8	5,8750±0,4	14,6250±0,8	3,25000±,3	14,6250±2,6	3,7500±1,4

Grafik 5. Beyaz cevherde apopitozis düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması



Beyaz cevherde apopitozis düzeyleri incelendiğinde tedavi grubunda travma grubuna göre apopitozisin azaldığı ancak istatistiksel olarak fark oluşturmadığı görüldü. ($p>0.05$) görüldü. Kontrol grubunda hem tedavi grubuna göre hem de travma grubuna göre apopitozisin anlamlı ölçüde ($p<0.05$) düşük olduğu saptandı.

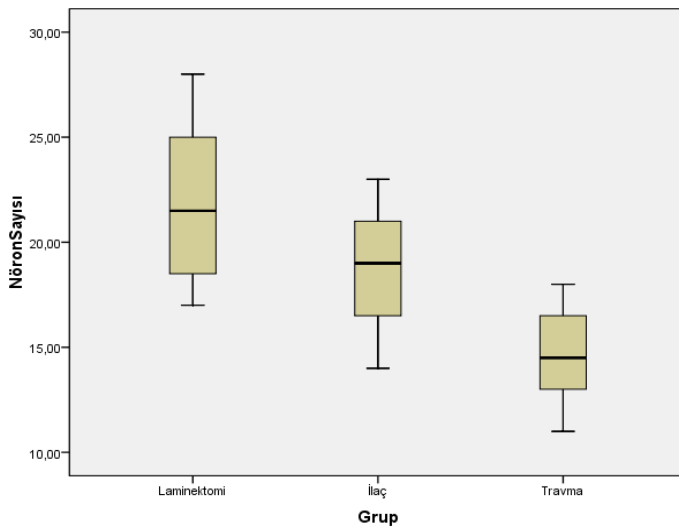
Grafik 6. Gri cevherde apopitozis düzeyinin gruplara göre karşılaştırılması



Gri cevherde apopitozis düzeyleri incelendiğinde tedavi grubunda travma grubuna göre apopitozisin azaldığı ancak istatistiksel fark oluşturmadığı görüldü ($p > 0.05$).

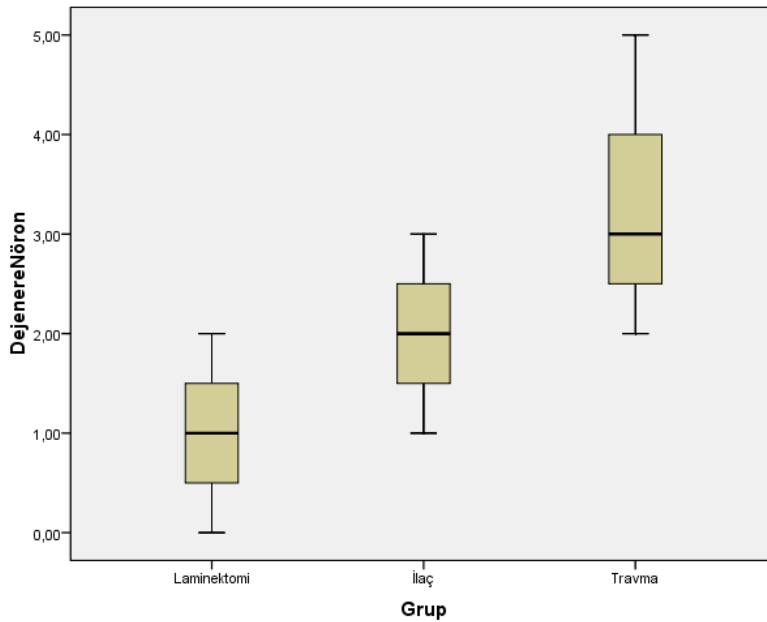
Kontrol grubunda hem tedavi grubuna göre hem de travma grubuna göre apopitozisin anlamlı ölçüde ($p < 0.05$) düşük olduğu saptandı.

Grafik 7. Nöron sayısının gruplara göre karşılaştırılması



Nöron sayıları gruplar arasında karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile tedavi grubu arasında nöron sayısında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (p: 0,13). Kontrol grubu ile travma grubu arasında anlamlı bir fark mevcuttu (p: 0.001). Tedavi grubundaki nöron sayısında travma grubuna göre anlamlı farklılık yoktu (p>0.05).

Grafik 8. Dejenere nöron sayısının gruplara göre karşılaştırılması



Dejenere nöron sayıları gruplar arasında karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile tedavi grubu arasında dejenere nöron sayısında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi (p>0.05). Kontrol grubu ile travma grubu arasında anlamlı bir fark mevcuttu (p: 0.001). Tedavi grubundaki dejenere nöron sayısında travma grubuna göre anlamlı farklılık yoktu (p>0.05).

Gliyal hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile tedavi grubu arasında gliyal hücre sayısında anlamlı farklılık olmadığı gözlemlendi (p: 0,105). Kontrol grubunda gliyal hücre sayısı travma grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (p: 0.005). Tedavi grubundaki gliyal hücre sayısında travma grubuna göre anlamlı farklılık yoktu (p>0.05).

Dejenere glial hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile tedavi grubu arasında dejenere glial hücre sayısında anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi (p: 0,001). Kontrol grubunda dejenere glial hücre sayısı travma grubuna göre anlamlı derecede düşüktü (p: 0.001). Tedavi grubundaki dejenere glial hücre sayısında travma grubuna göre anlamlı farklılık yoktu (p>0.05).

2.6.Tartışma

Travmatik spinal kord yaralanmaları gelişen teknoloji ve motorlu araç kullanımının artmasına bağlı olarak artmaktadır (Kraus ve ark 1975). Giderek artan oranda görülen omurilik yaralanmaları bireysel ve toplumsal olarak psikososyal ve ekonomik olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Spinal kord yaralanması sonrası hayatta kalanların yarısı normal yaşantısına dönememektedir (Tator ve ark 1991). Bu travmalar önemli bir iş gücü konumundaki genç nüfusu iş yapamaz ve başkasına bağımlı kişiler haline getirmektedir. Travmatik omurilik yaralanmalarında halen evrensel olarak kabul görmüş etkili ve ortak bir tedavi yönteminin bulunmaması bu tip yaralanmaları önemli bir sorun olarak karşımıza çıkarmaktadır. Halen travma sonrası nöronal hasarın azaltılması yönünde klinik ve laboratuvar çalışmaları devam etmektedir (Dumont ve ark 2001).

Deneysel spinal kord yaralanması modellerinde kedi, köpek, maymun gibi hayvanlar kullanılmasına rağmen sıçanlar ve fareler elde edilmesi, maliyeti açısından en uygun hayvanlardır (Khan ve ark 1999). Erşahin ve arkadaşları (Erşahin ve ark 2012) spinal kord travma modelinde montelukastın oksidatif hasar üzerine olan etkisini inceledikleri çalışmada ve Liu ve arkadaşlarının (Liu ve ark 1997) spinal kord travmasında nöronal ve glial apoptozisi inceledikleri deneysel çalışmada yine rat kullandılar. Biz de deneysel çalışmamızda Wistar albino ırkı ratları tercih ettik.

Spinal kord travmaları için omuriliğin tam veya yarı kesisi, klip kompresyon, balon kompresyon, fotokimyasal ve termal hasar gibi yaralanma modelleri geliştirilmiştir. Bunların içinde kontüzyon modeli insan spinal kord yaralanmasını ve travma anındaki biyomekanik kuvvetleri taklit etmede en uygun olanıdır (Allen 1911, Kwon ve ark 2002). Çünkü insanlarda spinal kord hasarı spinal kordun akselerasyonu ve deselerasyonu ve kırılan omurgada kemik parçaların omuriliğe batması ve darbe etkisi oluşturması sonucu meydana gelir. Ağrılık düşürme metodunda da cerrahi olarak ortaya konulmuş spinal kordun üzerine belli bir yükseklikten belli bir çaptaki ağırlık düşürülerek yaralanma oluşturulur. Bu model köpeklerde ilk kez Allen tarafından 1911 yılında denenilen yöntem olup sıçanlara modifiye edilmiştir (Gale ve ark, 1985, Farooque 2000). Bu model güvenilir ve tekrar edilebilir bir yöntemdir ve

histopatolojik sonuçları büyük hayvanlardakine benzer özelliktedir (Fujimoto ve ark 2000, Gaviria ve ark 2000). Kaptanoğlu ve arkadaşları ratlarda ağırlık düşürme yöntemini kullanarak fenitoinin lipid peroksidasyonu azaltarak nöronal hasarı önlediğini gösterdiler (Kaptanoğlu ve ark 2005).

Torres ve arkadaşlarıda ratlarda ağırlık düşürme yöntemini kullanarak dantrolenin spinal travmada apoptozisi engellediğini göstermişlerdir (Torres ve ark 2010). İnsan spinal kord yaralanmasını taklit eden en uygun yöntem olması sebebi ile çalışmamızda ağırlık düşürme modelini kullandık.

Travmatik spinal kord yaralanmalarında doku harabiyeti primer ve sekonder zedelenme olmak üzere iki aşamada gerçekleşir (Tator ve ark 1991, Kaptanoğlu 2005).

Primer travma sonrası oluşan sekonder doku harabiyeti, ilk başta meydana gelen primer doku hasarının olduğu alanın çevresinde, primer travmadan ilk anda zarar görmemiş nöral dokunun tahribatına ve ölümüne neden olur. Primer travma çevresinde yer alan bu risk altındaki alanın sekonder zedelenmeden kurtarılması veya mümkün olan en alt düzeye indirilmeye çalışılması, omurilik yaralanmasında tedavinin temel hedefidir (Amar ve ark 1999).

Sekonder doku (nöronlar ve glial hücreler) hasarında, lipid peroksidasyonunun ve bununla ilişkili olarak serbest oksijen radikallerinin oldukça önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (McCall ve ark 1987, Ikeda ve ark 1990, Clausen ve ark 2004). Sinir sistemi yüksek oksijen kullanımı ve antioksidan enzim aktivitesinin kısıtlılığı nedeni ile serbest radikal hasarına oldukça duyarlıdır. Serbest radikaller hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler ancak bu etkileşime en hassas yapılar lipidlerdir. Sinir sistemi içerdiği yüksek oranda yan zincirli poliansatüre yağ asitleri nedeni ile de lipid peroksidasyonuna duyarlılığı yüksektir (Cheeseman ve ark 1993, Evans 1993, Soffel ve ark 1997).

Karvedilol güçlü antioksidan etkisi olan lipofilik nonselektif bir beta blokerdir (Yue ve ark 1992, Noguchi ve ark 2000). Feuerstein ve arkadaşları (1997) tarafından karvedilolün antioksidan etkisinin karbazol parçası tarafından oluşturulduğu saptanmıştır. Deneysel çalışmalarda in vivo olarak karvedilolün antioksidan etkisi domuz ventriküler membranlarında, rat beyin homojenatlarında, insan düşük dansiteli lipoproteinlerde gösterilmiştir (Yue ve ark 1992, Noguchi ve ark 2000).

Hücreler dokuları serbest radikal hasarına karşı koruyan antioksidan mekanizmaları içerirler. Endojen antioksidanlar olan glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) bu koruyucu mekanizmaların başında gelirler. Potansiyel olarak hasar yapan serbest radikal gruplarını kurtararak etki gösterirler (Wang ve ark 1998). Çalışmamızda spinal kord doku

örneklerinde SOD ve GSH düzeyleri ölçümü yaptık. Tedavi grubunda bu antioksidan enzim düzeylerini yüksek bulmamıza rağmen bu değerlerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Barut ve arkadaşlarının (1993) yaptıkları spinal kord yaralanması modelinde lipid peroksidasyon ölçümü lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA düzeyleri ölçülerek yapılmış. MDA düzeyleri erken dönemde (travmadan 1dk. , 15 dk. , 1,2 ve 4 saat sonra) bakılmış ve MDA düzeyinin 15 dk. sonra artmaya başladığını, 1.saatte maksimuma ulaştığını ve daha sonra düştüğünü göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda doku MDA düzeyi ölçümü yaptık. Tedavi grubunda doku MDA düzeyi travma grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p:0.810).

Bernard ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada spinal kord hasarında nötrofil aktivasyonunun bir belirteci olan MPO düzeylerinin serebrospinal sıvıda yükseldiğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da buna paralel olarak MPO düzeyi spinal travmalı doku örneklerinde yüksek bulunmuş ve tedavi grubunda MPO düzeyleri düşük çıkmasına rağmen istatistiksel farklılık saptanmamıştır.

Bao ve arkadaşları deneysel olarak travma oluşturdukları spinal kord bölgesinde nitrik oksit, peroksinitrit ve oksijen düzeylerinin yükseldiğini ve antioksidanların bu mekanizmaları ve dolayısıyla apoptozisi de önlediğini göstermişlerdir (Bao ve ark 2003, Bao ve ark 2004). Travmanın meydana geldiği 24 saat içinde beyaz cevherdeki astrositler ve oligodendrositlerin yaklaşık yarısının öldüğü bilinmekle birlikte Beattie ve arkadaşları travmayı takip eden haftalar boyu glial hücrelerin apoptotik mekanizmalarla ölmeye devam ettiğini göstermişlerdir (Beattie ve ark 2002). Bizim çalışmamızda yapılan histopatolojik incelemelerde karvedilolün hem gri hem de beyaz cevherde apoptozisi anlamlı derecede azalttığı saptandı. Aynı zamanda çalışmamızda glial hücre sayısının tedavi grubunda travma grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğunu saptadık.

Savitz ve arkadaşları (2000) deneysel geçici orta serebral arter oklüzyonu modelinde karvedilolün nekroz alanı ve apoptozis düzeyini azalttığını ve nörolojik defisitleri azalttığını saptamışlar. Bu çalışmayla uyumlu olarak karvedilol verip spinal kord travması oluşturduğumuz deneklerde apoptozis düzeyinde travma grubuna göre oldukça anlamlı derecede azalma saptadık. Tedavi grubundaki deneklerimizin motor muayene skorları da travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı idi.

Yamagata ve arkadaşları (2004) beyin hücre kültüründe yaptıkları çalışmada hipoksi ve reoksijenasyon öncesinde karvedilol uygulamasının sitoprotektif etkisi olduğunu

saptamışlardır (Yamagata ve ark 2004). Literatürdeki çalışmalarla uyumlu olarak travma öncesi uyguladığımız karvedilolün nöroprotektif etkileri olduğunu saptadık.

Çalışmamızda bahsettiğimiz bu sonuçlardan yola çıkarak ağırlık düşürme modeli ile ratlarda meydana getirilen spinal kord yaralanmasında histopatolojik, immünohistokimyasal ve nörolojik muayene skorlarını göz önüne aldığımızda karvedilolün nöroprotektif bir ajan olduğu düşünülmüştür. Ancak çalışmada biyokimyasal parametlerde de istatistiksel olarak anlamlı değerlere ulaşabilmek amacı ile çoklu merkezlerde daha geniş denek sayısı ile bu konuda çalışma yapılmasına ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

2.7 Sonuç ve öneriler

Çalışmamızda elde ettiğimiz tüm veriler ışığında karvedilolün özellikle histopatolojik, immünohistokimyasal ve nörolojik muayene skorlarını göz önüne aldığımızda nöroprotektif etkisi olduğunu ancak klinik kullanım için daha geniş ve fazla çalışmaya gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

3.KAYNAKLAR

1. Aguayo AJ. Axonal elongation in peripheral and central nervous system transplants. *Advances in Cellular Neurobiology* 3, New York: Academic Pres.1982; 215-234.
2. 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
3. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*. 1999; 44(5)1027-1040.
4. Anderson DK, Means ED, Waters TR. Microvascularperfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurgery*. 1982; 56:106-13.
5. Ayvaz S. N-asetilsisteinin intestinal iskemi- reperfüzyon hasarına etkisi (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2005.
6. Bakshi R, Faden AI. Competitive and non-competitive NMDA antagonists limit dynorphin Ainduced rat hindlimb paralysis. *Brain Res*. 1990; 507:1-5.
7. Bao F, Liu D. Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptotic cell death and activates caspase-3. *Neuroscience*. 2003; 116(1): 59-70.
8. Bao F, Liu D. Hydroxyl radicals generated in the rat spinal cord at the level produced by impact injury induce cell death by necrosis and apoptosis: protection by a metalloporphyrin. *Neuroscience*. 2004; 126(2): 285-95.
9. Barut S, Canbolat A, Bilge T, Aydın Y, Cokneseli B, Kaya U. Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurgery Rev*. 1993; 16:53-59.
10. Barut S, Ünlü YA, Karaoğlan A, Tunçdemir M, Dağistanli FK, Öztürk M. et all. The neuroprotective effect of z-DEVD.fmk, a caspase-3 inhibitor on traumatic spinal cord injury in rats. *Surgical Neurology*. 2005; 64:213-20.
11. Beattie MS, Hermann GE, Rogers RC, Bresnahan JC. Cell death in models of spinal cord injury. *Prog Brain Res*. 2002; 137: 37-47.
12. Benzel E.C, Ferrara L. Omurga ve omurilik yaralanmasının biyomekanigi spinal stabilite. Editörler: Zileli M. ve Özer A.F . Omurilik ve Omurga cerrahisi. 2002. sayfa. 797-811.
13. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, G R. Measurement of cutaneous inflammation:estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* . 1982; 78: 206-209.

14. Braugher JM. Methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurgery*. 1987; 67:102-5.
15. Breasted JH. *The Edwin Smith Surgical Papyrus: Published in facsimile and hieroglyphic transliteration with translation and commentary in two volumes*. University of Chicago Press; Chicago, Illinois. 1930. pp. 324–327. (Edwin Smith Papyrus)
16. Cheeseman K.H., Slatter T.F. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*. 1993; 49:481-493.
17. Choi DW. Excitotoxic cell death. *J Neurobiol*. 1992; 23:1261-1276.
18. Clausen F, Lundqvist H, Ekmark S, Lewen A, Ebendal T, Hillered L. Oxygen free radical dependent activation of extracellular signal-regulated kinase mediates apoptosis-like cell death after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2004; 21:1168–82.
19. Dargie HJ. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: The Capricorn randomised trial. *Lancet*. 2001; 357: 1385-90.
20. De La Torre JC. Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 6. 1981; 315- 335.
21. De La Torre JC. Spinal cord injury models. *Prog Neurobiol*. 1984; 290-344.
22. Demediuk P, Saunders RD, Clendenon NR, Means ED, Anderson DK, Horrocks LA. Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Prog Brain Res*. 1985; 63:211-226.
23. Demopoulos HB, Flamm ES, Seligman ML, Pietronigro DD, Tomasula J, DeCrescito V. Further studies on free radical pathology in the major central nervous system disorders: effect of very high doses of methylprednisolone on the functional outcome, morphology and chemistry of experimental spinal cord impact injury. *Can J Physiol Pharmacol*. 1981; 160: 1415-1424.
24. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1990; 186:421-31.
25. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg*. 1971; 35: 700-708.
26. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury. Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology*. 2001; 24(5):265-279.
27. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J. Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin Neuropharmacology*. 2001; 24(5):254-264.
28. 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*. 15: 2002; 713-720.
29. Dunn CJ, Lea AP, Wagstaff AJ. Karvedilol: A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in cardiovascular disorders. *Drugs*. 1997; 54: 161-85.
 30. Erşahin M, Cevik O, Akakın D, Sener A, Ozbay L, Yegen BC, Sener G. Montelukast inhibits caspase-3 activity and ameliorates oxidative damage in the spinal cord and urinary bladder of rats with spinal cord injury. *Prostaglandins & other Lipid Mediators*. 2012; 99,131– 139
 31. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Br Med Bull*. 1993; 49:577 87.
 32. Farooque M. Spinal cord compression injury in the mouse: presentation of a model including assessment of motor dysfunction. *Acta Neuropathol*. 2000; 100:13-22.
 33. Fehlings MG: Summary statement: the use of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *Spine*. 2001;26:S55.
 34. Feuerstein GZ, Yue TL, Cheng HY, Ruffolo Jr RR. Myocardial protection by the novel vasodilating beta-blocker, carvedilol: potential relevance of anti-oxidant activity. *J Hypertens*. 1993; (Suppl. 11):41–8.
 35. Freeman LW, Wright TW. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. *Annals of Surgery*. 1953; 137.
 36. Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, et al. Effects of EPC-K On lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine*. 2000; 25(1): 24-29,109.
 37. Gale K, Kerasidis H, Wrathall J.R. Spinal cord contusion in the rat: behavioral analysis of functional neurologic impairment. *Experimental Neurology*.1985; 88(1):123-134.
 38. Gavia 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 Resarch*. 2000; 874:200-209.
 39. Giugliano D, Acampora R, Marfella R, et al. Metabolic and cardiovascular effects of karvedilol and atenolol in non-insulin-dependent diabetes mellitus and hypertension. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 1997; 126: 955-9.
 40. Hancı M, *Vertebromedullar Yaralanmaların Tarihçesi, Medulla Spinalis Yaralanmaları* Ed: Murat Hancı, Önder Aydınöz. İstanbul. 2000. 1-4.
 41. Horner P.J, Gage F.H. Regenerating the damaged central nervous system. *Nature*. 2000;

407:963-970.

42. Iizuka H, Yamamoto T, Iwasaki Y. Experimental spinal cord injury: quantitation of axonal damage by automated image analysis. *J Neurosurgery*. 1986; 64:304-8.
43. Ikeda Y, Long DM. The Molecular Basis of Brain Injury and Brain Edema: The Role of Oxygen Free Radicals. *Neurosurgery*. 1990; 27:1-11.
44. Ildan F, Polat S. Effects of Naloxan on Sodium and Potassium activated and Magnesium dependent Adenosine5 Triphosphatase Activity and Lipid Peroxidation and Early Ultrastructural Findings after Experimental Spinal Cord Injury. *Neurosurgery*. 1995; 36:797-805.
45. Iplikçioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Ed: M.Zileli, Fahir Özer. Omurilik Omurga Cerrahisi 1. Bask., Izmir, Saray Medikal Yayıncılık; 2002. s. 459-465.
46. Kaptanoglu E. Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi. Editör: Aksoy K. Temel Nöroşirürji. Ankara: Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları ; 2005. s.1144-55.
47. Kaptanoglu E, Solaroglu I, Surucu H.S, 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.
48. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sumbuloğlu G. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord*. 2000; 38(11): 697-701.
49. Karamehmetoglu SS, Unal S, Karacan I, Yilmaz H, Togay HS, Ertekin M, Dosoglu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T:Traumatic spinal cord injuries in Istanbul, Turkey. An epidemiological study. *Paraplegia*. 1995; 33(8):469-71.
50. Karamehmetoğlu SS, Nas K,Karacan I, Sarac AJ. Traumatic spinal cord injuries in southeast Turkey:an epidemiological study. *Spinal Cord*. 1997; 35(8): 531-533.
51. Kazuo Yamagata, Shizuk Ichinose, Motoki Tagami. Amlodipine and Carvedilol Prevent Cytotoxicity in Cortical Neurons Isolated from Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertens Res*. 2004; 27: 271–282.
52. Keating GM, Jarvis B. Karvedilol: A review of its use in chronic heart failure. *Drugs*. 2003; 63: 1697-741.
53. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol*. 1993; 23(1):21-48.
54. Khalof A.C, Salah A.C, Nebil B. Effect of aluminum on neurological recovery in rat following spinal cord injury. *J. Neurosurgery (Spine)*. 2000; 93:276-282.
55. Khan M, Griebel R, Rozdilsky B. Hemorrhagic changes in experimentals

- spinal cord injury models. *Can J Neurol Sci.* 1985; 12: 259-262.
56. Khan T, Havey R.M, Sayers S, Patwardhan A, King W.W. Animal Models of Spinal Cord Contisuon Injuries. *Lab. Anim. Sci.* 1999; 49(2):161-172.
 57. Kiliñç A, Kiliñç K: Nitrik oksit. Biyolojik fonksiyonlari ve toksik etkileri. Ankara: Palme; 2003.
 58. Kirshblum S, Gonzalez P, Cuccurullo S, Luciano L. Epidemiology of spinal cord injury. In *Spinal Cord Injuries USA.* 1998; 489-551.
 59. Kraus JF, Franti CE, Riggins RS. Incidence of traumatic spinal cord lesions. *J Chronis Dis.* 1975; 28:471-492.
 60. Kurihara M. Role of monoamines in experimental spinal cord injury in rats. Relationship between Na⁺-K⁺-ATPase and lipid peroxidation. *J Neurosurgery.* 1985; 62:743-9.
 61. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine.* 2002; 27(14): 1504 -1510.
 62. Li M, Ona VO, Kaul M. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mause model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience.* 2000; 99:333-42.
 63. Liu LM, Bergsneider M, Becker DP in Youmans JR (ed). *Neurological Surgery.* W.B. Saunders Co.4th ed 1997.
 64. Xiao Z, Liu, Xiao M. Xu, Rong Hu, Cheng Du, Shu X. Zhang, John W. McDonald, Hong X. Dong, Ying J. Wu, Guang S. Fan, Mark F. Jacquin, Chung Y. Hsu, Dennis W. Choi. Neuronal and Glial Apoptosis after Traumatic Spinal Cord Injury. *The Journal of Neuroscience.* July 15, 1997; 17(14):5395–5406.
 65. Li Y, Bickel KD, Im MJ. Effects of deferoxamine on ischemia/reperfusion injury after peripheral nerve compression. *Ann Plast Surg.* 1996; 36(4):365-9.
 66. Marketos SG, Skiadas P. Hippocrates. *Spine* 24. 1999; 1381-1391.
 67. Mautes AEM, Weinzierl M.R, Donovan F, Noble L.J. Vascular events after spinal cord injury : contribution to secondary pathogenesis. *Physical Therapy.* Vol.80, No.7, July 2000; pages 673-687.
 68. McCall JM, Braughler JM, Hall ED. Lipide peroxidation and the role of oxygen radicals in CNS injury. *Acta Anaesthesiol Belg.* 1987; 38:373-9.
 69. Nemecek ST. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol.* 1978; 20:395-405.
 70. Nishida T, Matsura T, Nakada J, Togawa A. Geranylgeranylacetone protects against acetominophen –induced hepatotoxicity by inducing heat shock protein 70.

Toxicology. 2006; Volume 219, Issues 1-3, February 15. pages 187-196.

71. Noguchi N, Nishino K, Niki E. Antioxidant action of the antihypertensive drug, carvedilol, against lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol.* 2000; 59:1069–76.
72. Ohry A, Ohry KK. Spinal cord injuries in the 19th century. Churchill Livingstone, Edinburg 1989; 9-35.
73. Ozawa H, Keane RW, Marcillo AE, Diaz PH, Dietrich WD. Therapeutic strategies targeting caspase inhibition following spinal cord injury in rats. *Exp Neurol.* 2002; 177:306- 13.
74. Palmer C, Roberts RL, Bero C. Deferoxamine posttreatment reduces ischemic brain injury in neonatal rats. *Stroke.* 1994; 25(5):1039-45.
75. Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JG, et al. Comparison of carvedilol and metoprolol on clinical outcomes in patients with chronic heart failure in the Carvedilol Or Metoprolol European Trial (COMET): Randomised controlled trial. *Lancet.* 2003; 362: 7-13.
76. Raineteau O, Schwab ME. Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nature Rev.Neuroscience.* 2001; 2: 263-273.
77. Savitz SI, Rosenbaum DM. Apoptosis in Neurological Disease. *Neurosurgery.* 1998; 42:555-72.
78. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev.* 1996; 76; 2: 319–370.
79. Sean I. Savitz, Joseph A. Erhardt, James V. Anthony, Gaurav Gupta, Xiang Li, Frank C. Barone, Daniel M. Rosenbaum. The Novel β Blocker, Carvedilol, Provides Neuroprotection in Transient Focal Stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 2000; 20:1197–1204.
80. Sevanian A. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann. Rev. Nutr.* 1985; 5:365-390.
81. Soffel M, Eriskat J, Plesnila M, Aggrawal N, Baethman A. The penumbra zone of a traumatic cortical lesion: a microdialysis study of excitatory amino acid release. *Acta Neurochir.* 1997; 70: 91-3.
82. Sonntag VKH. History of degenerative and traumatic disease of the spine. Editor: Greenblatt SH In a history neurosurgery. Washington: American association of Neurological Surgeons, 1997. pp 355-371, 2.193.
83. Southorn P.A. Free radicals in medicine I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin. Pro.*1988; 63:381-389.

84. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurgery*. 1991; 75:15-26.
85. Tator C.H. Pathophysiology and pathology of spinal cord injury. In: Wilkins R.H., Rengachory S.S, editors. *Neurosurgery*. 2 nd ed. New York: McGraw-Hill; 1996. pp 2847- 2861.
86. Bruno Benetti Junta Torres, Fa'tima Maria Caetano Caldeira, Mardelene Ge'isa Gomes, Roge'ria Serakides, Aline de Marco Viott, Ange'lica Cavalheiro Bertagnolli, Fabr'ola Bono Fukushima, Karen Maciel de Oliveira, Marcus Vini'cius Gomes, Eliane Goncalves de Melo. Effects of dantrolene on apoptosis and immunohistochemical expression of NeuN in the spinal cord after traumatic injury in rats. *Int. J. Exp. Path.* 2010; 91, 530–536.
87. Troystman R.J. Oxygen radical mechanism of brain injury following ischemia and reperfusion. *J. Appl. Physiol.* 1991; 71:1185-1195.
- Wang W, Ballatori N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharmacol Rev.* 1998;50:335–56.
88. Yue TL, Cheng HY, Lysko PG, McKenna PJ, Feuerstein R, Gu JL, et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992; 263:92–8.
89. Zileli M, Gülmen V. Deneysel omurilik yaralanmaları: Omurilik ve omurga cerrahisi. Zileli M, Özer A.F. *Meta Basım*; İzmir, 2002; pp 951-956.

