



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
HASEKİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
NÖROŞİRÜRJİ KLİNİĞİ**

KLİNİK ŞEFİ : Op.Dr. Turgay BİLGE

**AKUT OMURİLİK HASARI OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
REKOMBİNANT İNSAN ERİTROPOİETİNİNİN
METİLPREDNİZALON İLE KARŞILAŞTIRMALI VE BİRLİKTE
KULLANIMININ MALONİLDİALDEHİT, SÜPEROKSİTDİSMUTAZ
VE KATALAZ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr.O. Ersegun BATÇIK

Uzmanlık Tezi

İSTANBUL - 2011

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince eğitimim ve öğrenimim için bana rehberlik eden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocam Op.Dr.Turgay Bilge'ye,engin bilgi birikimi ve tecrübelerini bizlerle her zaman paylaşan Op.Dr.Mustafa Ali Akçetin, Op.Dr.Cengiz Acar, Op.Dr.Mustafa Arif Eras, Op.Dr.Kaan Baturay, Op.Dr.Nurgül Balcı Öktem, Op.Dr.Bekir Mahmut Kılınç, Op.Dr.Ayşegül Özdemir Ovalıoğlu, Op.Dr.Cem Karabulut'a, asistanlık eğitimim süresince beraber çalışma fırsatı bulduğum abilerim Op.Dr.Bülent Özdemir, Op.Dr.İsmail Ulusal, Op.Dr.Tamer Tunçkale'ye, kardeşim Dr.Alper Birgül ve bütün asistan arkadaşlarıma, kliniğimizi özel kılan bütün hemşire ve personele, ayrıca tezimin hazırlanması aşamasında emeği geçen Biyokimya Kliniği'nden Şef Yard. Uzm.Dr.Macit Koldaş, Uzm.Dr.Yasemin Döventaş ve Uzm.Dr.Zümrüt Işık'a , çalışmalarım ve ihtisasım boyunca bana sürekli destek olan sevgili eşim Dr.Şule Batçık'a, neşe ve moral kaynağım kızım Zeynep Nihan'a ve aileme sonsuz teşekkürler ederim.

Dr.O.Ersegun BATÇIK
İstanbul 2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ.....	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Omurilik Travmasının Tarihçesi	3
2.2. Epidemiyoloji ve İnsidans.....	5
2.3. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi	5
2.3.1. Primer hasar mekanizmaları	5
2.3.2. Sekonder hasar mekanizmaları	7
2.3.2.1. Sistemik faktörler	9
2.3.2.2. Lokal vasküler etkiler	9
2.3.2.3. İyonik mekanizmalar	11
2.3.2.4. Serbest radikaller	13
2.3.2.5. Opiat reseptörleri	15
2.3.2.6. Enflamasyon cevabı	16
2.3.2.7. Eksitator aminoasitler	17
2.3.2.8. Apoptozis	21

2.4. Omurilik Travmasında Lezyon Bölgesindeki Patolojik Değişiklikler	26
2.4.1. Akut faz (hemorajik nekroz)	26
2.4.2. Subakut faz	27
2.4.3. Geç faz	28
2.4.4. Vasküler değişiklikler	28
2.4.5. Doku nekrozunun gelişmesi	29
2.5. Modern Farmakoterapi Çalışmaları	31
3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. Materyal	33
3.2. Anestezi	35
3.3. Cerrahi İşlem	35
3.4. Spinal Travma Oluşturulması	36
3.5. İlaç Uygulanması	36
3.6. Biyokimyasal Değerlendirme	37
3.7. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ	60
7. ÖZET	61
8. KAYNAKLAR	62

KISALTMALAR

EPO	: Eritropoietin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
NMDA	: n-metil-d-Spartik Ssid
İNOS	: Inductible Nitrik Oksid Sentetaz
İL	: İnterlökin
AMPA	: α -amino-3-hidroksil-5-metill-4-isoksazol propionat
SCI	: Spinal Kord Travması
ER	: Endoplazmik Retikulum
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
JAK2	: Janus Kinaz 2
NF-KB	: Nükleer Fakör Kappa b

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Deneysel omurilik travma modelleri	4
Tablo 2: İnsan omurilik yaralanmasında primer mekanizmalar	6
Tablo 3: Omurilik yaralanmasının patofizyolojisindeki primer ve sekonder hasar mekanizmaları	8
Tablo 4: Ca ⁺⁺ 'un travma sonrası hücre içine giriş yolları.....	11
Tablo 5: Hücre içi Ca ⁺⁺ iyonunun artması ile gelişen olaylar.....	12
Tablo 6: Apoptozu başlatan faktörler	22
Tablo 7: Apoptozisin başlatılmasındaki prototip yollar	23
Tablo 8: Veri Seti.....	39
Tablo 9: Biyokimyasal Veri Özetleri.....	40

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Kaspaz aktivasyon yolu	23
Şekil 2: Kaspaz aktivasyon yolu	24
Şekil 3: Apoptozisin morfolojik değişiklikleri.....	26



RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 1: Operasyon mikroskobu	33
Resim 2: Travma öncesi omurga görünüşü.....	35
Resim 3: Travma öncesi omurilik görünüşü	36



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski çağlardan günümüzün modern hayatına kadar olan zamanda omurilik travması insanların karşılaştığı durumlardandır. Omurga ve omurilik yaralanmalarının temel nedenleri arasında motorlu taşıt kazaları, düşmeler, şiddet uygulanması ve iş kazaları sayılabilir (1, 2). Özellikle motorlu taşıt kazaları ve şiddet içerikli kazalar giderek artış göstermektedir. Türkiye’de yılda 1600-2000 ciddi omurilik yaralanması olgusu bildirilmektedir (3).

Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hücresel hasar, omurilikteki hasarın zaman içinde artması ve klinik kötüleşme ile sonuçlanır. Yaralanmadan sonra başlayan bu ikincil hasar kaskadının durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır. Omurilik travmasının tedavi stratejisinde cerrahi, farmakolojik ve fizyolojik metodları içeren birçok deneysel model kullanılmıştır. Omurilik travmasını takiben oluşan nöral doku hasarını korumak amaçlı birçok kimyasal ajan kullanılmıştır. Bazı ajanlar oluşan doku hasarını azaltırken bazıları da fonksiyonel iyileşmeyi arttırmıştır.

Geçen yıllar akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgiye sahip olmayı sağlamasına rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili, aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunmamış olması nedeni ile özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir. Geliştirilmeye çalışılan modern farmakolojik tedavi protokolleri, ilerleyici nöron hasarının azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekeli en aza indirmeyi amaçlamaktadır.

Güncel çalışmalarda birçok araştırmacı, omurilik travması sonrası ortaya çıkan gecikmiş nöral ve glial hücre ölümünde apoptozisin rol oynadığını göstermiştir. Apoptozis, omurilik travması sonrası nöral dokuda ortaya çıkan yıkımın önemli bir

prosesi olarak tanımlanmıştır. Omurilik travmasında ortaya çıkan apoptozisin inhibisyonu nörolojik iyileşme açısından önemlidir. Günümüzde omurilik yaralanması sonrası hücre ölümünün apoptotik kaskadına yönelik terapötik koruma çabaları önem kazanmıştır.

Eritropoietin, eritroit öncül hücrelerde proliferasyon ve diferensiasyonu uyaran bir hemetopoetik büyüme faktörüdür. Santral sinir sisteminde eritropoietin ve eritropoietin reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir. En son yapılan in vivo ve in vitro nöral hasar modeli çalışmalarda eritropoietinin antiapoptotik etkisinden bahsedilmektedir. Eritropoietinin apoptozisi inhibe ettiği, inflamasyonu azalttığı, eksitotoksisteyi düzenlediği ve nöral proliferasyonu arttırdığı bildirilmiştir.

Eritropoietinin etki mekanizmaları ve klinik sonuçları araştırmacılar tarafından farklı deney modellerinde çalışılmıştır. Çalışmamızda eritropoietinin tek başına ve metilprednizalon ile birlikte kullanımının malonildialdehit,süperoksitdismutaz ve katalaz üzerine olan etkilerini biyokimyasal olarak karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OMURİLİK TRAVMASININ TARİHÇESİ

Spinal travma sadece günümüzün modern hayatında karşılaşılan bir durum olmayıp, çok eski çağlardan bu yana insanların karşılaştığı durumlardandır.

Edwin smith papirusları omurga kırıklarının belirtildiği ilk belgelerdir (4). Bu belgenin firavunların özel hekimi *Imhotep* (MÖ 2686-2613) tarafından yazıldığı sanılmaktadır. Bu belgede muhtelif olgular değerlendirilmekte ve hastalar tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmaktadır (4). *Hipokrat* (MÖ 460-375) omurganın anatomisi ile ilgilenmiş, paraplejiyi tarif etmiş, ancak omurilik fonksiyonunu açıklamaktan daha çok, travma sonrası omurga deformitelerinin düzeltilmesi amacıyla traksiyon cihazı tanımlamıştır (5). *Aulus Cornelius Celsus* (MÖ 25-MS 55) alt servikal travmalarda immobilizasyon ve eksternal stabilizasyondan söz etmiştir (6).

Sonraki yıllarda *Gallen* ise deneysel olarak kesilen medulla segmentinin altında duyu ve hareket kaybı olduğunu göstermiştir (7). 7. yüzyılda ilk kez *Aegina'lı Paulus* omuriliği komprese eden bir omurga kırığı vakasına dekompresif laminektomi yapmıştır (8, 9).

Fabricius Hildanus 1646'da servikal fraktür dislokasyonlarında redüksiyon ve traksiyon amacı ile yumuşak dokular ve spinoz çıkıntılara bir çivi takarak klemp ile çekmeyi denemiştir. Bu manevranın başarısız olması durumunda fragmanların temizlenmesini önermiştir. *Louis* 1762'de lomber bölgeye giren ve paraplejiye yol açan metal bir fragmanı çıkarmış, komplikasyonsuz geçen operasyon sonrası tam iyileşme bildirmiştir (10, 11).

Omurilik travması ile ilgili ilk fizyopatolojik çalışma 1890'da *Schamus* tarafından tavşan omuriliğinde travma sonucu gelişen patolojik değişiklikleri inceleyerek yapılmıştır (10). 1911 yılında *Allen*; köpeklerde laminektomi sonrası omurilik üzerine ağırlık düşürerek kontüzyon tipi omurilik hasarı oluşturmuş ve uygulanan myelotominin ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağladığını ortaya koymuştur. Bu çalışma daha önce yapılmış olan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış, ayrıca sekonder hasar konseptinde öncülüğünü yapmıştır (12, 13, 14).

1978 yılında *Tator* ve *Rivlin* tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde omurilik çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede değişik miktarlarda travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir (12, 13). Bu modelin avantajı omuriliğin tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da, insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (15). Bu modellerle birlikte birçok deneysel omurilik hasarı modeli geliştirilmiştir (16). Omurilik yaralanma modellerinin tarihsel gelişimi Tablo 1'de görülmektedir (17).

Tablo 1: Deneysel omurilik travma modelleri

ARAŞTIRMACI	TARİH	MODEL
Galen	2.yüzyıl	Omurilik insizyonu
Watson	1891	Köpekleri yüksekte düşürme
Allen	1911	Omurilik üzerine ağırlık düşürme
McVeigh	1923	Omurilik üzerine parmakla basma
Tarlov	1953	Epidural aralıkta balon
Fontaine	1954	Klemp ile omuriliği sıkıştırma
Rivlin	1978	Omuriliğe anevrizma klipi
Watson	1986	Omuriliğe lazer ile insizyon
Benzel	1990	Omurgayı klemp ile sıkıştırma
Stokes	1990	Elektromekanik kontüzyon

2.2. EPİDEMİYOLOJİ VE İNSİDANS

Travma yaşı ortalama 27 yıldır. Sıklıkla 16-30 yaşları arasında görülür (18). Erkeklerde daha sık görülmektedir. Kadın-erkek oranları 2,4:1 ile 4:1 arasında değişkenlik gösterir. Omurilik yaralanması nedenleri farklı coğrafi bölgelere göre de değişkenlik göstermektedir (19, 20, 21, 22).

Oluş nedenlerine bakıldığında motorlu araç kazaları %45,4 ile ilk sırayı alır. Bunu %16,8 ile yüksekten düşme, %16,3 ile sportif yaralanmalar ve diğer sebepler izler. Oluşan klinik tabloda %45 tam omurilik travması (%28 parapleji, %17 kuadripleji), %55 kısmi omurilik travması (%32 kuadripleji, %23 parapleji) görülmektedir. Omurilik travmasının %55'i servikal, %30'u torokal ve %15'i de lomber vertebralar seviyesinde olmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmada yıllık insidans milyonda 29,4 ile 50 olgu arasında değişkenlik göstermektedir. Erkek kadın oranının 2,5:1 olduğu, yaralanma sebebinin de yüksek oranla (%48,8) taşıt kazalarının olduğu bildirilmiştir (19, 20, 21, 22).

2.3. OMURİLİK YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ

Omurilik travmasında ortaya çıkan hasar iki mekanizma ile açıklanmaktadır. Omurilik yaralanmasının şiddetine bağlı olarak dokulara uygulanan mekanik kuvvet, doku bütünlüğünü bozar, aksonları tahrib eder, kan damarlarını yaralar, ödeme neden olur ve hücre membranını parçalar. Bunların hepsi birden primer yaralanma olarak adlandırılır. Primer yaralanmadan sonraki saatler ve günler içerisinde gelişen bir dizi fizyopatolojik sürece bağlı olarak ortaya çıkan omurilik yaralanmasına da sekonder yaralanma denir (14, 23, 24, 25, 26)

2.3.1. Primer hasar mekanizmaları

Omurilik yaralanması ile sonuçlanan travma, omuriliğin kendisini veya etrafındaki vertebral kolonu etkileyebilir. Primer mekanik zedelenme travma anında olan hasardır (12, 27). Sonuçtaki hasarın boyutu, çeşitli biyomekanik faktörlere bağlıdır. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi, nöral elemanların kendisinde veya omurilik damarlarında gerilme veya yırtılmaya sebep olur (33) (Tablo 2). Diğer olası mekanik etkiler, kemik kısımlardan,

ligamanlardan veya spinal kanal içindeki hematolardan kaynaklanan kompresyonu içermektedir (28). İnsan omurilik yaralanmasında en sık görülen mekanizma, darbe sonrası devam eden omurilik kompresyonudur (29). Bu özellikle akut disk rüptüründe, fraktür-dislokasyonunda ve retropulse kemik fragmanının spinal korda bastığı patlama kırıklarında belirgindir (14, 26). İkinci mekanizmada yalnızca darbenin geçici süre ile olduğu kompresyon mevcuttur ve altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı ön plandadır. Spinal kolonun aksial planda kuvvetle gerilmesine yol açan distraksiyon tipi üçüncü mekanizmada; spinal kord ve/veya onun kan akımını sağlayan elemanlarının gerilmesi ve yırtılması söz konusudur. En son primer hasar mekanizması laserasyon ve transeksiyondur. Laserasyon; mermi ile yaralanma, keskin kemik fragmanların dislokasyonu veya ciddi distraksiyon sonucu meydana gelir ve minör hasardan komplet transeksiyona kadar çeşitli derecelerde olabilir (30).

Omurilik travmasındaki kanama, erken dönemde ortaya çıkarken kan akımının kesintiye uğraması daha geç meydana gelir. Kan akımının kesilmesi, hipoksi ve iskeminin neden olduğu lokal enfarkt sonucunu doğurur. Bu, özellikle yüksek metabolik gereksinimi dolayısıyla gri cevherin hasarlanmasına yol açar. Hasarlanan alandan geçen nöronlar fiziksel olarak kesintiye uğrar ve myelin kalınlıklarında azalma meydana gelir. Hasarlanan alandaki ödem ve makrofajlar, sinir iletisinin bozulmasında diğer etkenlerdir (31). Sonuç olarak gri cevherin geri dönüşsüz hasarının ilk saatler içinde olduğu, beyaz cevherin ise 72 saat içerisinde geri dönüşsüz hasarlandığı düşünülmektedir (32).

Tablo 2: İnsan omurilik yaralanmasında primer mekanizmalar (33)

Darbe ve kalıcı kompresyon	Patlama fraktürü, fraktür-dislokasyon
Darbe ve geçici kompresyon	Hiperekstansiyon
Distraksiyon	Hiperfleksiyon
Laserasyon, transeksiyon	Patlama fraktürü, laminar fraktür, ateşli silah

2.3.2. Sekonder hasar mekanizmaları

Omurilik yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, omurilikleri yaralanmış hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya atılmıştır (34). 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 (35). Nemecek bu ciddi nekrozu otodestruksiyon olarak tanımlamıştır (10, 12, 36, 37). Mekanizmaların hepsinin altında yatan asıl patoloji, bozulmuş kord perfüzyonu ve hücresel düzeyde enerji yetersizliğidir (14). İskeminin, travmatik spinal kord yaralanmasından hemen sonra başladığı; tedavi edilmediği durumda ilk 3 saat içinde kötüleştiği ve en az 24 saat boyunca devam ettiği bildirilmiştir (33). Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji değildir. Beyindeki inen yolların nöronları omurilikteki lokal yaralanmalardan etkilenecek atrofi, apoptozis yada nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergiler (14).

Spinal kord yaralanmalarının seyri ve yaralanma sonrası oluşan patolojik bulgular sadece primer travmaya ait değildir (12, 38). Sekonder patolojik olaylar daha çok iskemiye kapsayan ciddi hasarlanmalara neden olur (33, 38, 39, 40). Ortaya çıkan bu iskemi, direkt olarak sekonder patolojik sürece katılır (25, 38, 41, 42). Sekonder hasar meydana gelmesine neden olan mekanizmalar sistemik ve lokal etkiler olmak üzere iki kısımda incelenmektedir (30, 33, 43).

Akut omurilik yaralanmasında görülen primer ve sekonder yaralanma mekanizmaları Tablo 3'de özetlenmiştir (10, 12).

Tablo 3: Omurilik yaralanmasının patofizyolojisindeki primer ve sekonder hasar mekanizmaları (43)

<p>Primer Yaralanma Mekanizmaları</p> <p>Akut kompresyon Kurşun Distraksiyon Laserasyon Kesilme</p> <p>Sekonder Yaralanma Mekanizmaları</p> <p>Sistemik etkiler (Nörojenik şok) Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi Kalp basıncı kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon Periferik dirençte azalma Kalp debisinde azalma</p> <p>Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasar Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma Hemoraji: özellikle gri cevherde Mikrodolaşımında kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm</p> <p>Biyokimyasal değişiklikler Serbest radikal üretimi Lipid peroksidasyon Eksitotoksisite: glutamat Nörotransmitter birikimi Endojen opioidler Katekolaminler: noradrenalin, dopamin Araşidonik asit salınımı Eikazanoid üretimi Prostaglandinler Sitokinler</p> <p>Elektrolit kaymaları İntrasellüler kalsiyumda artış Ekstrasellüler potasyumda artış Sodyum geçirgenliğinin yükselmesi</p> <p>Enflamatuvar cevap Serbest radikal üretimi Akson yıkımı Myelin artıklarının uzaklaştırılması Sitokinlerin salınımı Glial hücre aktivasyonu Oligodentrositlerde sitotoksik etkiler Wallerian dejenerasyon</p> <p>Ödem Apopitozis Enerji metabolizmasında kayıp Azalmış ATP üretimi</p>
--

2.3.2.1. Sistemik faktörler

Akut omurilik yaralanması, yaralanmanın şiddeti ve yaralanmanın seviyesi ile orantılı olarak birçok kardiyovasküler ve hemodinamik etki yapar (33, 44, 45). Birçok çalışma posttravmatik hipotansiyon ve nörojenik şok gelişimini göstermiştir (28). Nörojenik şok; sempatik tonusun azalması sonucu, periferik rezistans ve kardiak debide azalmaya bağlı ciddi hipotansiyon ve bradikardi gelişmesi olarak tarif edilmektedir (46). Nörojenik şok, omurilik vasküler yatağında otoregülasyonun bozulması ve perfüzyon basıncının düşmesi ile dokulara gereksinim duyduğu kadar, metabolit ve oksijen ulaşmasını engeller. Akut omurilik yaralanmasına bağlı gelişen spinal kord ve diğer organların iskemisi tedavi edilmezse, nörojenik şok tablosu; nöral doku hasarını şiddetlendirir (12, 14, 30, 33, 41, 44, 47, 48). Spinal şoktaki bir hastada sistemik kan basıncının düşmesi mutlaka kontrol altına alınmalıdır. Çünkü perfüzyon basıncı, sistemik kan basıncına doğrudan bağlıdır (12, 44).

2.3.2.2. Lokal vasküler etkiler

Tator ve arkadaşları, klip kompresyon modeline göre yaptıkları omurilik yaralanmasında, hem yaralanma bölgesinde hem de komşu bölgelerde arterioller, kapillerler, ve venüllerde kanlanmanın durduğunu gözlemişlerdir. İskemik bölge, gri cevherde ve buradaki hemorajiye komşu beyaz cevherde belirgin bulunmuştur. Gri cevheri kat ederek beyaz cevhere ulaşan arteriollerdeki vazospasm ve tromboz ile sekonder hasar artar (12). Anterior sulkal arter ve anterior spinal arter genellikle mekanik yaralanmadan kurtulur (40, 43, 49). Hasarın bu ilk fazında medulla spinalis içerisinde özellikle gri cevherde peteşial hemorajiler ortaya çıkar (50, 51). Bu mikrosirkülasyondaki travmaya bağlı olarak damarlardan oluşan proteinöz sızıntı spinal kordda ödeme yol açarak korddaki basıncın artmasına ve kan akımının bozulmasına neden olur (52, 53). Beyaz cevher perfüzyonu travmadan sonraki 5. dakikada hızla azalır, 15. dakikadan sonra normale dönmeye başlar. Gri cevherde ise travmadan sonraki ilk 5 dakika içinde birçok hemorajik alan belirir. Lezyon bölgesinde özellikle gri cevherde, omurilik kan akımının ileri derecede azalması iskemi gelişmesi ile sonlanır. İskemi, omurilik gri cevherini beyaz cevherden daha fazla etkileyen bir durumdur. Bu nedenle doğrudan nöronal yaralanmayı başlatabilir (12, 54). Birçok deneysel travmada mikrosirkülasyonda mekanik bir hasar meydana geldiği,

perfüzyonun bozulduğu ve bunun da progresif omurilik iskemisine yol açarak ikincil hasara neden olduğu saptanmıştır (35, 55, 56, 57, 58).

Posttravmatik iskeminin sebepleri kesin olarak ortaya konmuş değildir. Birçok teori iskemi sebebi olarak ileri sürülmüştür. Bu teoriler; laktik asidoza bağlı doku pH'nın düşmesi, fibrin ve trombosit birikimine bağlı venöz staz ve konjesyon, kapiller endotelial hasar, ödem, peteşiyal kanamalar, yaralanma sonucunda organizmanın bir yanıtı olarak vazoaaktif ajanların ortamda bulunması şeklinde sayılabilir. İskemi, dokulara yeterli glukoz ve oksijen sağlanamamasına, dolaylı olarak da enerji yetersizliği ve ATP depolarında azalmaya neden olur. Bu nedenle sistem anaerobik solunuma geçer. İskemi ve takip eden anaerobik solunum pek çok patolojik sürecin tetiklenmesine yol açar (12, 59, 60).

Normal omurilikte, ortalama arteriyel kan basıncındaki değişikliklere rağmen omurilik kan akımını sabit tutan otoregülasyon vardır. Omurilik yaralanmasından sonra bu otoregülasyon bozulur ve sistemik hipotansiyon nedeni ile omurilik kan akımı azalır. Ortalama arter basıncının 160 mmHg'ye yükseltilmesi omurilik kan akımını arttırmaz ancak yaralanma bölgesinin komşu bölgelerinde hiperemiye neden olur (12).

Birçok çalışmada omurilik kan akımının, travmanın ciddiyetine ve travma sonrası geçen süreye bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir. Histolojik değişiklikler travma bölgesinde majör infarkta sebep olan hemorajik nekrozu içermektedir. Bu posttravmatik vasküler değişiklikler tedavi edilebilir. Sistemik normotansiyon volum genişleticiler veya vasopresörlerle korunarak, omurilik kan akımı da dopamin, steroid, nimodipin veya volum genişleticilerle arttırılabilir. Nimodipin ve volum genişleticilerin kombinasyonu posttravmatik omurilik kan akımını ve uyarılmış potansiyellerle ölçülen omurilik fonksiyonlarını arttırmaktadır. Posttravmatik omurilik iskemisi önemli bir sekonder hasar mekanizmasıdır ve uygun yaklaşımlarla geri döndürülebilir (12).

Omurilik yaralanma derecesi ve posttravmatik iskemi derecesi ile motor ve somatosensoriyal uyarılmış potansiyeller arasında lineer ilişkinin olduğunun bildirilmesi, posttravmatik iskeminin akson fonksiyonunun bozulması ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (61).

2.3.2.3. İyonik mekanizmalar

Hücre fonksiyonlarının yerine getirilebilmesi için, hücrenin intraselüler ve ekstraselüler Na^+ ve K^+ gradiyentlerini dengelemesi gerekir. Bu elektrokimyasal gradiyentin devamı, bariyer işlevi gören sağlam bir hücre membranı ve bu membrana bağlı bir enzim olan $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATP}_{\text{ase}}$ 'ın normal aktivitesini gerektirir. Omurilik travması sonrasında elektrolit konsantrasyonunda anormallikler ile gradiyent değişiklikleri olduğu görülmüştür (41, 62, 63). Na^+ 'un hücre içine girmesi ve hücre dışında K^+ konsantrasyonunun artmasının aksonal iletimi durdurduğu gösterilmiştir (58). Artmış ekstraselüler K^+ 'un aşırı depolarizasyona neden olabileceği ve hatta spinal şoktan da sorumlu olabileceği belirtilmiştir (64).

Kalsiyum iyon konsantrasyonu, ekstraselüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmasında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetersizliği ve bunun neticesinde $\text{Na}^+-\text{Ca}^{++}$ değiştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, bu büyük gradiyent farkı ile hücre içine Ca^{++} iyon girişi olur. Ca^{++} 'un travma sonrası hücre içine giriş yolları Tablo 4'de belirtilmiştir.

Tablo 4: Ca^{++} 'un travma sonrası hücre içine giriş yolları (33)

<ol style="list-style-type: none">1. Hasar görmüş hücre membranından2. Voltaja duyarlı Ca^{++} kanallarından3. Glutamat ile aktive olan Ca^{++} kanallarından

Ca^{++} iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosforilazları aktifleyerek hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Fosfolipazlar hücre membranının yıkılmasını sağlayarak araşidonat gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz, araşidonik asiti prostaglandin ve lökotrienlere dönüştürür. Bunlar da Na^+ geçirgenliğinde artmaya neden olur (58). Ca^{++} ile aktive olan fosfotazlar da nitrik oksit sentetaz gibi enzimleri aktive eder ve bunun sonucu açığa çıkan nitrik oksit de Na^+ geçirgenliğinde artmaya neden olur (10, 58, 65, 66). Hücreye Ca^{++} girişi ve serbest radikal girişi eş zamanlı olur ve sinerjistik etki gösterebilir. Ca^{++} iyonları mitokondriyal

respiratuar enzimlere bağlandığında elektron transportunu bozarak serbest radikal oluşmasına neden olurlar. Ca^{++} tarafından inaktive edilen fosfolipazlar ve proteazlar serbest oksijen radikalleri ile birlikte membranın yıkılmasına ve araşidonik asitin serbestleştirilmesine neden olurlar. Ayrıca, kuvvetli vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membran iyon geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla Ca^{++} girişine neden olurlar (66). Hücre içi Ca^{++} iyonunun artması ile gelişen olaylar Tablo 5'te özetlenmiştir. Banik ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, omurilik travması sonrası ışık ve elektron mikroskopisi incelemesi sonucu biyokimyasal değişikliklerle beraber iskemi, ödem, kanama, doku nekrozu, aksonlarda granüler değişiklikler, miyelin dejenerasyonu, aksonal kalsifikasyon gibi bulgular tespit edilmiştir. Proteolitik enzimler, nötral proteinlerin aktivasyonu akson ve miyelin proteinlerinde yıkımın sebebi olduğu görülmüştür. Total kalsiyum seviyesi lezyon bölgesinde progresif olarak artarak 8. saatte pik yapmış ve yüksek kalmıştır. Travmadan 1 saat sonra Tromboksan A_2 'nin bir metaboliti olan tromboksanın (Tromboksan B_2) artışı görülmüştür. Daha az düzeyde olsa da 6-keto-PG-1 de de artış görülmüştür. Araşidonik asit metabolizmasının aktivasyonunun posttravmatik vasküler hasar ve progresif iskemiye katkıda bulunduğunu düşünmüşlerdir (67). Hücreye Ca^{++} iyonlarının girişi için diğer bir yol glutamat reseptörleridir. Glutamat reseptör blokerleri deneysel omurilik yaralanmasında nörolojik sonuçları iyileştirir (68).

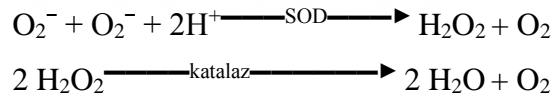
Tablo 5: Hücre içi Ca^{++} iyonunun artması ile gelişen olaylar

1. Fosfolipaz A_2 aktivasyonu,
2. Serbest yağ asitlerinin serbestlenmesi,
3. Toksik eikosanoidlerin sentezlenmesi,
4. Serbest radikallerin ortaya çıkması,
5. Ca^{++} bağımlı ATP aktivasyonu sonucu enerji rezervlerinin tükenmesi
6. Reseptör proteinlerin kovalent modifikasyonu,
7. Mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulması,
8. Hücre iskeletinin mikrotubuler ve mikrofilament komponentlerinin modifikasyonu,
9. Aksonal dejenerasyon,
10. Proteaz, fosfataz ve endonükleaz gibi litik enzimlerin aktivasyonu.

2.3.2.4. Serbest radikaller

Demopoulus tarafından 1970'lerde ortaya atılan hipoteze göre oksijen radikalleri ve ürünleri, ilerleyici doku hasarına neden olurlar (69). Serbest radikal, dış yörüngesinde çiftlenmemiş serbest elektron bulunduran kimyasal bileşiktir. Bu elektron başka biyolojik moleküllere kolayca aktarılarak oksidasyona yol açar. Serbest radikaller normal koşullarda mitokondride oluşur ve antioksidan sistemler ile zararlı etkileri engellenir (70). Serbest radikallerin aşırı artışı, antioksidan sistemlerin yetersiz kalmasına ve hücre ölümüne neden olur (70, 71).

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 peroksiradikal (ROO) 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. Ortamdaki demir (Fe^{++}) gibi katalizörlerin varlığında hidrojenperoksit hidroksil radikale dönüşür (72).



Fizyolojik koşullarda serbest radikal oluşumunu engelleyen ya da oluşmuş olan serbest radikalleri yok etme işlevine sahip bir çok antioksidan mekanizma mevcuttur. Bu mekanizmalar; süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi reaktif O_2 radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri, α - tokoferol, askorbik asit, ürik asit, glutatyon, betakaroten, sistein gibi nonenzimatik antioksidanlar ve demir ve bakırı bağlayan ferritin, transferrin, serüloplazmin gibi metal bağlayıcı sistemlerdir. Bu sistemler reaktif O_2 radikallerinin oluşumunu ve yayılmasını engelleyerek dokuyu hasardan korur (73). Ancak travma sonrası dokudaki bu antioksidan mekanizmalar hızla azalır (74). Oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler, nükleik asitler ile reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitleri oluştururlar ve bunun sonucunda daha fazla serbest radikal oluşur. Omurilik yaralanmasından sonra hemoglobin, ferritin ya da transferrinden demir açığa çıkar. Demirin katalizlediği membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu neticesinde membran parçalanır ve hücre ölür.

Ayrıca serbest oksijen radikallerinin yaptığı endotel hasarına bağı olarak kan-omurilik bariyeri bozulur. Bunun sonucunda yaralanma bölgesine zararlı maddelerin birikimi olur. Santral sinir sisteminde SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına yatkındır. Ayrıca serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilen doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile serbest radikal oluşma reaksiyonlarını katalizleyen askorbik asit ve demirin fazla miktarda olması, santral sinir sisteminin travmatik ve iskemik yaralanmadan daha çok etkilenmesine neden olur.

SERBEST RADİKALLERİN HÜCRESEL ETKİLERİ

Serbest radikaller hücredeki lipid, deoksiribonükleik asit (DNA), hücre membranı ve proteinlere saldırarak zarara uğrattırır.

Membran Lipidleri ve Lipid Peroksidasyonu

Hücre membranındaki yağ asitleri, fosfolipidler, glikolipidler ve steroller serbest radikallerin en genel hedefleri arasındadır. Bu radikaller hücre membranında bulunan proteinler ve lipidleri oksidasyona uğratarak membran akışkanlığının ve iyonik gradientin bozulmasına neden olurlar. Bu oksidasyon tepkimesi hidroksil, hidroperoksil ve tekil oksijen radikalleri tarafından gerçekleştirilir.

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.

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.

Proteinler

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

Karbonhidratlar

Hidroksil radikali glukoz, mannitol ve deoksi şekerlerle doğrudan 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.

2.3.2.5. Opiat reseptörleri

Opiat reseptör blokajının ilerleyici doku hasarını önlemesi, ikincil yaralanma patofizyolojisinde endojen opioidlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür. Faden ve arkadaşları; non-selektif bir opioid antagonisti olan naloksanın, akut omurilik travmasından sonra post travmatik hipotansiyonu, omurilik kan akımını, ve kliniği düzelttiğini bildirmiştir (75). Yine Faden ve arkadaşları (76), insan omurilik yaralanmasında en çok etkilenen opioidin dinorfin olduğunu ve dinorfin düzeyinin travmanın şiddeti ile direkt ilişkili olduğunu bildirmiştir. Omurilik yaralanması sırasında dinorfin salınımı artar, intratekal dinorfin uygulanmasıyla paralizi ve hücre hasarı bulguları ortaya çıkar. Opiat reseptörlerini aktive etmeyen bazı dinorfin fragmanlarının nörolojik fonksiyonu bozması, öte taraftan kappa selektif opioid reseptör antagonistlerinin omurilik yaralanmasında nöroprotektif olduklarının bulunması, bu mekanizmanın oldukça karmaşık olduğunu göstermektedir (66). Opiatlar santral sinir sisteminde monoamin ve serotonerjik nörotransmitter seviyelerini hızla değiştirir. NMDA reseptör blokerlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar veren etkisini önlemesi ile opioidlerin eksitator aminoasit salınımını artırdığını ve zararlı etkilerini eksitator aminoasitler üzerinden yaptığını göstermektedir (77). Opiat reseptörlerinin indirekt veya nonopioid etkileri de olabilir. Örnek olarak opiat reseptörleri testesteron yapımını arttırırlar. Testesteron ise reaktif gliozis ve astrosit proliferasyonunu azaltarak periferik sinir rejenerasyonunu arttırır (58, 66).

TRH, YM 14693 (TRH analogu), WIN 44, 441-3 ve norbinaltorpimin kappa opioid reseptör blokajı yaparak omurilik yaralanmasında nörolojik iyileşmeyi arttırdılar. Nalmefenin hem mü hemde kappa reseptör blokajı yaptığı ve omurilik yaralanmasında nöroprotektif olduğu bildirilmiştir (66).

2.3.2.6. Enflamasyon cevabı

Omuriliğin travmatik yaralanması sonrası enflamasyon cevabı saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde tepe değerine ulaşır (78). Bu cevap endotel hasarı, enflamasyon mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik enflamatuar hücrelerin göçü ve mikroglial aktivasyonu olarak gözlemlenir. Lezyon bölgesine enflamatuar hücre infiltrasyonu iki dalga halindedir. Birinci dalgada polimorfonükleer granülosit infiltrasyonu varken, ikinci dalga monosit ve makrofajlar tarafından gerçekleştirilir. Polimorfonükleer granülositler lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infiltre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolur. İkinci dalga yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferik hücreler monosit, makrofaj ve mikroglial gruptur (53). Bradikinin, prostaglandin, lökotrien, platelet aktive edici faktör, serotonin toplanır gibi enflamasyon mediatörleri yaralanmış omurilikte lezyon bölgesinde birikir. Enflamatuar, hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku hasarının hızla ilerlemesine neden olur. Nötrofiller, nötrofil proteazlarını ve serbest oksijen radikallerini serbestleştirirler. Enflamasyonun mediatörleri endotelial lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır (12). Sitokinlerin fonksiyonu ise hücre içi haberleşmeyi sağlayarak, travmaya karşı verilen immünolojik, enflamatuar ve onarım yanıtlarını düzenlemektir. Sitokinler lenfositlerde üretilir. Sitokinler yabancı antijenlere, lökosit ve diğer hücrelerin farklılaşması sonucu ortaya çıkan zararlı ajanlara karşı konağın cevabını düzenlerler. Sitokinler genellikle glikoprotein yapısında düşük molekül ağırlığına sahip küçük proteinlerdir. Değişik hücrelerce salgılanabilen, immün cevapta rol oynayan ve hücrelerin aktivasyonunda rol alan maddelerdir. Sitokinler hücre büyümesi, hücre aktivasyonu, inflamasyon, immünite, doku onarımı, fibrozis ve morfogenez gibi önemli biyolojik oluşumları düzenlerler. İnterlökinler ise özellikle lökositler arasında iletişim sağlayan sitokinlerdir. Sitokinler antijen nonsipetik glikoproteinler olup, bir stimulusa cevap olarak sentezlenip hızla sekrete edilirler. Hemen etki gösterirler ve yarı ömürleri çok kısadır. IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar

sitokinler, in vivo immün sistem aktivasyonunda hipotalamik- pituiter-adrenal sistem cevabının önemli mediatörleri olarak bilinmektedirler. Bu sistemin çalışmasıyla, enflamatuvar yanıt monosit fonksiyonlarını azaltarak kendi kendisini sınırlamaktadır (62, 79).

2.3.2.7. Eksitatör aminoasitler

Glutamat santral sinir sisteminin en önemli eksitatör nörotransmitteridir (30). Spesifik membran reseptörleri ile etkileşerek duysal enformasyonun iletilmesi, motor aktivite, spinal reflekslerin düzenlenmesi, hafıza ve öğrenme gibi birçok fonksiyonda önemli rol oynar (80, 81).

Omurilik yaralanması sonrası eksitatör aminoasitlerden glutamat ve aspartat dakikalar içinde yükselir (82). Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve ark. tarafından tanımlanmış ve eksitotoksisite olarak isimlendirilmiştir (30, 83). Bu eksitotoksisitenin epilepsi, nörodejeneratif hastalıklar, travma, serebral iskemi gibi birçok nörolojik hastalıkta doku hasarını arttırdığı düşünülmektedir. Eksitatör aminoasitlerin nörotoksik etkilerini açıklamak amacıyla birçok mekanizma ileri sürülmüştür. Eksitotoksinler tarafından tetiklenen hücre ölümü; akut nöronal şişmeye öncülük eden sodyum ve klorun ve daha sonra gecikmiş hasara neden olan kalsiyumun hücre içine girmesini sağlayan spesifik reseptörler tarafından yönetilir (83). Glutamat reseptör aktivasyonu erken evrede intrasellüler sodyumun artışına, bu ise sitotoksik ödem, intrasellüler asidoz ve lizise yol açar (30, 83, 84). Na^+ - K^+ ATPaz mekanizmasındaki yetmezlik ise Na^+ ve suyun hücre içi birikimini şiddetlendirir (30, 84). Bir sonraki aşamada Ca^{++} 'un hücre içine akımı artar, bu ise Ca^{++} bağımlı proteaz ve lipazların aktivasyonuna yol açarak hücre membranının ve nöroflamanların hasarına neden olur (85). Sonuçta "intrasellüler kalsiyum birikimi, santral sinir sistemindeki toksik hücre ölümünün son ortak yolu" olarak belirtilmektedir (30).

Glutamat nörotoksisitesi ayrıca lipid peroksidasyonunun başlaması, Na^+ - K^+ ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, doğrudan membran sodyum kanal inaktivasyonu, mitokondrial solunum enzimlerinin inhibisyonu, gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz inaktivasyonu gibi mekanizmalarla nöronal ölümü şiddetlendiren, reaktif oksijen ve

nitrojen ürünlerinin meydana gelmesi ile sonuçlanan birtakım olaylar zincirini başlatır (30).

Travmatik spinal kord hasarı sonrası eksitotoksisteye neden olan aşırı glutamat birikimi, hücre membran polarizasyonuna bağlı olarak sinaptik veziküllerden glutamat salınımının uyarılması ve enerji yetmezliğine bağlı glutamat geri alım mekanizmalarının yeterli çalışmamasıdır (86).

Deneysel omurilik yaralanması sonrası medulla spinalis içerisinde ekstrasellüler eksituar aminoasit konsantrasyonu 15. dakikada pik değerine ulaşırken 120. dakikaya kadar yüksek kalabildiği gösterilmiştir (14, 87).

Glutamat farklı farmakolojik ve elektrofizyolojik özelliklere sahip bir grup reseptör aracılığı ile aktivasyon gösterir (14). N-methyl-D- aspartate (NMDA), α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) ve kainat reseptörleri ligand kapılı iyon kanalları içerdiğinden "iyonotropik" olarak adlandırılırlar. Diğer bir grup ise transmembran proteinlere bağlı ikincil haberci sistemi üzerinden etkili "metabotropik" reseptörlerdir (14). Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri vasıtası ile olurken, travmatik omurilik yaralanmasında AMPA ve kainat gibi non-NMDA reseptörleri üzerinde olmaktadır (88).

a) Metabotropik reseptörler

Aktive edildiklerinde fosfolipaz C'yi aktif hale getirerek hücre içinde bağlı bulunan Ca^{++} 'un serbest hale geçmesini sağlarlar (14). G proteini ile ikincil haberci sistemi üzerinden de etkilidir ve hem glutaminerjik, hem de non-glutaminerjik sinapslarda iletiyi modüle ederler (14). Omurilik yaralanmaları ekstrasellüler eksituar aminoasit düzeylerini yükselten biyokimyasal süreçleri tetikler ve buna bağlı olarak glutamat reseptörleri aracılığı ile eksitotoksik hasar ortaya çıkar. Bu olaylarla ilgili 3 tip metabotropik reseptör olduğu düşünülmektedir. Grup 1 nöronal eksitabilitiyi arttıran hücre içi ileti yollarını tetikler, grup 2 ve 3 ise sinaptik iletiyi düzenleyen otoreseptörler gibi davranırlar (89).

b) İyonotropik reseptörler

Ligand kapılı iyon kanallarıdır. NMDA reseptörleri, AMPA reseptörleri ve kainat reseptörleri bu grup içerisinde yer alır. AMPA ve kainat reseptörleri arasında ayırım bazı durumlarda net olmadığı için bu iki reseptör tipine AMPA/KA veya non-NMDA adı verilmektedir. NMDA reseptörleri fizyolojik koşullarda ağırlıklı olarak öğrenme ve bellek fonksiyonunda rol alırken, non-NMDA reseptörleri yaygın olarak hızlı eksitator sinapslarda bulunurlar. AMPA/KA reseptörleri ve NMDA reseptörlerinin genetik özellikleride birbirinden farklıdır (90).

i) NMDA reseptörleri (N-methyl D -aspartate):

Glutamik asit bağlanması sonrasında Na^+ ve Ca^{++} 'un hücre içine girişine, K^+ 'un ise hücre dışına çıkışına neden olurlar. Bu grup reseptörler Mg^{++} ile bloke edilirler (90).

Spermin, spermidin gibi poliaminler için de bağlanma bölgesine sahiptirler ve bu moleküller reseptörlerin aktivasyonu arttırırlar. NMDA reseptörünün özelliği, hem voltaj hemde ligand kapılı olmasıdır. NMDA reseptörleri tarafından oluşturulan eksitotoksistide, nöronal ölümü şiddetlendiren reaktif moleküllerin oluşması sonucu meydana gelen birtakım olaylar kaskadının başlaması söz konusudur (30).

NMDA reseptör aracılığı ile Ca^{++} düzeyinin yükselmesi sonucu, serbest radikal oluşumu, mitokondrial hasar, PLA2 gibi kalsiyuma bağımlı enzim düzeyindeki patolojik yükselmeler ve gen ekspresyon değişiklikleri gibi mekanizmalarla hücrel hasar şiddetlenmektedir (30, 91). Sitolitik Ca^{++} konsantrasyonundaki artış birçok doku tipinde hücre ölümünün son ortak yolu olarak gözükmektedir (14). Faden ve ark. yaptığı çalışmada, spinal kord travması sonrası bu reseptör aktivasyonunun geçikmiş doku hasarını arttırdığı düşünülmüş ve reseptör blokajının tedavide yarar sağlayacağı belirtilmiştir (83).

ii) AMPA reseptörleri (α -amino-3-hydroxy-5-methyl isoxazole propionate):

Voltaj bağımsız olarak çalışırlar ve aktivasyonu sonucunda Na^+ hücre içerisine girer, K^+ ise hücre dışına çıkar (14). GluR1-4 (GluR A-D) olarak adlandırılan 4 subünitin ikişerli kombinasyonundan oluşurlar. Ouisqulat reseptörleri olarakta bilinirler

(92). AMPA reseptör aktivasyonu ile erken dönemde, hücre içi Na^+ birikerek sitotoksik ödem ve intrasellüler asidoz oluşmasına yol açar (30).

iii) Kainat reseptörleri:

AMPA reseptörleri ile iyi ayırt edilemediğinden AMPA/KA veya Non-NMDA olarak adlandırılırlar.

NMDA reseptörlerinin spinal kord da eksitator nörotransmisyonunda yönetici özelliği olduğu düşünülmektedir (83). Travmatik spinal kord hasarında NMDA reseptör aktivitesindeki artışın, intrasellüler Ca^{++} artışı ve daha birçok mekanizma ile gecikmiş sekonder hasarda rol oynadığı bulunmuştur (83). Bununla bağlantılı olarak NMDA reseptör blokajının travmatik ve iskemik modellerde sekonder hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (93).

2-Amino-fosfonohepnoik asit, 2-Amino fosfovalerik asit ve kinüreik asit gibi selektif ve non-selektif NMDA reseptör antagonisti moleküller geliştirilmiştir. Ancak bunların kan-beyin bariyerini geçememeleri ve protektif etkilerinin sıklıkla direk santral sinir sistemine uygulanma gerekliliği nedeniyle kullanımları geniş yer bulamamıştır (94).

Kompetitif NMDA antagonistleri, reseptörün glutamat tanıyan bölgesine bağlanarak inhibisyonuna neden olurlar. Non-kompetitif antagonistler ise NMDA ilişkili iyon kanallarına bağlanarak reseptörü inhibe ederler (93).

MK 801 (Dizocilpine), selektif non-kompetitif NMDA blokörü, sistemik olarak uygulanabilir olması ve spinal kord hasarı sonrası eksitotoksik hasarı engellemesi nedeniyle önem kazanmıştır (83, 85).

Dexanabiol (HU 211), yeni NMDA reseptör blokörünün faz 1 klinik çalışmaları sağlıklı insanlarda iyi tolere edildiği ve yan etkilerinin görülmediği ortaya konmuş ve spinal kord hasarlı hastalar üzerinde faz 2 çalışmalarının yapılmakta olduğu bildirilmiştir (95).

Gill ve ark. AMPA/KA reseptör antagonistlerinden olan NBOX'un rat fokal serebral iskemi modelinde nöroprotektif olduğunu gösterirken, Wrathall ve ark. ise NBOX'un intramedüller enjeksiyonunun spinal kord hasarı sonrası beyaz cevherin

korunmasında ve lokomotor fonksiyonları iyileştirmede etkin rol oynadığını göstermiştir (96, 133).

2.3.2.8. Apoptozis

Hücre ölümü fizyolojik veya patolojik olabilir (97, 98). Apoptozis, gelişim ve yaşlanma sürecinde ortaya çıkan programlanmış hücre ölümüdür. Daha önce hücre ölümünün sadece fizyolojik formu olmasına rağmen bugün patolojik hücre ölümüne de aracılık ettiği bilinmektedir (99, 100). Organizma sürekli bir denge halindedir. Yeni hücreler sentez edilirken, varolan hücrelerin bir kısmı hücre ölümü ile ortadan kaldırılmakta ve böylece denge korunmaktadır. Hücre ölümünün iki tipi vardır, bunlar apoptozis ve nekrozdur (101, 102). Her ikisinde de düzenli olarak birbirini izleyen biyokimyasal ve morfolojik olaylar sonucu hücre ölümü meydana gelir (103).

Apoptozis terimi Kerr ve ark. tarafından 1972 yılında ilk kez kullanılmıştır. Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Bu fizyolojik olayın dokularda tek tek hücre kaybına yol açtığından hareketle, latince ayrı düşmek anlamına gelen “Apoptozis” denmiştir (103).

Hücre proliferasyonu nasıl ki mitoz ile belirlenmekte ise belirli bir dokuda olması gereken hücre sayısı da apoptozis ile belirlenir (23, 104). Apoptozis ve mitozis dokuda sürekli bir denge halindedir. Programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı, fizyolojik hücre ölümü, apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir (100, 104, 105).

Bazı organların biyolojik gelişimleri esnasında apoptozise rastlamak mümkündür (104). Apoptozis ayrıca her türlü neoplastik oluşumda, hem büyüme hem gerileme döneminde görülebilir (105). Hafif şiddette, fiziksel ve toksik uyarılara maruz kalan dokularda da apoptozis görülür. Örnek olarak hipertermi, düşük doz sitotoksik ilaçlar, iyonize radyasyon, hafif travma, hafif hipoksi gösterilebilir (104) (Tablo 6). Bu anlamda apoptozis, spesifik bir uyarana maruz kalan hücrenin, bu uyarıya aktif olarak verdiği düzenleyici bir cevaptır (23). Apoptozisli hücreler sağlıklı doku içinde dağılmış şekilde bulunur (97).

Son yıllarda spinal kord hasarı dahil bir çok nörolojik hastalığın patobiyolojisinin, programlı nöronal ölümü etkilediği düşünülmektedir. Apoptoz sitokinlerin salınımı, inflamatuvar hasar, serbest radikal hasarı ve eksitotoksisiteye bağlı olarak tetiklenebilir. İnsanlarda travmatik spinal kord hasarı sonrası apoptozun varlığı gösterilmiştir. Buna ek olarak deneysel çalışmalardan gelen bilgiler, SCI'nin özellikle kaspaz aktivasyonunu anlamlı derecede kötüleştirdiği yönündedir (30).

Tablo 6: Apoptozu başlatan faktörler

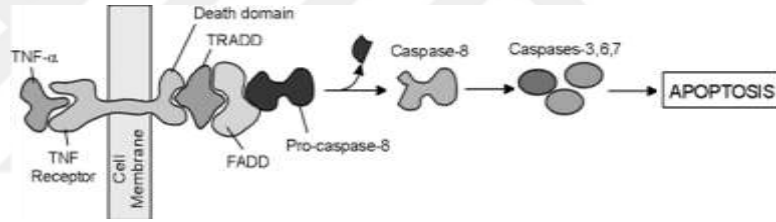
<p>APOPTOZISİN BAŞLATILMASI:</p> <p>A- Hücre dışı sinyaller</p> <ol style="list-style-type: none">1- Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği2- Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu <ul style="list-style-type: none">❖ FAS-FAS Ligand aracılı apoptozis❖ TNF aracılı apoptozis <ol style="list-style-type: none">3- Sitotoksik T lenfosit aracılı apoptozis4- Dış etmenler (iskemi, toksinler) <p>B- Hücre içi sinyaller</p> <ol style="list-style-type: none">1- DNA hasarı2- Hücre içi Ca^{++} düzeyi artışı3- Hücre içi pH azalması4- Metabolik ve hücre siklus bozuklukları

Travmatik omurilik yaralanmasından sonraki hücre ölümünün bir kısmından apoptoz sorumludur (106, 107, 108, 109). Apoptoz; ölen hücrenin fagositozu ile sonuçlanan, nükleer kromatinin kondensasyonu, sitoplazmik organellerin paketlenmesi ve plazma membranında değişiklikler ile karakterize bir hücre ölüm çeşididir. Apoptoz intrasellüler proteolitik bir süreç tarafından regüle edilir. Primer olarak sistein proteinlerinden oluşan kaspaz ailesinin üyelerinin proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteinini bölerek aktiflemesi ile hücre ölümünün gerçekleştirilmesi esasına dayanır. Apoptozun başlatılması için üç prototip sinyal yolu tanımlanmıştır (Tablo 7);

Tablo 7: Apoptozisin başlatılmasındaki prototip yollar

1. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ölüm aktivatörleri ile tetiklenme
2. Mitokondri/sitokrom C aracılı apoptozis oluşturulması
3. Endoplazmik retikulum aracılı apoptozis oluşturulması

Birinci yolda; ölüm aktivatörleri (FasL ve TNF- α) hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörlerine (Fas ve TNF) bağlanarak pro-kaspaz-8'i ve muhtemelen diğer başlatıcı kaspazları aktifler. Aktif kaspaz-8 diğer kaspazları aktifleştirerek fagositoza neden olurlar (24, 110) (Şekil 1). Aynı zamanda kaspaz-8 Bid'i ayırır ve Bid mitokondriye giderek sitokrom C'nin sitozole salınmasına neden olarak mitokondri/sitokrom aracılı apoptozisin başlamasına neden olur.

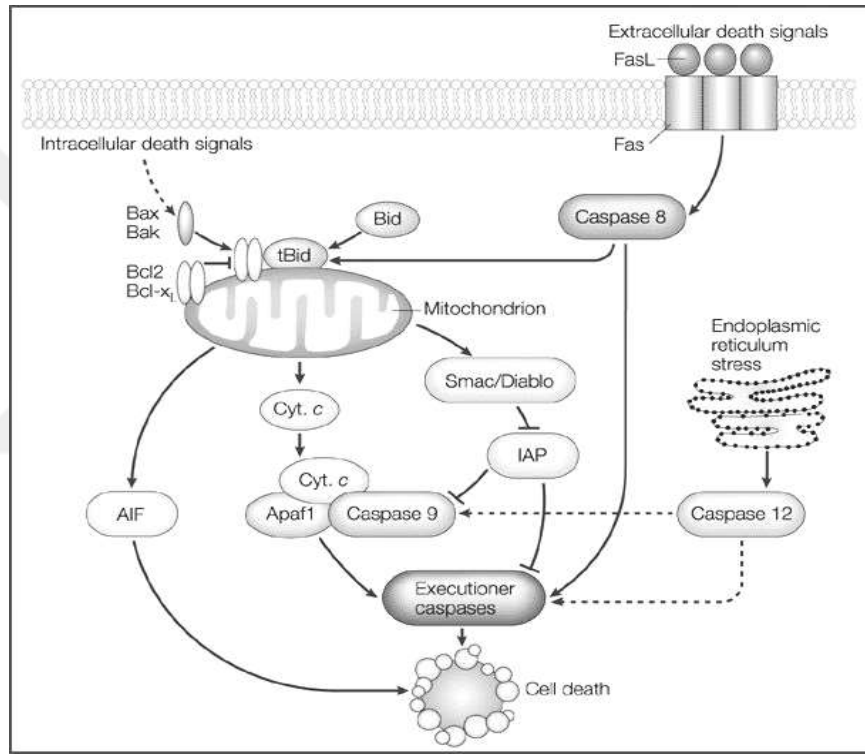


Şekil 1: Kaspaz aktivasyon yolu

İkinci yol mitokondri tarafından kontrol edilir ve mitokondride yerleşmiş apoptoz proteaz aktive edici faktör-1 (APAF-1) ve kaspaz-9'u içerir (111, 112, 113). Ko-faktör nükleotid trifosfat (d-ATP ve ATP) ile aktive edilen sitokrom-c ve apaf-1 ile birleşerek prokaspaz-9'u aktive eder. Aktive kaspaz-9 da kaspaz-3'ü aktive ederek diğer kaspaz kaskadının tetiklenmesini sağlar. Aktive kaspaz-9 da kaspaz-3'ü aktive ederek diğer kaspaz kaskadının tetiklenmesini sağlar (110, 112). Terminal uç kaspaz-3'dür. Bu proteolitik aktivite ile sitoplazmada yapısal proteinlerin sindirimi, kromozomal DNA'nın degradasyonu ve hücrenin fagositozu sağlanır (25, 110, 114). Böylece kaspaz-8 ve kaspaz-9 ölüm reseptörleri ve mitokondri için en önemli kaspazlardır.

Son zamanlarda endoplazmik retikulum apoptoz yolu tanımlanmıştır. Bu yol mitokondrial/sitokrom-c ve ölüm reseptör aracılı apoptozisten farklı bir yoldur. ER, hücre içi kalsiyum dengesi, sentezi ve membran proteinlerinin katlanmasını içeren

birçok süreçte kritik öneme sahiptir (115). Kaspaz-12, ER membranında lokalize olan ve ER aracılı apoptozis için esas teşkil eden bir kaspazdır. Son çalışmalar Ca^{++} seviyelerinin ve kalpainin endoplazmik retikulumu etkilemesi ile prokaspaz-12 aktiflenir. Ayrıca kaspaz-7 salınımı ile de prokaspaz-12 salınımı arasında bir bağlantı bulunur (116). Aktiflenmiş kaspaz-12 sitoplazmaya yönelir. Kaspaz-9 ile karşılıklı olarak etkileşerek sitozolik kaspaz kaskadını aktive eder (116) (Şekil 2). Son çalışmalar, in vivo ve in vitro olarak kaspaz-12'nin kaspaz-9'u aktive ettiğini göstermiştir (117).



Şekil 2: Kaspaz aktivasyon yolu

2.3.2.8.1. Apoptotik hücrede gözlenen morfolojik değişiklikler

i. Yüzey organellerinin kaybı

Apoptozise uğrayan hücrenin komşu hücrelerle bağları kesilir. Hücre yüzeyindeki mikrovillüsle ve diğer hücrelerle yaptıkları özel bağlar ortadan kalkar, hücre yüzeyi yuvarlaklaşır (118, 119) (Şekil 3).

ii. Hücre büzülmesi

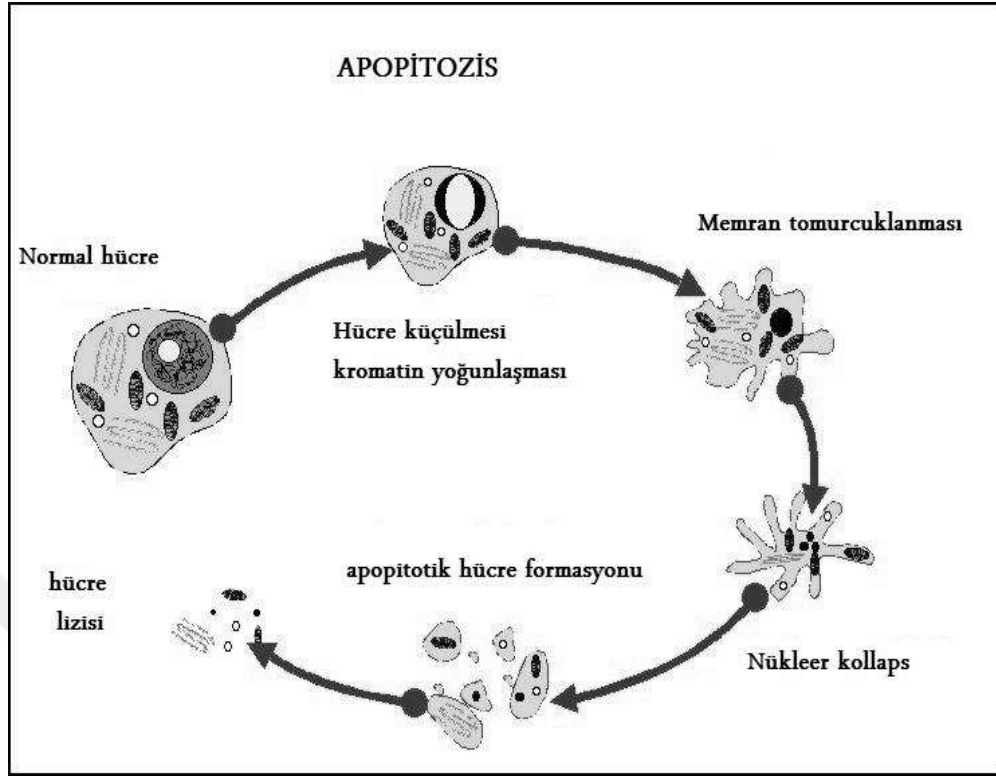
Apoptotik hücre komşu hücreye göre daha küçük ve sitoplazması daha yoğundur. ER dışında diğer hücre organelleri yapılarını korur (97). Sitoplazma yoğunluğu arttığı için organeller kalabalık görünür. Hücre zarı sağlam olduğundan nekrozda olduğu gibi bir inflamatuvar reaksiyon gözlenmez (118, 119, 120) (Şekil 3).

iii. Kromatin yoğunlaşması

Önemli yapısal değişiklik çekirdekten başlayarak izlenir. Çekirdek apoptoziste odak noktasıdır. Hücreden hücreye değişmekle birlikte genellikle çekirdek büzülür (97, 118). Kromatin çok yoğun bir hale gelir ve parçalar halinde bir araya toplanır. Çekirdek porları seçilemez. Çekirdek şekli düzensizleşir ve ileri evrede küçük çekirdek parçalarına bölünür. Çekirdekçiği genişler ve granülleri kaba granüller halinde dağılır (118, 119, 120) (Şekil 3).

iv. Sitoplazmik baloncuklar ve apoptotik cisimlerin oluşması

Hücrede önce yüzeye doğru tomurcuklanmalar olur. Bunlardan bazıları sitoplazma parçacıkları içeren ve sıkı biçimde paketlenmiş organellerden oluşan zarla sarılı apoptotik cisimlere dönüşür (118, 120) Apoptozis için morfolojik değişimler hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, hücre membran tomurcuklanması 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 (25) (Şekil 3).



Şekil 3: Apoptozisin morfolojik değişiklikleri

2.4. OMURİLİK TRAVMASINDA LEZYON BÖLGESİNDEKİ PATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Omurilikte travmayı takiben başlayan ikincil hasar süreci akut, subakut ve geç faz olarak sınıflanabilir. Hemoraji ve hızlı nekrozu takiben, astrositler ve mikroglia reaktif hale gelir, lezyon bölgesine inflamatuvar hücreler göç eder. Yaralanmadan haftalar sonra skar dokusu ve kavite oluşur, beyaz cevherde wallerian dejenerasyonun değişik evreleri gözlenir (53).

2.4.1. Akut faz (hemorojik nekroz)

Omurilik yaranmasından sonraki ilk değişiklik omurilik gri cevher mikrovaskülaritesindeki değişikliklerdir. Santral kanal etrafı ve ön boynuzdaki multifokal peteşial hemorajiler saatler içinde radial olarak yayılma eğilimindedirler. Omurilik travmasından sonra 15 dakika içinde gri cevherde peteşiyel kanamalar, beyaz cevherde ise ödem görülmüştür. Nöronlarda nekrozun ilk göstergeleri birinci saatte başladığı, sitoplazmik eozinofili, hayalet hücreler, Nissl cisimciğinin kaybolması,

küçülmüş nöronlar, hiperkromatizasyon, irregüler şekil nekrotik değişiklik göstergeleri olduğu belirtilmiştir. İkinci saat içerisinde gri cevher kanamaları arttığı, 8. saatten sonra beyaz cevhere yayılmaya başladığı tespit edilmiştir. Ön boynuz hücrelerinde arka boynuz hücrelerine göre daha erken nekroz görüldüğü, 4. saat içerisinde çok sayıda şişmiş akson silindirlere olduğu gösterilmiştir (35). Yapılan omurilik travması sonrası elektron mikroskopi incelenmesinde ise 5. dakikada aksonlar normal iken gri cevherdeki venüller eritrositlerle şiştiği, 15-30 dakıda da eritrositler kapiller ile venüllerin etrafına ekstravaze olduğu görülmüştür. 4. saatte myelin kılıfların yırtıldığı, aksonların dejenere olduğu ve endotel zedelenmesi olduğu gösterilmiştir (52).

2.4.2. Subakut faz

Subakut fazda aktive olmuş mikroglia ve astrositler reaktif glozisi oluşturduğu tespit edilmiştir. Mikroglialın nöronal dejenerasyon varlığında, kimyasal uyarılar altında sitotoksik makrofajlara dönüştüğü gösterilmiştir. Bu hücreler lezyon merkezinde çalışırlar ve nadiren yayılırlar. 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 hidrstatik veya filtrasyona bağlıdır. Ödem pia elastisitesi olmadığı için vasküler rezistansın artmasına ve dolayısı ile omurilik kan akımının azalmasına neden olur. İnflamatuar hücrelerin yaralı omuriliğe göçünde iki dalga vardır. Birincisinde, polimorfonükleer granüositler yaralanmadan saatler sonra lezyon bölgesine gelerek sitotoksik etkileri ile nöronofaji yapabilirler. 24 saatte maksimum düzeye ulaşır, 3. günde kaybolurlar. İkinci dalgada, lezyon bölgesine monosit ve makrofajlar gelir ve hücre artıklarını fagosite ederler. Schwann hücreleri, meningeal hücreler ve fibroblastlar lezyon bölgesine göç eden diğer periferik hücrelerdir. Schwann hücrelerinin yaralı akson miyelinini tamir ederek ve nörotrofik faktörleri salgılayarak aksonal rejenerasyonda rol aldıkları gösterilmiştir.

2.4.3. Geç faz

Yaralanmadan haftalar ve aylar sonrası, akut ve subakut faz olaylarının özölmeye başlamasıyla santral kanal ile birleşmiş, beyin-omurilik sıvısı ile dolu kistik kaviteler gelişir. Omurilikte yara iyileşmesi kistik kavite oluşması ile sonuçlanır. Guizar-Shagun ve ark. omurilik yaralanması sonrası kist gelişmesinde üç evre olduğunu bildirmişlerdir. Nekroz evresi; 1. gün başlar ve travmadan sonraki 1-2. haftaya kadar sürer. Tamir evresi; travmadan sonraki 2. ve 8. haftalar arasındadır. Stabilizasyon evresi; travmadan sonraki 8. haftadan 1 yıla kadar değişir. Travmadan sonraki 3. günde parankimatoz hemorajiler, vasküler trombozis, ödem, aksonal segmentasyon ve enflamatuar infiltrasyon ile birlikte mikro kistik kaviteler görölmeye başlar. Kontüzyondan 2-3 hafta sonra nekrotik dokuyu absorbe eden makrofajlar lezyon bölgesini terk ederken değişik büyüklükte kaviteler oluştururlar. Travmadan 4-5 hafta sonra trabeküler sistem içindeki kistlerin sınırları belirginleşir. Geç lezyonun önemli bir komponentide miyelin kaybıdır. Orta şiddetteki travmalarda akson devamlılığının korunduğı, ancak selektif demiyelinizasyon olduğu gösterilmiştir. Demiyelinizasyon ilk 24. saatte başlar, 2. haftada maksimum seviyesine ulaşır, 3. haftada remiyelinizasyon başlar (121).

2.4.4. Vasküler değişiklikler

Yapılan çalışmalarda travmadan 3-5 dakika sonra gri maddenin bütün bölgelerindeki küçük kapillerler çevresinde multifokal peteşiler oluştuğı ve bu peteşilerin bir miktar beyaz maddeye de uzandığı görölmüştür. Ayrıca daha az sıklıkla perivasküler hemorajinin pia matere kadar beyaz maddenin tüm kolonlarına yayıldığı, posterior kolonu çevreleyen subaraknoid mesafede ciddi hemoraji olduğu ve nedeninin dorsal spinal venin zarar görmesinden kaynaklandığı bulunmuştur. Dolayısıyla anterior sulcus ve anterior subaraknoid mesafedeki kanın sebebinin ise ekstramedüller ven ve arterlerin zarar görmesi olduğu sonucuna varılmıştır (122).

Anterior kolondaki sulkusta bulunan anterior spinal arterin bir veya daha fazla spinal dalının hasar görmesine bağılı olarak fibrinoid nekroz oluşur. Bu durum intra ve perivasküler fibrin birikimine bağılıdır. Benzer değişiklikler posterior spinal arterin ekstramedüller dallarında ve hem beyaz hem de gri madde içindeki değişik çaplardaki

arterlerde de görülür. Zaman ilerledikçe çok daha fazla sayıda intramedüller vasküler nekroz görülür. Yapılan deneysel çalışmalarda, 2-4 saatlik intervalde anterior spinal arterin santral dallarında nekroz olduğu, bu damarların duvarında anevrizmal dilatasyon ve rüptürü genel olarak travmadan sonraki 4-8 saat arasındaki intervalde gözlemlendiği belirtilmektedir (122).

Travmadan hemen sonra yapılan incelemede omuriliğin ortalama % 11'lik kısmında peteşiyel kanamalar olduğu, kanamanın boyutlarının 30 dakika-8saat arasında giderek arttığı ve 8. saatte maksimuma ulaştığı izlenmiştir. 8. saat incelemesinde kanamanın omuriliğin ortalama % 27,8'lik kısmını kapladığı, geniş kanamaların özellikle anterior ve posterior kolonda görülürken lateral kolonda daha az olduğu saptanmıştır (122).

Mikrosirkulatuar obstrüksiyon deney hayvanlarında oluşturulan travmanın en belirgin sekeleridir. Bütün zaman dilimlerinde nekrotik damarlarda fibrin, travmadan hemen sonra non-nekrotik kapillerlerin endotelinde ise şişme ve platelet agregasyonu izlenmiştir. 30 dakikadan 8-24 saate kadar platelet agregatı, fibrin ve eritrositik içeren trombus arttığı dolayısıyla daha geniş damarlardaki eritrositik konjesyon mikrosirkülasyonda bulunan trombus oluşumundaki progresyonla paralellik gösterdiği saptanmıştır. Obstrüktif mikrosirkulatuar değişikliklerin gri maddede beyaz maddeye oranla daha fazla olduğu görülmüştür (122).

2.4.5. Doku nekrozunun gelişmesi

Travmadan 3-5 dk sonra: Travmadan hemen sonra gri maddenin özellikle merkezinde olmak üzere solukluk görüldüğü, bunun nedeni ultrastrüktürel olarak perkarya ve hücre organellerinin ayrışması olduğu gösterilmiştir. Perivasküler prosesler şişen astrositler tarafından işgal edildiği ve ekstrasellüler boşluğun artması sonucu gross olarak gözlenen solukluk beyaz madde kolonlarında da görüldüğü belirtilmiştir (122).

Travmadan sonraki 20 dk ile 2 saat arası: Otuzuncu dakikada H-E kesitlerinde nöronlarda sitoplazmik eozinofili görülmüştür. Elektron mikroskobu görüntülerinde dendrite kadar uzanan astrositlerde intrasellüler şişme, nöronlarda ultrastrüktürel olarak karyoreksis, düz endoplazmik retikulumda şişme ile karakterize glial nekroz izlenmiştir.

Bu nekrotik değişiklikler ve intrasellüler şişme 2 saat boyunca artarak devam ettiği mitokondride diğer hücre organellerine göre göreceli olarak daha az etkilendiği görülmüştür. Beyaz maddedeki artmış ekstrasellüler şişmenin özellikle perisantral bölgede ortaya çıktığı, 1 ve 2. saatlerde sinir liflerindeki şişmenin arttığı ve genişlemiş solid aksonlar şeklinde olduğu görülmüştür. Bu kısımlar H-E boyasında eosinofilik, toluidin boyasında mavi boyanmıştır (122).

Travmadan 4 saat sonra: Gri maddedeki nekroz relatif olarak tamamlandığı bütün hücrelerin perikaryaları homojen olarak eosinofilik boyandığı tespit edilmiştir. Nukleus karyolizise uğradığı, ultrastrüktürel olarak nekrozun bulguları görülmüştür. Hücre perikaryası ve organelleri şişmiş ve granüler yapıda olduğu izlenmiştir. Otografik vakuoller nadir görüldüğü ve dağınık bölgelerde rastlanmıştır. Mitokondriumda ise daha belirgin değişiklikler gözlenmiştir. En yaygın görülen değişikliklerin mitokondrial şişme ve matrix dansitesindeki değişiklikler olduğu, hemen hemen tüm astrositik sitoplazmaların şişmiş olduğu olduğu tespit edilmiştir. Foot-proceslerde double-membran vezikülleri, 1.ve 2. saatlerle karşılaştırıldığında beyaz maddede çok fazla değişiklik göze çarpmıştır. Sadece oligodendroglialarda ultrastrüktürel olarak nekroz bulguları daha belirgin hale geldiği, polimorf nükleer lökositlerin nadiren görüldüğü izlenmiştir (122).

Travmadan 8 saat sonra: Bu zaman diliminde bütün hayvanlarda hem gri hem de beyaz maddede nekrotik değişiklikler tamamlanmış, gri ve beyaz madde arasındaki demarkasyon belirginleşmiştir. Mitokondrial matrix yoğunluğu değiştiiği ve şişme görülmüştür. Bu zaman dilimindeki en belirgin değişiklikler beyaz maddede görülmüş, ekstrasellüler şişme ödeme dönüştüğü ve periferik subpial bölgeye kadar uzandığı tespit edilmiştir. Hemen hemen bütün sinir lifleri anormal yapıda, sıklıkla şişkin ve sferoid görünümde ve ultrastrüktürel olarak nekroz bulguları görülmüştür (122).

Travmadan 1-3 gün sonra: Maksimal değişikliklerin tamamen yerleştiiği, elektron mikroskopi görüntülerinde nekrotik hücre ve organellerin görünümününin 8.saatte görülenlerle benzer olduğu tespit edilmiştir. Bütün aksonal kesitlerde beyaz madde anormal görünümde ve karakteristik olarak granüler ve/veya şişmiş aksoplazmaya sahip olduğu izlenmiştir. Birkaç polimorf lökosit ve makrofaj 1. günde görülmeye başlamış, 3. günde makrofajların içinde intrasellüler hücre elemanları, myelin ovoidleri özellikle

gri madde içinde görülmüştür. Histokimyasal boyalarla yapılan demir ve kalsiyum arama çalışmaları makrofajlar içinde nekrotik dokular bulunduğunu göstermiş ve ultrastrüktürel olarak kalsiyum aksonlarda tespit edilmiştir (122).

Travmadan sonra 1 hafta-1 ay arası: 1. haftadan sonra nekrotik omurilik bölgesinde bulunan makrofajlarda fagositozun arttığı, 2-3 hafta içinde nekrotik dokuların tamamına yakınının makrofajlar tarafından fagosite edildiği gösterilmiştir. Birinci aya doğru makrofajların sayısı azalmaya başlamış ve nekrotik alanlar kistik boşluklar şeklinde görülmüştür (122).

2.5. MODERN FARMAKOTERAPİ ÇALIŞMALARI

Bu süreçte; metilprednisolonun duyuşsal ve motor fonksiyonlarda düzelme yaptığı gösterilmiştir (123). Travma sonrası ilk 3 saat içerisinde başlanırsa 24 saat, 3-8 saat içinde başlanırsa 48 saat uygulamanın daha uygun olacağı yönünde bilgiler elde edilmiştir (93). Akut omurilik yaralanması sonrası endojen opioid seviyesindeki artış ve opioid reseptör aktivasyonu, sekonder hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (93). Selektif bir opioid antagonisti olan naloksanın birçok deneysel çalışmada nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir (76, 93, 124, 125). Kortikosteroidlerin, lipid peroksidasyonunun inhibisyonunda glukokortikoid-reseptör ilişkisinden daha çok antioksidan özelliğine bağlı olduğunun düşünülmesi daha potent bir antioksidan olan 21-aminosteroidin geliştirilmesini sağlamıştır. U74600F (trilazad mestilat) beyin omurilik hasarı üzerine denenmiştir (93, 126, 127). Deneysel santral sinir sistemi travmalarında monoksialoteraheksosilgangliozidin sinir rejenerasyonunu stimüle ettiği ve anterograd-retrograd dejenerasyona karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (93). TRH ve analoglarının endojen opioidler, platelet aktive edici faktör, peptidolökotrienler, ve eksitator aminoasitler gibi birçok otodestruktif faktörü antagonize ettikleri ve deneysel modellerde akut omurilik yaralanmasında olabileceği düşünölmektedir (128, 129). Yine akut omurilik travması sonrası vitamin A, vitamin C, α -tokoferol antioksidanların replasmanı lipid peroksidasyonuna bağlı hasarı azalttığı bildirilmiştir (127). Dihidropridin grubu kalsiyum kanal blokörlerinden nimodipinin yararlı etkilerinin ancak travma öncesi başlandığında ortaya çıktığının görölməsi, tedavinin klinik kullanımının ve pratikliğinin sınırlandırılmasına neden olmuştur (93). NMDA reseptör

antagonistlerinin eksitotoksisiteyi engelleyerek bir tedavi seçeneği olabileceği belirtilmiştir (130). Yüksek doz magnezyum tedavisinin ($MgSO_4$) farelerde akut omurilik hasarı sonrası aksonal fonksiyonlarda anlamlı gelişme sağladığı ve lipid peroksidasyonunda ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir (131). Yine kaspaz-3 aktivitesini azalttığı ve apoptotik doku hasarını azaltarak da tedavi edici potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (132). AMPA-kainat reseptör blokörü NBQX'in glial kaybı azalttığı, hızlı bir fonksiyonel iyileşme sağladığı gösterilmiştir (133). Araşidonik asidin tromboksan, prostaglandinler, ve lökotrienlere dönüşümünden sorumlu olan enzim inhibisyonunu hedef alan tedavi girişimleri akut omurilik yaralanmasında denenmiştir. Siklooksijenaz inhibitörleri, tromboksan sentetaz inhibitörleri, prostoglandin I_2 ile yapılan kombine tedavilerde trombosit agregasyonunun engellendiği, vazodilatatör etki ile mikrosirkülasyonun düzeltildiği grlmştir (93, 134). Atorvastatin tedavisi İNOS, TNF- α ve İL1- β ekspresyonunu azaltarak travma kaynaklı doku nekrozu, nöron ve oligodentrosit apoptozu, demiyelinizasyon ve reaktif gliozise karşı koruma sağlamıştır (135).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilimdalı Üretim ve Saflaştırma Laboratuvarında yapıldı.

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Biyolojisi ve Biyomedikal Uygulama Teknikleri Anabilimdalı Üretim ve Saflaştırma Laboratuvarında üretilmiş 40 adet, erişkin, erkek sprague-dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların ağırlıkları 280-300 gr arasında değişmekteydi. Ortalama ağırlıkları 283 gram idi. Sıçanlar her grupta 8 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Deneyimizde mikrosürüj aletleri, normal cerrahi aletler, operasyon mikroskobu (D.F. Vasconcellos, Brezilya) kullanıldı (Resim 1).



Resim 1: Operasyon mikroskobu

Çalışmamızda ortalama ağırlıkları 280-300gr olan 40 adet erişkin Wistar Albino sıçanı kullanılacaktır. 40 adet sıçan rastgele 5 gruba ayrılacaktır. Sıçanlara 60mg/kg ketamin hidroklorid (periton içi) ve 10mg/kg xylazine (periton içi) ile anestezi uygulandıktan sonra gruplar;

1.GRUP: Sırt 8-10. Omurga kemikleri arası omurga kemiği arka kısmı kaldırılarak normal kontrol omurilik dokusu alınacak.

2.GRUP: Sırt 8-10. omurga kemikleri arası omurga kemiği arka kısmı kaldırılacak ve 0,7 N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 saniye dura dışı travma oluşturulacak.

3.GRUP: Sırt 8-10 omurga kemikleri arası omurga kemiği arka kısmı kaldırılacak ve 0,7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 saniye dura dışı travma oluşturulacak. Erken ameliyat sonrası 30mg/kg hızlı (15dk içerisinde) sonrasında 45 dk beklenip sürekli olarak 5,4mg/kg 4 eşit dozda 23 saat içerisinde periton içi olarak metilprednizalon verilecek.

4.GRUP: Sırt 8-10 omurga kemikleri arası omurga kemiği arka kısmı kaldırılacak ve 0,7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 saniye dura dışı travma oluşturulacak. Erken ameliyat sonrası 1000İU/kg periton içi Eritropoetin uygulanacak.

5.GRUP: Sırt 8-10 omurga kemikleri arası omurga kemiği arka kısmı kaldırılacak ve 0,7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 saniye dura dışı travma oluşturulacak. Erken ameliyat sonrası 30mg/kg hızlı (15dk içerisinde) sonrasında 45 dk beklenip sürekli olarak 5,4mg/kg 4 eşit dozda 23 saat içerisinde periton içi olarak metilprednizalon ve erken ameliyat sonrası 1000İU/kg periton içi Eritropoetin beraber verilecek.

Ameliyat sonrası 24. saat sıçanlar 60mg/kg ketamin hidroklorid (periton içi.) ve 10mg/kg Xylazine (periton içi.) ile anestezi uygulandıktan sonra 100mg/kg sodyumpentotal perfüzyonu ile öldürülerek omurilik örnekleri alınacaktır. Alınan bu örneklerde Malonildialdehit, Süperoksitdismütaz, Katalaz düzeyleri ölçülecektir. Daha

sonra elde edilen parametrik değerler istatistiki testlerle güvenilirliği p değeri 0,05 den küçük veya eşit olacak şekilde değerlendirilecektir (Mann-Whitney U)

3.2. ANESTEZİ

Omurilik travması oluşturmak için cerrahi işlem yapılacak sıçanlara 60 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar, Parke Davis-Eczacıbaşı, İstanbul) i.p. ve 10 mg/kg Xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul) i.p. anestezi uygulandı.

3.3. CERRAHİ İŞLEM

Omurilik travması oluşturmak için cerrahi işlem yapılacak sıçanlara 60 mg/kg ketamin hidroklorid i.p. ve 10 mg/kg ksilazin i.p. anestezi uygulandı. Sıçanlar prone pozisyonda sabitlendikten sonra torakal bölgesi önce PVD iyodin ile sterilize edildikten sonra traşlandı. Cilt traşından sonra tekrar PVD iyodin ile sterilizasyon sağlanarak sıçanlar cerrahiye hazır hale getirildi. Operasyon mikroskobu altında torakal 8-10 arasına 2 cm'lik cilt insizyonu sonrası cilt-ciltaltı geçilip paravertebral adeler sıyrıldı. Torakal 8-10 arası total laminektomi yapılarak spinal kord ortaya kondu (Resim 2, Resim 3). Daha sonra grup II, grup III, grup IV, grup V'deki sıçanlara 0,7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi (FT217T) ile 60 sn süreyle ekstradural klip uygulanarak omurilik hasarı oluşturuldu. Hemostazı takiben, tabakalar anatomisine uygun olarak 3/0 ipek ile kapatıldı.



Resim 2: Travma ncesi omurga görünüşü



Resim 3: Travma öncesi omurilik görünüşü

3.4. SPİNAL TRAVMA OLUŞTURULMASI

Çalışmamızda torakal 8-10 arası total laminektomi sonrası Tator ve Rivliv (137)'in tarif ettiği şekilde, Yaşargil anevrizma klibi (FT217T) ile 60 sn süreyle ekstradural klip uygulanarak omurilik hasarı oluşturuldu.

3.5. İLAÇ UYGULANMASI

Yaptığımız çalışmada saflaştırılmış bir glikoprotein hormon olan epoetin alfa (Eprex, Gürel ilaç ve ticaret, İstanbul) intraperitoneal olarak kullanıldı. Omurilik travması oluşturulan sıçanlarda Grup 3'e erken ameliyat sonrası 3,4mg/kg hızlı (15dk içerisinde) sonrasında 45 dk beklenip sürekli olarak 5,6mg/kg 4 eşit dozda 23 saat içerisinde periton içi olarak metilprednizolon verildi. Grup 4'e erken ameliyat sonrası 1000iu/kg periton içi Eritropoetin uygulandı. Grup 5'e erken ameliyat sonrası 3,4mg/kg hızlı (15dk içerisinde) sonrasında 45 dk beklenip sürekli olarak 5,6mg/kg 4 eşit dozda 23 saat içerisinde periton içi olarak metilprednizolon ve erken ameliyat sonrası 1000iu/kg periton içi Eritropoetin beraber verildi.

3.6. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Doku Homojenizatının Hazırlanması

Medulla spinalis tartılarak, 1/9 oranında 0.1 M fosfat tamponuyla karıştırılarak buz üzerinde, micra marka homojenizatörle 10.000 devir/dk'da 1dk homojenize edildi.

Homojenize edilen örnekler 5000 g' de +4°C'da soğutmalı santrifüjde 5 dakika santrifüj edildi.

Homojenize edilen örneklerin süpernatantlarında siemens advia cihazında protein tayini yapıldı . Doku protein düzeyleri , bos proteini ölçüm kitiyle saptandı. Bu yöntem Piragallol kırmızısı molibdat kompleksinin asidik ph ta proteinlerin protonlaşmış bazik amino gruplarına bağlandığında absorpsiyonda meydana gelen değişikliklerin ölçülmesi esasına dayanır.

Katalaz düzeylerine (Bioxytech catalase-520, katalog numarası 21042 Oxis Research Product kit) ile spektrofotometrik olarak bakıldı . Üzerine fosfat tamponundaki surfaktan ile katalaz karışımından meydana gelen standart konuldu. Daha sonra 500 µl fosfat tamponundaki 10 mM H₂O₂ eklendi ve 1dakika enkübe edildi. 500 µl sodyum azide eklendikten sonra ağzı kapatılarak vortekslemeden karıştırıldı. 20 µl bu karışımdan tüpe konarak üzerine 2 ml HRP (fosfat tamponundaki Horseradish peroksidaz) ve kromogen karışımı (110 µl HRP+110 ml kromogen) eklenerek vortekslemeden karıştırıldı. 10 dakikalık enkübasyon sonrası 520 nm'de adsorbansı okundu. Tüm işlemler oda sıcaklığında yapıldı. Sonuçlar Ünite/g protein olarak verildi.

Malondialdehid (MDA) düzeylerine (Bioxytech MDA-5861 katalog numarası 21044-Oxis Research Product kit) spektrofotometrik yöntem ile bakıldı.TBARS yöntemi hem serbest hem de proteine bağlı MDA ile reaksiyona girdiği için nonspesifik bir reaksiyondur. Bu nedenle MDA-586 yöntemi ile bir hidroliz sonrası serbest MDA düzeyleri ölçülmesi amaçlandı.

Böylece 4-hidroksialkenal gibi diğer lipid peroksitler de sonuçları etkilememiş olacaktır.

Yöntemin esası, bir kromojenik ajan olan 2 mol NMPI (N-methyl-2-phenylidole) ile MDA'in reaksiyona girerek stabil karbocyanin boyası oluşturmaya ve 586 nm'de spektrofotometre ile ölçüme dayanmaktaydı . 10 µl metanoldeki probukol tüpe kondu. Üzerine homojenize edilmiş µl doku ve 640 µl dilüe reagent-1 (NMPI) eklenmesinden sonra vortekslendi. Daha sonra 150 µl reagent-2 (konsantre HCl) eklenmesinden sonra tekrar vortekslendi ve 45 °C'de 60 dakika enkübe edildi. 10.000 devirde 10 dakika santrifüje edildi oluşan berrak bir süpernatant spektrofotometre küvetine alınarak 586 nm'de okundu. Sonuçlar µmol/g doku olarak verildi.

Superoksit dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü: SOD (EC 1.15.1.1.) aktivitesi, ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin, nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanarak ölçüldü. Oluşan süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazan boyayı oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorban verir . (Cayman Chemical Company, Katalog No: 7006002, Ann Arbor, USA). Reaksiyonların oluştuğu kolorimetrik plak Biotek ELISA okuyucu ile 560 nm'de ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisinde belirlenen regresyon ve her örnek için kullanılan lineerize hız kullanılarak aktivite tanımı yapılmış ve sonuçlar U/mg yaş doku ağırlığı olarak verilmiştir.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında parametreler normal dağılıma uygunluk göstermediğinden parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı.

Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Tablo 8: Veri Seti

GRUP	MDA	CATALASE	SOD
1	6,30	6,97640	14,760
1	4,40	8,13920	14,260
1	5,80	7,69200	22,960
1	4,56	8,76560	13,260
1	6,53	14,93960	18,460
1	6,52	16,81840	17,820
1	4,76	14,40280	21,960
1	6,40	9,66040	23,660
2	12,61	3,49344	8,100
2	10,97	1,80900	4,020
2	8,92	3,04806	3,460
2	9,53	3,16025	9,330
2	12,20	3,01056	5,980
2	11,84	2,96890	8,970
2	16,86	1,04240	7,980
2	11,84	1,29474	5,985
3	4,40	4,34344	10,125
3	11,20	4,66205	3,312
3	5,00	4,45085	4,446
3	11,20	3,36909	9,250
3	7,40	5,74728	10,550
3	11,20	2,18882	12,238
3	6,10	4,02145	9,350
3	13,02	4,26676	5,050
4	12,69	4,36052	17,200
4	15,30	9,84969	0,350
4	10,10	7,46297	0,450
4	1,43	4,78716	7,300
4	7,07	5,53789	19,350
4	16,10	8,58456	19,350
4	4,40	7,61593	18,700
4	1,38	6,77614	8,750
5	11,38	9,03346	13,407
5	1,63	5,39407	15,925
5	5,43	4,60551	19,600
5	4,40	6,15266	5,370
5	9,74	5,49345	17,343
5	16,30	5,00666	22,509
5	12,40	6,44209	15,410
5	4,61	4,98511	18,704

1; Grup 1: Kontrol Grubu (Travmasız, sağlıklı grup)

2; Grup 2: Travma Grubu (Travmalı, ancak tedavi verilmeyen grup)

3; Grup 3: Prednizolon Grubu (Travmalı+ Prednizolon tedavisi verilen grup)

4; Grup 4: Eritropoetin Grubu (Travmalı+ Eritropoetin (Epo) tedavisi verilen grup)

5; Grup 5: Epo+ Prednizolon Grubu (Travmalı+ Kombine tedavi verilen grup)

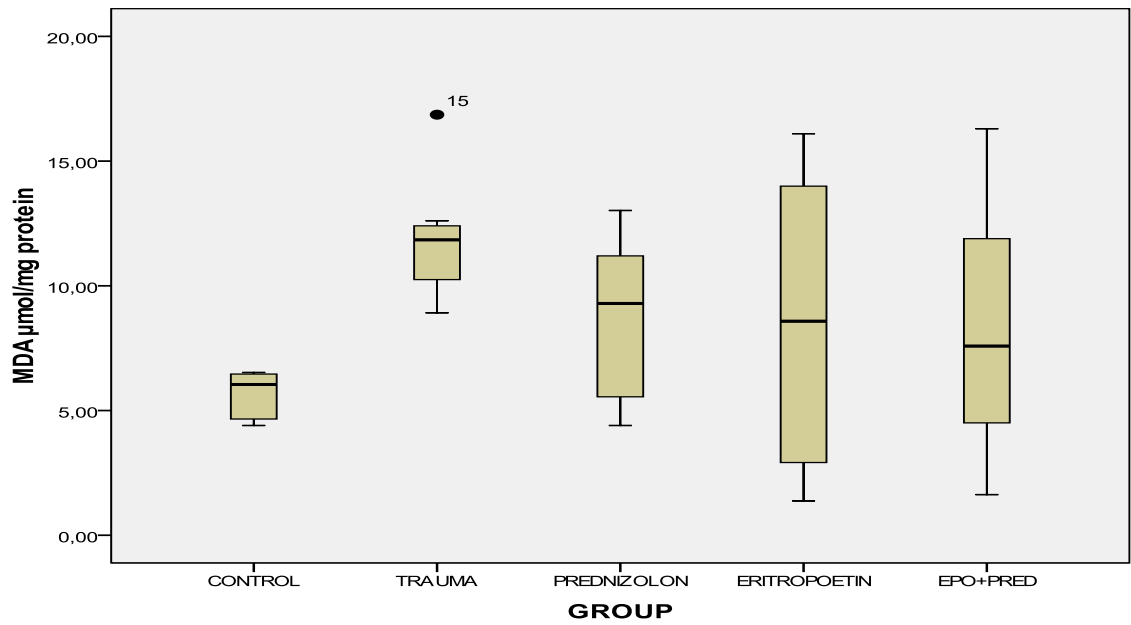
Elde edilen veriler **ortalama ± standart sapma** şeklinde verilmiştir.

Tablo 9: Biyokimyasal Veri Özetleri

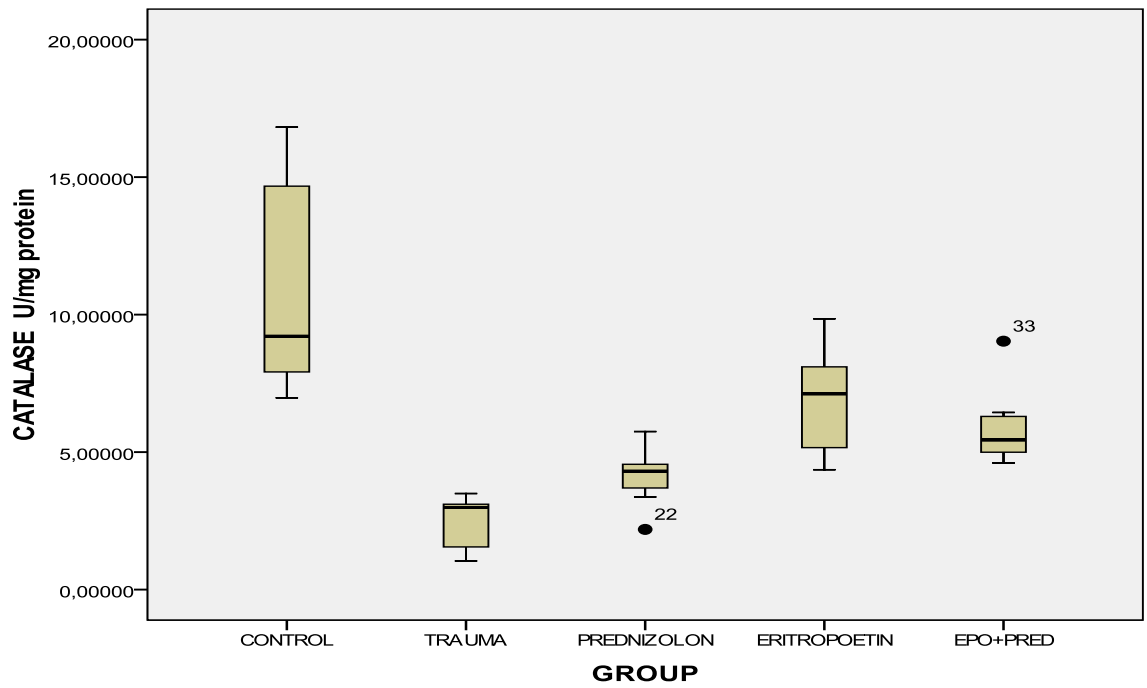
		Çalışılan Parametreler		
		MDA µmol/mg protein	KATALAZ U/mg protein	SOD mU/mg protein
Grup 1.	KONTROL	5.65 ± 0.93	10.92 ± 3.83	18.39 ± 4.11
Grup 2.	TRAVMA	11.84 ± 2.40	2.47 ± 0.94	6.72 ± 2.21
Grup 3.	PREDNİZOLON	8.69 ± 3.33	4.13 ± 1.02	8.04 ± 3.28
Grup 4.	ERİTROPOETİN (Epo)	8.55 ± 5.89	6.87 ± 1.89	11.43 ± 8.27
Grup 5.	Epo + Prednizolon	8.23 ± 4.98	5.88 ± 1.40	16.03 ± 5.13

Kutuların dikey uzunlukları, verilerin yaygınlığının ölçüsü olup, gruptan gruba sistematik olmayan bir farklılık göstermektedir.

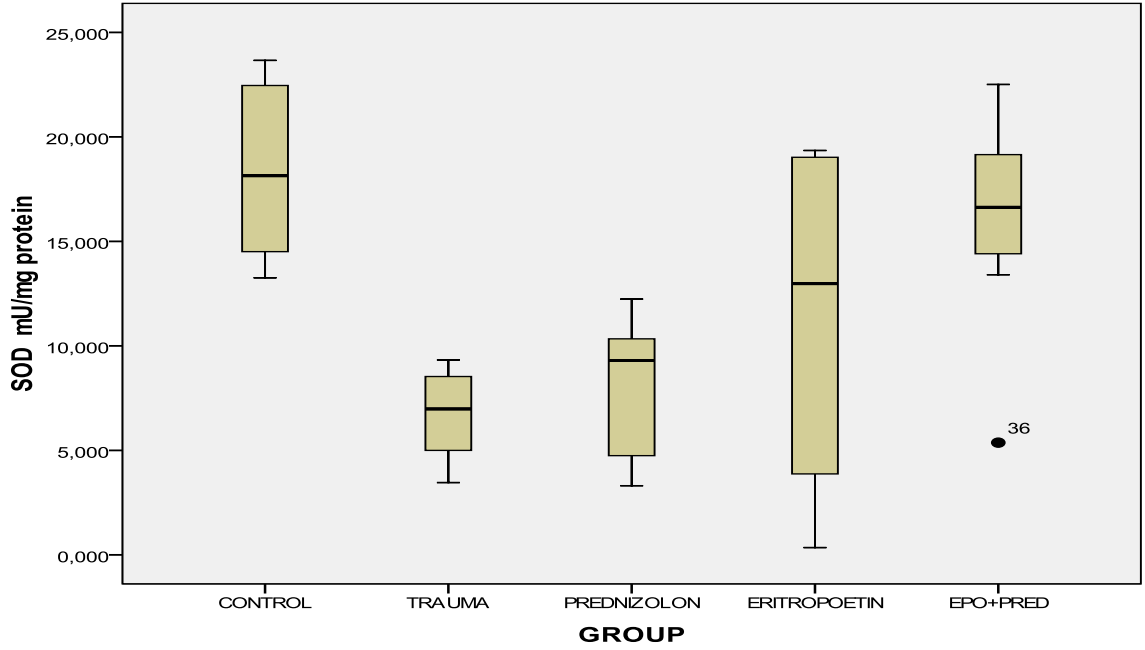
MDA



KATALAZ



SOD



İSTATİSTİK SONUÇLARI

Gruplar arası çoklu karşılaştırma amacıyla yapılan Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre; % 95 güven aralığı ve $p < 0.05$ anlamlılık seviyesinde, MDA parametresi açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktur ($p = 0.085$). Ancak, ikili grup karşılaştırmalarında, yalnızca, Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir ($p = 0.001$).

Katalaz ($p = 0.000$) ve SOD ($p = 0.001$) parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır.

Kontrol grubuna göre ve travma grubuna göre ayrı ayrı olmak üzere; ikili gruplar arasında Bonferonni Düzeltmeli (Adjusted) Mann-Whitney testi yapılmıştır.

Kontrol grubu ile ; (Grup 1-Grup 2), (Grup 1-Grup 3), (Grup 1-Grup 4), (Grup 1-Grup 5) şeklinde ikili grup karşılaştırmaları yapılmış, anlamlılık seviyesi $p < 0.0125$ kabul edilmiştir.

Buna göre;

MDA parametresi açısından,

İkili grup karşılaştırmalarında, yalnızca, Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir ($p= 0.001$).

Katalaz parametresi açısından,

Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, ortalama katalaz seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, ortalama katalaz seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.021$).

Kontrol grubu (Grup 1) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.003$). Kontrol grubunda, ortalama katalaz seviyesi daha yüksektir.

SOD parametresi açısından,

Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, ortalama SOD seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, ortalama SOD seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.141$).

Kontrol grubu (Grup 1) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.529$).

Travma grubu ile ; (Grup 2- Grup 3), (Grup 2- Grup 4), (Grup 2- Grup 5) şeklinde ikili grup karşılaştırmaları yapılmış, anlamlılık seviyesi $p < 0.0166$ kabul edilmiştir.

Buna göre;

Katalaz parametresi açısından,

Travma grubu (Grup 2) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p = 0.006$). Prednizolon grubunda, ortalama katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubu (Grup 2) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p = 0.001$). Eritropoetin grubunda, ortalama katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubu (Grup 2) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p = 0.001$). Epo+ Prednizolon grubunda, ortalama katalaz seviyesi daha yüksektir.

SOD parametresi açısından,

Travma grubu (Grup 2) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p = 0.248$).

Travma grubu (Grup 2) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p = 0.293$).

Travma grubu (Grup 2) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p = 0.006$). Epo+ Prednizolon grubunda, ortalama SOD seviyesi daha yüksektir.

ÇOKLU GRUP KARŞILAŞTIRMASI

Yapılan Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre;

% 95 güven aralığı ve $p < 0.05$ anlamlılık seviyesinde,

MDA parametresi açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktur ($p = 0.085$). Ancak, ikili grup karşılaştırmalarında, yalnızca, Kontrol grubu (Grup 1) ve Travma grubu (Grup 2) arasında, MDA parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir ($p = 0.001$).

Katalaz ($p = 0.000$) ve SOD ($p = 0.001$) parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır.

Test Statistics ^{a,b}			
	MDA	CATALASE	SOD
Chi-Square	8,199	31,070	17,744
Df	4	4	4
Asymp. Sig.	,085	,000	,001

a. Kruskal Wallis Test, b. Grouping Variable: GROUP

İKİLİ GRUP KARŞILAŞTIRMASI

Kontrol grubuna göre ve travma grubuna göre ayrı ayrı olmak üzere, hangi grubun farklı olduğunu bulmak üzere, gruplar arasında Bonferonni Düzeltmeli (Adjusted) Mann-Whitney testi yapılmıştır.

Kontrol grubuna göre ;

Grup 1- Grup 2

Grup 1- Grup 3

Grup 1- Grup 4

Grup 1- Grup 5

şeklinde karşılaştırmalar yapılmış ve anlamlılık seviyesi ($p < 0.05$), karşılaştırma sayısına bölünerek (4); herbir testte dikkate alınacak önemlilik seviyesi $p < 0.0125$ kabul edilmiştir.

Buna göre;

Katalaz parametresi açısından,

Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.021$).

Kontrol grubu (Grup 1) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.003$). Kontrol grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

SOD parametresi açısından,

Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, SOD seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, SOD seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.141$).

Kontrol grubu (Grup 1) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.529$).

Travma grubuna göre ;

Grup 2- Grup 3

Grup 2- Grup 4

Grup 2- Grup 5

şeklinde karşılaştırmalar yapılmış ve anlamlılık seviyesi ($p<0.05$), karşılaştırma sayısına bölünerek (3); her bir testte dikkate alınacak önemlilik seviyesi $p< 0.0166$ kabul edilmiştir.

Buna göre;

Katalaz parametresi açısından,

Travma grubu (Grup 2) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p= 0.006). Prednizolon grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubu (Grup 2) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p= 0.001). Eritropoetin grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubu (Grup 2) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p= 0.001). Epo+ Prednizolon grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

SOD parametresi açısından,

Travma grubu (Grup 2) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p= 0.248).

Travma grubu (Grup 2) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p= 0.293).

Travma grubu (Grup 2) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p= 0.006). Epo+ Prednizolon grubunda, SOD seviyesi daha yüksektir.

ÇOKLU GRUP KARŞILAŞTIRMASI

Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi sonuçları (% 95 CI ve p< 0.05)

Test Statistics ^{a,b}			
	MDA	CATALASE	SOD
Chi-Square	8,199	31,070	17,744
df	4	4	4
Asymp. Sig.	,085	,000	,001

a. Kruskal Wallis Test, b. Grouping Variable: GROUP

MDA açısından gruplar arasında anlamlı fark olmadığı için ($p=0.085$), ikişer grup karşılaştırmalarında yalnızca Katalaz ve SOD sonuçları dikkate alınmıştır. Ancak, ikili grup karşılaştırmalarında da, Kontrol grubu (Grup 1) ve Travma grubu (Grup 2) arasında, MDA parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir ($p= 0.001$).

İKİLİ GRUP KARŞILAŞTIRMASI

Bonferonni Düzeltmeli (Adjusted) Mann-Whitney testi sonuçları

Kontrol grubuna göre ;

Dikkate alınacak önemlilik seviyesi $p < 0.0125$ kabul edilmiştir.

Grup 1- Grup 2 (Kontrol- Travma)

Test Statistics ^b			
	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	,000	,000	,000
Wilcoxon W	36,000	36,000	36,000
Z	-3,363	-3,361	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001	,001	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^a	,000 ^a	,000 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

Grup 1- Grup 3 (Kontrol - Prednizolon)

Test Statistics ^b			
	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	16,500	,000	,000
Wilcoxon W	52,500	36,000	36,000
Z	-1,634	-3,361	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,102	,001	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,105 ^a	,000 ^a	,000 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

Grup 1- Grup 4 (Kontrol - Eritropoetin)

Test Statistics ^b			
	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	23,500	10,000	18,000
Wilcoxon W	59,500	46,000	54,000
Z	-,893	-2,310	-1,471
Asymp. Sig. (2-tailed)	,372	,021	,141
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,382 ^a	,021 ^a	,161 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

Grup 1- Grup 5 (Kontrol - Epo+Prednizolon)

Test Statistics ^b			
	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	26,500	4,000	26,000
Wilcoxon W	62,500	40,000	62,000
Z	-,578	-2,941	-,630
Asymp. Sig. (2-tailed)	,563	,003	,529
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,574 ^a	,002 ^a	,574 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

Travma grubuna göre ;

Dikkate alınacak önemlilik seviyesi $p < 0.0166$ kabul edilmiştir.

Grup 2- Grup 3 (Travma - Prednizolon)

Test Statistics ^b			
	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	16,000	6,000	21,000
Wilcoxon W	52,000	42,000	57,000
Z	-1,687	-2,731	-1,155
Asymp. Sig. (2-tailed)	,092	,006	,248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,105 ^a	,005 ^a	,279 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

Grup 2- Grup 4 (Travma - Eritropoetin)

Test Statistics^b

	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	23,000	,000	22,000
Wilcoxon W	59,000	36,000	58,000
Z	-,946	-3,361	-1,051
Asymp. Sig. (2-tailed)	,344	,001	,293
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,382 ^a	,000 ^a	,328 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

Grup 2- Grup 5 (Travma – Epo+Prednizolon)

Test Statistics^b

	MDA	CATALASE	SOD
Mann-Whitney U	18,000	,000	6,000
Wilcoxon W	54,000	36,000	42,000
Z	-1,471	-3,361	-2,731
Asymp. Sig. (2-tailed)	,141	,001	,006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,161 ^a	,000 ^a	,005 ^a

a. Not corrected for ties, b. Grouping Variable: GROUP

5. TARTIŞMA

Akut omurilik yaralanmasında ikincil hasardan korunma, nöroproteksiyon olarak adlandırılmaktadır. Bu amaçla ilaç tedavileri doku oksijenlenmesinin düzeltilmesi, omurilik basısının kaldırılması, omurganın stabilizasyonu gibi birçok medikal ve cerrahi yaklaşım denenmektedir. Bu amaçla son 20 yılda omurilik yaralanmasında farmakolojik korumaya yönelik pek çok çalışma yapılmış, ancak bunların hiç biri insanda kullanılacak standart tedavi olamamıştır.

İkincil yaralanma, birincil yaralanmayı izleyerek dakikalar, saatler içinde başlayıp haftalarca devam eden bir süreçtir. Birincil yaralanmayı tedavi etmek mümkün değildir. Sekonder yaralanmaya yönelik araştırmaların amacı, birincil yaralanmadan sonra hala canlılığını ve distal nöronlarla bağlantılarını, lezyon bölgesindeki nöronları korumaya, dayanıklılıklarını artırmaya veya bunlara zarar verecek olan patolojik süreçleri durdurmaya yönelik farmakolojik ajanların ve önlemlerin bulunması ve kullanılmasıdır (139).

Yaralanma sonrasında ilk birkaç gün içerisinde omurilikte oluşan lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler, klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır (13). Omurilik yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, omurilikleri yaralanmış hastalarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya çıkmıştı (140). Omurilik yaralanması sonrasında omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve enfarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Ducker bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak, hasardan sonraki 6. güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (35). Nemecek bu ciddi nekrozu otodestruksiyon olarak tanımlamıştır (36). Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler; glutamaterjik, kolinerjik ve katokolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri,

nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır.

Geçen yıllar akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgiye sahip olmayı sağlamasına rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili, aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunmamış olması nedeni ile özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir (94). Geliştirilmeye çalışılan modern farmakolojik tedavi protokolleri ilerleyici nöron hasarının azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekeli en aza indirmeyi amaçlamaktadır.

Omurilik yaralanması sonrası meydana gelen hücre ölümü, son zamanlara kadar doku hasarına eşlik eden iskemik ve inflamatuvar reaksiyonların bir sonucu olarak gelişen nekrozis ile açıklanmıştır (141). Ayrıca daha önce sadece santral sinir sisteminin gelişim sürecinde var olduğu düşünülen apoptozisin post travmatik omurilik dejenerasyonunda ve nöral hasarda önemli bir rol üstlendiği bilinmektedir (113, 142). Crowe ve ark. omuriliğin primer yaralanması sonrasında tetiklenen sekonder yaralanma mekanizmalarının apoptozisin başlamasına ve ilerleyici bir nörodejenerasyona neden olduğunu rapor etmişlerdir (106). Anderson ve ark. akut omurilik yaralanması sonrasında ortaya çıkan nörolojik hasarın primer yaralanma ile birlikte sekonder yaralanmayı izleyen nekroz ve daha geç dönemde görülen apoptozise bağlı olduğunu göstermişlerdir (143). Liu ve ark. omurilik travması sonrasında 4. ve 9. günler arasında nöronal ve glial apoptozisi ortaya koymuşlardır (113). Lu ve ark. tarafından kontüzyon yaralanması sonrasında ilk 5 dakika içinde nöronal ve glial apoptotik hücre görülmemesine rağmen lezyon sahasında 4. saat ile 14. gün arasında apoptozisin olduğunu ve 24. saatte pik yaptığını göstermişlerdir (25). Omurilik travmasında özellikle kaspaz-1 ve kaspaz-3'ün aktive olarak apoptozisi başlattığı tespit edilmiştir (144). Emery ve ark. yaptığı çalışmada omurilik yaralanmasını takiben kaspaz-3 aktivasyonunu insan omuriliğinde göstermişlerdir (107). Yine Li ve ark. yaptığı bir çalışmada, sıçanlarda oluşturulan omurilik travması sonrasında kaspaz-3 inhibisyonunun belirgin olarak lezyon sahasını azalttığı ve motor fonksiyonları iyileştirdiği vurgulanmıştır (144). Günümüzde omurilik yaralanması sonrası hücre ölümünün apoptotik kaskadına yönelik terapötik korunma çabaları önem kazanmıştır (93).

Biz yaptığımız bu çalışmada akut omurilik travması oluşturulmuş sıçanlarda recombinant human eritropoietinin tek başına ve metilprednizolonla birlikte kullanımının malonildialdehit, süperoksitdismutaz ve katalaz üzerine olan etkilerini biyokimyasal olarak inceledik.

Eritropoietinin eritropoietik aktivitesi uzun yıllardır biliniyordu. Beyin ve omurilikteki glial hücrelerde ve nöronlarda eritropoietin ve eritropoietin reseptör varlığı son zamanlarda tanımlanmıştır (145). Güncel çalışmalar santral sinir sisteminde eritropoietin reseptörü ve eritropoietinin salgılandığını göstermektedir (146, 147, 148, 149). Grosso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada travmaya uğramış sıçanların nöronlarında, glial hücrelerinde, vasküler endotelinde eritropoietin ve eritropoietin reseptörlerinin arttığını, bu artışın travma sonrası 8. saatte başlayıp, 8. günde pik yaparak kademeli şekilde azaldığını ve travmadan 2 hafta sonra oldukça düştüğünü göstermiştir (150). Yine Grosso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada eritropoietin ve eritropoietin reseptörlerinin travma sonrası yüksek seviyede arttığı, travmaya uğramamış nöron ve glial hücrelerde ise daha düşük eritropoietin ve eritropoietin reseptörleri salgılandığı gösterilmiştir. Bu bulgular diğer bir çok çalışma bulguları ile uyumlu bulunmuştur (146, 147, 149, 151, 152, 153).

Günümüzde araştırmalar sonrasında edinilen bilgi, endojen üretilen eritropoietin, santral sinir sisteminde önemli bir rol oynamaktadır (150). İn vitro yapılan çalışmalarda nöron ve nöron benzeri hücrelerde eritropoietinin koruyucu bir etkisi olduğu saptanmıştır (153, 154). Yine in vivo deneysel çalışmalar göstermiştir ki rekombinant human eritropoietinin fokal iskemide, travmatik beyin hasarında, inflamasyonda, omirilik yaralanmasında ve subaraknoid kanamada nöron hasarını azaltmaktadır (146, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162).

Grosso ve arkadaşları deneysel subaraknoid kanamada, sistemik uygulanan rekombinant human eritropoietinin kan beyin bariyerini geçtiğini ve eritropoietinin serebral vazospazmı ve beyin iskemisini azalttığını göstermiştir (159). Recombinant human eritropoietinin ilk klinik kullanımı olarak akut inmeli hastaların bir aylık takiplerinde oldukça iyi geri dönüşüm tespit edilmiştir (163, 164).

Eritropoietinin santral sinir sistemi üzerine mekanizması net olmamakla birlikte günümüz bilgileri dahilinde hemopoietik ve nöroprotektif özelliği farklı sinyal

sistemleri üzerinden etki göstermektedir. Nöroprotektif etkiyi oluşturan reseptör ile hemopoietik etkiyi oluşturan reseptör birbirinden farklıdır (151).

Nöroproteksiyonun sağlanması konusunda birçok olası mekanizma tarif edilmiştir. Eritropoietinin nöronları kalsiyum kanallarını aktive ederek glutamat toksisitesinden koruduğu ifade edilmiştir (153, 165). Yine Kawakami ve ark. eritropoietin reseptörünün aracılık ettiği glutamat inhibisyonunun serebral iskemide nöronları koruduğunu göstermiştir (166). Sakanaka ve ark. eritropoietinin nöronlardaki antioksidan enzimleri aktive ettiğini vurgulamıştır (167). Bernaudin ve ark. ise eritropoietinin angiogenezi ve böylece doku kanlanmasını ve oksijenizasyonunu artırarak nöroproteksiyon sağladığını göstermiştir (146). Akisu ve ark. yaptığı çalışmada eritropoietinin lipid peroksidasyonunu inhibe ederek nöroproteksiyonun sağlandığını saptamışlardır (168).

Güncel in vivo ve in vitro nöral travma modellerinde eritropoietinin antiapoptotik etkisi gösterilmiştir (156, 169, 170). Eritropoietin bu antiapoptotik etkiyi çeşitli mekanizmalar yardımı ile gerçekleştirir. Travma sonrası inflamatuvar hücrelerin omurilikte birikimi ile İL-6 gibi sitokinler sekrete edilir (171). Yang ve ark. apoptozis ve inflamatuvar yanıtın oluşumunda rol oynayan İL-1 β , İL-6, ve TNF- α 'nın santral sinir sistemi hücrelerinden salındığını göstermiştir (172). Eritropoietin kullanan hemodiyaliz hastalarında TNF ve İL-10 seviyesi düşmektedir (173). Bununla birlikte Villa ve arkadaşları orta serebral arter oklüzyonu sonrası oluşan iskemik beyin hasarında eritropoietin kullanarak İL-6 ve TNF seviyesini düşürmüştür (174). İL-6 seviyesinin nötralize olması; İNOS aktivitesini oldukça düşürmekte, yapısal değişiklikleri en aza indirmekte, reaktif gliozisi suprese etmekte ve deneysel omurilik travmasında fonksiyonel geri dönüşümü arttırmaktadır (171, 175). Yine İL-6 ve TNF- α üretiminin eritropoietin ile inhibe edildiği ve oligodentrositlerde apoptozisin azaltıldığı gösterilmiştir (176).

Apoptozisin gelişiminde önemli rol oynayan kaspaz-3'ün aktivasyonunun eritropoietin tedavisi ile oldukça düştüğü saptanmıştır (177).

Aynı zamanda eritropoietinin direkt antiinflamatuvar etkisinde söz konusudur (169, 178).

Eritropoietinin antiapoptotik etkisinin bir başka yoluda gen ekspresyonunun düzenlenmesidir (179). Wen ve ark. eritropoietinin Bcl/Bax oranını, Bcl₂ seviyesini arttırarak antiapoptotik yöne kaydırıldığını tespit etmişlerdir (180).

Yine eritropoietinin JAK₂ aktive ederek nükleer faktör – KB sinyal yolunu harekete geçirerek nöroproteksiyon sağlamaktadır (181).

Eritropoietinin etki mekanizmaları ve klinik sonuçları araştırmacılar tarafından farklı deney modellerinde çalışılmıştır.

Son yıllarda serbest radikal hasarının nöral doku iskemisini takiben meydana gelen patolojik değişikliklerden sorumlu olduğu gösterilmiştir (182).

Serbest radikaller normal koşullarda mitokondride oluşur ve antioksidan sistemler ile zararlı etkileri engellenir (70). Medulla spinalis yaralanmalarından sonra endojen antioksidanların ve süperoksit dismutazın azalması serbest radikallerde aşırı birikime yol açar.

Biriken serbest radikaller hücre lipidlerine, proteinlerine ve DNA ya zarar verir (71,70). Tüm bu olaylar, superoksit radikal oluşumuna yol açar. Muhtemelen post travmatik birkaç saat veya günler içerisinde aktive olan mikroglia ve infiltrat nötrofiller ile makrofajlarda ilave superoksit radikal oluşturmaktadır (25). Serbest radikaller hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler ancak bu etkileşime en hassas yapılar lipidlerdir (183). Yüksek oranda poliansatüre yağ asitleri içeren hücre membranının yıkılması, serbest radikallere bağlı nöronal hasar oluşmasının en önemli aşamasıdır (184). Serbest yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır (71). Hücre membranında meydana gelen lipid peroksidasyonu membran lipoproteinlerinin oksidasyonu ve yapısal bütünlüğün bozulmasına yol açarak, anormal iyon girişiyle birlikte hücre ölümüne neden olur.

Bu olayın kontrol edilememesi halinde oluşan zincir reaksiyon ile hücre ölümünün yayılması ortaya çıkar (185). Ayrıca oluşan lipid peroksidasyonu ile birlikte mikrovasküler endotel hasarı oluşarak kan beyin bariyerinin bozulduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (70).

Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan MDA gibi ara ürünler aracılığı ile lipid peroksidasyon düzeyi tayin edilmektedir (186). Vücutta aşırı serbest radikal oluşumunu engelleyen ya da oluşmuş olan serbest radikalleri yok etme işlevine sahip bir çok antioksidan mekanizma mevcuttur (73). Hücrelerde membran fosfolipidlerinin polidoymamış yağ asitleri, spontan olarak veya oksidan metabolitlerin bağlanması sonucu kolayca oksidlenebilirler ve peroksid türevlerine dönüşebilirler. Serbest oksijen radikalleri oluşmasının eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan faktör E vitamindir; vücudun diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutation peroksidaz ve β -karoten gibi) söz konusu olay üzerinde E vitamini kadar etkili değildirler. E vitamini, hücre ve subsellüler yapıların membran lipidleri üzerindeki bu etkisi nedeniyle bu membranları oksidatif zedelenmeye karşı korur (66).

Biz çalışmamızda Eritropoietinin nöroprotektif özelliğinin süperoksidismutaz, katalaz ve lipid peroksidasyon ürünü olan ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunu belirlemede kullanılan malonildialdehit düzeyleri üzerine etkisini biyokimyasal olarak incelemeyi planladık.

Literatürde Barut ve ark.nın yaptıkları spinal kord travması sonrası lipid peroksidasyon ölçüm çalışmasında, 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.(71)

Kaynar ve arkadaşları; omurilikte oluşturulan travmadan 1 saat sonra nimodipin ve NAS'ın etkinliğini doku lipid peroksidasyon düzeyini ölçerek değerlendirmişlerdir. Ölçülen MDA sonuçlarına göre tek doz uygulanan NAS'ın deneysel omurilik travmalarında lipid membranlarındaki peroksidasyona etkisinin olmadığını göstermişlerdir (187)

Kaptanoğlu ve ark. , deneysel omurilik travmasında tiyopental ve propofolün antioksidan etkileri ve mikroyapısal bulgularını araştırmışlardır. Kontüzyon yapılan ratlarda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA düzeylerinin arttığını bulmuşlardır.Tiyopental ve propofolün lipid peroksidasyonunu azalttığını ancak propofolün mikroyapıyı düzeltmediğini göstermişlerdir.(188)

Bizim çalışmamızda MDA düzeyleri;Grup Kontrol (5.65 ± 0.93 $\mu\text{mol/mg}$ protein),Grup Travma (11.84 ± 2.40 $\mu\text{mol/mg}$ protein), Grup Prednizalon (8.69 ± 3.33 $\mu\text{mol/mg}$ protein), Grup eritropoietin (Epo) (8.55 ± 5.89 $\mu\text{mol/mg}$ protein), Grup Eritropoietin+Prednizalon (8.23 ± 4.98 $\mu\text{mol/mg}$ protein) olarak bulundu. MDA parametresi açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.085$). Ancak, ikili grup karşılaştırmalarında, yalnızca, Kontrol grubu (Grup 1) ve Travma grubu (Grup 2) arasında, MDA parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gösterilmiştir ($p= 0.001$).

Hancı ve arkadaşlarının metilprednizolon, N-asetilsistein (NAC) ve metilprednizolonla kombine N-asetilsistein (NAC) tedavisinin, sıçanlarda oluşturulan deneysel spinal kord hasarlanmasındaki biyokimyasal etkinliğini karşılaştırdığı çalışmada, gruplarda ortalama malondialdehid (MDA) değerleri Grup Metilprednizalon, Grup N-Asetilsistein, Grup Metilprednizalon+N-Asetilsistein’de, Grup Kontrol’e göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ortalama süperoksit dismutaz (SOD) değerleri ise, Grup Metilprednizalon, Grup N-Asetilsistein, Grup Metilprednizalon+N-Asetilsistein’de, Grup Kontrol’e göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Grup Metilprednizalon ile Grup N-asetilsistein arasında ortalama MDA ve SOD değerleri açısından anlamlı farklılık görülmemiştir(189).

Bizim çalışmamızda;

SOD parametresi açısından.

Kontrol grubuna göre ;

Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, SOD seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, SOD seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.141$).

Kontrol grubu (Grup 1) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.529$).

Travma grubuna göre ;

Travma grubu (Grup 2) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.248$).

Travma grubu (Grup 2) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.293$).

Travma grubu (Grup 2) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.006$). Epo+ Prednizolon grubunda, SOD seviyesi daha yüksektir.

Katalaz parametresi açısından,

Kontrol grubuna göre ;

Kontrol grubu (Grup 1) ile Travma grubu (Grup 2) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Kontrol grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p= 0.021$).

Kontrol grubu (Grup 1) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.003$). Kontrol grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubuna göre ;

Travma grubu (Grup 2) ile Prednizolon grubu (Grup 3) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.006$). Prednizolon grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubu (Grup 2) ile Eritropoetin grubu (Grup 4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Eritropoetin grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Travma grubu (Grup 2) ile Epo+ Prednizolon grubu (Grup 5) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p= 0.001$). Epo+ Prednizolon grubunda, katalaz seviyesi daha yüksektir.

Çalışmamızda, literatürle uyumlu şekilde travmanın Malonildialdehit değerlerini yükselttiğini, Süperoksitdismutaz ve Katalaz değerlerini düşürdüğünü gözlemledik. Yaptığımız çalışmanın biyokimyasal verilerinin istatistiki değerlerine göre akut spinal kord hasarı sonrası Eritropoietin tek başına Malonildialdehit değerlerini Metilprednizalona göre anlamlı düzeyde düşürmekte, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeylerini anlamlı düzeyde yükseltmektedir. Eritropoietin ve Metilprednizalon birlikte kullanımı ise Malonildialdehit değerlerini ayrı ayrı kullanımlarından daha fazla düzeyde düşürmekte, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeylerini daha fazla düzeyde yükseltmektedir.

Bugünkü bilgilerimizle eritropoietinin nöral travma yönetiminde kullanılacak bir ajan olabilmesi için doz ve süre yönetimini daha geniş serilerde çalışılmaya gerek vardır.

6. SONUÇ

Yaşargil anevrizma klipi yöntemi ile oluşturulan akut omurilik yaralanmasında eritropoietinin metilprednizalonla karşılaştırmalı ve birlikte kullanımının malonildialdehit, süperoksitdismutaz ve katalaz üzerine etkileri biyokimyasal olarak araştırıldı.

Elde edilen değerler istatistiksel olarak incelendi;

1) Omurilik travmasında Malonildialdehit düzeyi artar, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeyleri azalır.

2) Eritropoietin uygulaması spinal travma modelinde Malonildialdehid düzeyini azaltır, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeylerini artırır.

3) Tek başına Eritropoietin uygulaması Malonildialdehit düzeyini Metilprednizalona göre daha fazla düzeyde azaltır, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeylerini Metilprednizalona göre daha fazla düzeyde artırır.

4) Eritropoietin ve Metilprednizalon birlikte kullanımı Malonildialdehit düzeyini ayrı ayrı kullanımlarından daha fazla düzeyde azaltır, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeylerini ayrı ayrı kullanımlarından daha fazla düzeyde artırır.

Biyokimyasal test sonuçları istatistiksel analiz yapılarak değerlendirildi,

Çalışmamızda, omurilik travmasında tek başına Eritropoietin uygulaması Metilprednizalona göre daha anlamlı oranda Malonildialdehit düzeyini azaltırken, Süperoksitdismutaz ve Katalaz düzeylerini arttırmakta, Eritropoietin ve Metilprednizalon birlikte kullanımı sinerjistik etki göstererek daha da anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Nöroprotektif bir ajan olan Eritropoietinin Metilprednizalon ile birlikte kullanım tedavisinin başka çalışmalarla da desteklenerek omurilik travmasına uğramış kişilerde faydalı olabileceğini düşünmekteyiz, ancak klinik kullanım için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Bu çalışmada, Yaşargil anevrizma klibi yöntemi ile akut omurilik travması oluşturulmuş sıçanlardaki rekombinant human eritropoietinin(r-HuEPO) Metilprednizolon ile karşılaştırılmalı ve birlikte kullanımının Malonildialdehit, Süperoksit Dismutaz ve Katalaz üzerine etkileri araştırıldı.

Çalışmamızda ortalama ağırlıkları 280-300gr olan 40 adet erişkin Wistar Albino sıçanı kullanıldı. 40 adet sıçan rastgele 5 gruba ayrıldı. Her biri 8 sıçandan oluşan Grup I (kontrol grubu), Grup II (travma grubu), Grup III (travma+metilprednizolon grubu) ve Grup IV (travma+eritropoietin grubu),Grup V (travma+metilprednizolon+eritropoietin grubu) olmak üzere toplam 5 gruba ayrıldı. Omurilik travması sonrası Grup III' e erken post-op 30mg/kg hızlı (15dk içerisinde) sonrasında 45 dk beklenip sürekli olarak 5,4mg/kg 4 eşit dozda 23 saat içerisinde periton içi olarak metilprednizolon verildi; Grup IV'e erken post-op 1000IU/kg periton içi Eritropoietin uygulandı; GrupV'e erken post-op 30mg/kg hızlı (15dk içersinde),sonrasında 45 dk beklenip sürekli olarak 5,4mg/kg 4 eşit dozda 23 saat içerisinde periton içi olarak metilprednizolon ve erken post-op 1000IU/kg periton içi Eritropoietin beraber verildi. Ameliyat sonrası 24. saat sıçanlar 60mg/kg ketamin hidroklorid (periton içi.) ve 10mg/kg Xylazine (periton içi) ile anestezi uygulandıktan sonra 100mg/kg sodyum-pentotal perfüzyonu ile öldürülerek omurilik örnekleri alındı. Alınan bu örneklerde Malonildialdehit, Süperoksitdismütaz, Katalaz düzeyleri ölçüldü.

Metilprednizolon, Eritropoietin ve Metilprednizolon ile kombine Eritropoietin tedavisinin, sıçanlarda deneysel spinal kord hasarında,sekonder hasarın önlenmesinde biyokimyasal olarak faydalı olabileceği düşünüldü.

8. KAYNAKLAR

1. Tator CH, Carson CD, Edmonds VE: Spinal injuries in ice hokey. Clin Sports Med 17: 183-194, 1998.
2. Tong JS, Naranja RJ, Povlav H et al. The relationship of developmental narrowing of th cervical spinal canal toreversible and irreversible injury of cervical spinal cord in football players. J Bone Joint Surg Am 78: 1308-1314, 1996.
3. Karamehmetoğlu 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. A epidemiological study. Paraplegia 33(8): 469-71, 1995.
4. Hughes JT: The Edwin Smith Surgical Papirus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. Paraplegia 26: 71-82, 1988.
5. Marketos SG, Sakiadas PK: Hippocrates. The father of spine surgery. Spine 24: 1381-1387, 1999.
6. Goodrich JT: History of spine surgery inthe ancient and medieval worlds. Neurosurg Focus 16(1):article 2. 1-13, 2004.
7. Marketos SG, Sakiadas PK: Gallen: A Pioneer of spine research. Spine 24: 2358-2362, 1999.
8. Albertsone CD, Naderi S, Benzel EC: History of spine surgery. In : Benzel EC(Ed.): Spine surgery. Techniques , complication avoidance, and management. Second edition. Elsevier Churchill Livingstone, 2005, Philadelphia, pp 1-21
9. 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.
10. İplikçioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. M.Zileli, Fahir Özer,1.Baskı, İzmir, Saray Medikal Yayıncılık, s: 459-465, 1997.
11. Naderi S, Zileli M, Özer F, Omurga Cerrahisinin Tarihçesi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi Ed. M.Zileli, Özer F, 2.baskı cilt 1 Meta Basım , Bornova, İzmir 2002.

12. Tator CH, Fehlings MG: Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms J Neurosurg 1991; 75: 15-26.
13. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W: Animal models used in spinal cord regeneration research. Spine 2002; 27(14):1504-1510.
14. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. Neurosurgery 1999; 44(5):1027-1040.
15. Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the Spine in ancient times. Spine 28 (13):1481-1484, 2003.
16. Gülmen V, Zileli M : Deneysel omurilik yaralanması. Omurilik ve omurga cerrahisi 2nd ed. 2002; 951-956.
17. Agrawal SK, Fehlings MG: The role of NMDA and non-NMDA ionotropic glutamate receptors in traumatic spinal cord axonal injury. J Neurosci. 17: 1055-1063, 1997.
18. 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 80: 1372-1382, 1999.
19. Dryden DM, Saunders LD, Rowe BH, May LA: The Epidemiology of traumatic spinal cord injury in Alberta, Canada. Can J Neurol Sci 30 (2); 113-21, 2003.
20. Griffin MR, Opitz JL, Kurland LT, Ebersold MJ: Traumatic spinal cord injury in Olmsted County, Minnesota, 1935-1981. American Journal of Epidemiology, 121(6): 884-895, 1985.
21. Pagliacci MC, Celani MG, Zampolini M, Spizzichino L: An Italian survey of traumatic spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil, 84(9); 1266-75, 2003.
22. Pirice C, Makintubee S, Herndon W, Istre GR: Epidemiology of traumatic spinal cord injury and acute hospitalization and rehabilitation charges for spinal cord injuries Oklahoma 1988-1990. American Journal of epidemiology, 139(6); 37-47, 1994.
23. Cumming MC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. Am J Surg Pathol 21: 88-101, 1997.
24. 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 36: 683-690, 1998.
25. Lu J, Aswell K, Ken WS, Waite P: Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. Spine 25: 1856-1866, 2000.
26. Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in; Wilkins RH, Rengachary SS (ed.): Neurosurgery. McGraw Hill, 2 edition, Philadelphia 2623-2637.

27. Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C: The role and timing of decompression in acute spinal cord injury. 26:s101-s110, 2001.
28. 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.
29. Hall ED: Pathophysiology of spinal cord trauma. Ann Emerg Med. 1989; 22:987-992.
30. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J: Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. Clin. Neuropharmacology 2001; 24(5): 254-264.
31. Young W: Secondary injury mechanisms in acute spinal cord injury. J Emerg Med. 11:13-22, 1993.
32. Bligt AR, Young W: Central axons in injured cat spinal cord recover electrophysiological function following remyelination by schwan cells. J Neurol Sci 91:15-34,1989.
33. Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. Neurochirurgie 37:291-302, 1991.
34. 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. 27(2):113-20, 2004.
35. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG: pathologikal finding in acute experimantel spinal cord trauma. J Neurosurg 35: 700-708, 1971.
36. Nemecek ST: Morphological evidence of microcirculatory in experimental spinal cord trauma. Advances Neurol 20: 395-405, 1978.
37. Allen AR: Sugery of Experimental Lesion of Spinal Cord Equivalent to Crush Injury of fracture Dislocation of Spinal Column. Jama, 57:878-880, 1941.
38. Anthes DL, Theriault E, Tator CH: Ultrastructural evidence for arteriolar vasospasm after spinal trauma. Neurosurg 39: 804-814, 1996.
39. Holtz A, Nyström B, Gerdin B: Relation between spinal cord blood flow and functional recovery after blocking weigth-induced spinal kord injury in rats. Neurosurgery 26: 952-957, 1990.
40. Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ:Tree-dimensional anlysis ofthe vascular system in the rat spinal cord with scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. Part 2: Acute spinal cord injury. Neursurg 33: 285-292, 1993.

41. Berksoy İ: Ac-DMQD-CHO Nöroprotektif etkilerin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. Taksim eğitim ve araştırma hastanesi yayınlanmış uzmanlık tezi, 2004.
42. Choi WS: Calcium mediated neurotoxicity: relationship to spesific channel types and role in ischemic damage. *Tends Neurosci* 11:465-469, 1988.
43. Tator CH in. Wilkins RH, Rengachary SS (ed): *Neurosurgery*. McGraw-Hill, 2nd edition 1996; pp2847-2859.
44. Guha A, Tator CH, Rochon J: Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury in rats. *Stroke* 20:3 372-377, 1989.
45. Mesaeli N, Nakamura K, Zvaritch E et al: Calreticulin is essential for cardiac develepment. *J Cell Biol* 144: 857-868, 1999.
46. Tator CH: Neurogenic shock. In: Geller ER, ed. *Shock and Resuscitation* New York: McGraw-Hill; 1993; 421-440.
47. Demediuk P, Saunders RD, Anderson DK: Membran lipid changes in laminectomized and traumatized rat spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 : 7071-7075, 1985.
48. Theriault E, Tator CH: Persistence of rubrospinal projections following clip compression injury in adult rat. *J Comp Neurol* 342: 325-336, 1994. Kiss ZHT.
49. Wallace MC, Tator CH, Frazee P: Relationship between posttraumatic ischemia and hemorrhage in the injured rat spianl cord as shown by colloidal carbon angiography. *Neurosurgery* 1986; 18:433-439.
50. Sandler AN, Tator CH: Effect of acute spinal cord compression injury regional spinal blood flow in primates. *J Neurosurg* 45:660-676, 1976.
51. Sandler AN, Tator CH: Review of the effect of spinal cord trauma on he vessels and blood flow in the spinal cord. *J Neurosurg* 45: 638-646, 1976.
52. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC: The microvasculature in transitory traumatic paraplegia: An electron microscopic study in the monkey. *J Neurosurg* 1971; 35: 263-271, 1971.
53. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of the axons in the lesionel spinal cord. *Physiol Rev* 76: 319-370, 1996.
54. Taoka Y, Okajima K: Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 56:341-358, 1998.
55. Bullock R, Fujisawa H: The Role of Glutamate Antagonists for the Treatment of CNS Injury. *J Neurotrauma (Supp)*, 9:443-462, 1992.

56. 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*, 71:403-416, 1989.
57. Hall ED, Wolf DL, Braughle JM, Kia T. Effect of a Single Large Dose of Sodium Methylprednisolone Succinate on Experimental Posttraumatic Spinal Cord Ischemia Dose Response and Time-action Analysis. *J Neurosurg*, 61:124-130, 1984.
58. Zileli M. Omurilik Yaralanmasının Farmakolojik Tedavisi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi. Ed. M.Zileli, Fahir Özer, 1. Baskı, İzmir. Saray Medikal yayıncılık, s; 466-478, 1997.
59. Agraval SK, Fehlings MG. Mechanism of secondary injury to spinal cord axons in vitro; role of Na, Na-K-ATPase, the Na-H exchanger and the Na-Ca exchanger. *J Neurosci*. 16:545-552, 1996.
60. Agraval SK, Nashmi R, Fehlings MG. Role of L and N type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience* 99:179-188, 2000.
61. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD: The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials, and spinal cord blood flow. *EEG Clin Neurophysiol* 74: 241-259, 1989.
62. 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* 79:500-507, 1993.
63. Lemke M, Demediuk P, McIntosh TK, Vink R, Faden AL: Alterations in tissue Mg⁺⁺, NA⁺⁺ and spinal cord edema following impact trauma in rats. *Biochem Biophys Res Com* 147: 1170-1175, 1987.
64. Eidelberg E, Sullivan J, Brigham A: Immediate consequences of spinal cord injury: possible role of potassium in axonal conduction blok. *Surg Neurol*. 3 (6): 317-21, 1975.
65. Hu WH, Qiang WA, Li F, Liu N, Wang GQ, Wang HY, Wan XS, Liao WH, Liu JS, Jen MF. Constitutive and Inducible Nitric Oxide Synthases after Dynorphin-Induced Spinal Cord Injury. *J Chem Neuroanat*, 17: 183-197, 2000.
66. Young W, Huang P, Kume K: Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the injury process: Ed. Benzel EC, Tator CH, Bölüm 4, sayfa 27-42, AANS, ILLinois.
67. Banik N. Hogan E, Hsu C. The Multimolecular cascade of Spinal Cord Injury Studies on Prostanoids, Calcium, and Proteinases. *Neurochem Pathol*, 7:57-77, 1987.
68. Lucas JH, Wang GF, Gross GW: NMDA antagonists prevent hypothermic injury and death of mammalian spinal neurons. *J Neurotrauma* 7: 229-236, 1990.

69. Demopoulus HB, Flamm ES, Seligman ML, et al.: 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* 60: 1415-1424, 1981.
70. Liao LM, Bergsneider M, Becker DP in Youmans JR (ed): *Neurological Surgery*. W.B. Saunders Co. 4th ed 1997.
71. Barut Ş, Canbolat A, Bilge T, Aydın Y, Çokneşeli B, Kaya U: Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurgery Rev*. 1993; 16:53-59.
72. Kılınç A, Kılınç K; Nitrik oksit: Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme, Ankara, 2003.
73. Heffner JE, Repine JE: Pulmonary strategies of antioxidant defence. *Am. Res. Dis.* 1989; 140:531.
74. Hall ED, Yokers PA, Andrus PK. *Biochemistry and Pharmacology of Lipid Antioxidant Inacute Brain and Spinal Cord Injury*. *J Neuro Trauma*, 9 (1): 165-172, 1992.
75. Faden AI, Jacobs T, Smith MT, Zivin A: Naloxane in experimental spinal cord ischemia: Dose response studies. *Eur J Pharmacol* 103:115-120, 1984.
76. Faden AI, Jacobs T, Holaday J. Comparison of Early and Late Naloxone Treatment in Experimental Spinal Injury. *Neurology*, 32: 677-681, 1982.
77. Bakshi R, Faden AI: Competitive and non-competitive NMDA antagonists limit dynorphin A-induced rat hindlimb paralysis. *Brain Res* 507: 1-5, 1990.
78. Balentine JD: Pathology of experimental spinal cord trauma. *Lab Invest* 39: 236-253, 1978.
79. Asadullah K, Woicinchowsky C, Döcke W. Immunodepression Following Neurosurgical Procedures. *Critical Care Medicine*, 23:1976-1982, 1995.
80. Kruk Z, Pycock C: *Neurotransmitters and drugs*. London, Chapman and Hall 1991.
81. Cooper J, Bloom Froth R: *The biochemical Basis of Neuropharmacology*, 7th edition. New York, Oxford University press, 1996.
82. Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ: Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *Brain Res* 547: 344-348, 1991.
83. Faden AI, Simon RP: A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol*. 1988; 23:623-626.
84. Choi DW: Excitotoxic cell death. *J Neurobiol* 23: 1261-1276, 1992.

85. Meldrum B: Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acids neurotransmitters. *Clin Sci.* 1985; 68:113-122.
86. Mills CD, Xu GY, McAdoo J, Hulsebosch CE: Involvement of metabotropic glutamate receptors in excitatory amino acid and GABA release following spinal cord injury in rat. *J Neurochem* 2001; 79:835-848.
87. Alessandri B, Bullock R: Glutamate and its receptors in the pathophysiology of brain and spinal cord injuries. *Prog Brain Res* 116: 303-330, 1998.
88. Regan FR: The vulnerability of spinal cord neurons to excitotoxic injury: Comparison with cortical neurons. *Neurosci Lett* 213: 9-12,1996.
89. Mills CD, Fullwood SD, Hulsebosch CE: Changes in metabotropic glutamate receptor expression following spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2001; 170:244-257.
90. Fields RD, Yu C, Nelson PG: Calcium network activity, and the role of NMDA channels in synaptic plasticity in vitro. *J Neurosci* 1991; 11:134-146.
91. Choi DW: Ion dependence of glutamate neurotoxicity. *J Neurosci.* 1999;7:369-379.
92. Greenmayre JT, Porter RHP: Anatomy and physiology of glutamate in the CNS. *Neurology* 1994; 44 (8):7-13.
93. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5): 265-279.
94. 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.
95. Marion DW: Head and spinal cord injury. *Neurol.Clin.* 1998; 16(2):485-502.
96. Gill R, Foster AC: MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischemic period. *Neurosci* 25: 847-855, 1988.
97. Cohen JJ: Apoptosis: The physiological pathway of cell death. *Hosp Pract* 15: 35-43, 1993.
98. Spencer S, Cataldo NA, Jaffe RB: Apoptosis in the human female reproductive tract. *Obstetrical and gynecological survey* 5: 314-323, 1996.
99. Nakano R: Apoptosis: Gene directed cell death. *Horm Res* 48: 2-4, 1997.
100. Schwartzman RA, Cidloski JA: Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Reviews* 14: 133-144, 1993.

101. Ameisen JS: The origin of programmed cell death. *Science* 272: 1278, 1996.
102. Thompson CB: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267: 1456-1462, 1995.
103. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26: 239-245, 1972.
104. Bellamy CO, Malcomson RD, Harrison DJ, Wyllie AH: Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology* 6: 3-16, 1995.
105. Majno G, Torisl A: Apoptosis oncosis and necrosis. *Am J Pathol* 146: 3-15, 1995.
106. Crowe MJ, Breshnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS: Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* 1: 73-76, 1997.
107. Emery E, Aldana P, Bunge MB: Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* 89: 911-920, 1998.
108. Shuman SL, Breshnahan JC, Beattie MS: Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res* 50: 798-808, 1997.
109. Springer JE, Azbill RD, Knapp PE: Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. *Nature Med* 5: 943-946, 1999.
110. 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* 60: 422-429, 2001.
111. Hu YM, Benedict MA, Ding LY: Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. *EMBO J.* 18: 3586- 3595, 1999.
112. Krajewski S, Krajewska M, Ellerby LM, Welsh K, Xie Z, Deveraux QL, Salvesen GS, Bredesen DE, Rosenthal RE, Fiskum G, Reed JC: Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci, USA* 96: 5752-5757, 1999.
113. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW: Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci* 17: 5395-5406, 1997.
114. Nakatsuka H, Ohta S, Tanaka J, Toku K, Kumon Y, Maeda N, Sakanaka M, Sakaki S: Release of cytochrome c from mitochondria to cytosol in gerbil hippocampal CA1 neurons after transient forebrain ischemia. *Brain Research* 849: 216-219, 1999.

115. Nakamura K, Bossy-Wetzel E, Burns K, et al: Changes in endoplasmic reticulum luminal environment affect cell sensitivity to apoptosis. *J Cell Biol* 150: 731-740, 2000.
116. 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* 276: 869-874, 2001.
117. Bao F and Liu D: Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptosis cell death and activates caspase-3. *Neuroscience* 116: 59-70, 2003.
118. Balakumran A, Champbell GA, Maslen MT: Calcium channel blockers induce thymic apoptosis in vivo in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 139: 122-127, 1996.
119. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 284: 555-556, 1980.
120. Cohen JJ: Apoptosis. *Immunol Today* 14: 126-130, 1993.
121. Guizar-Shagun G, Grijalva I, Madroza I, et al: Development of post-traumatic cysts in the spinal cord of rats subjected to severe spinal cord contusion. *Surg Neurol* 41: 241-249, 1994.
122. Dauglas J. Balentine M.D.: Pathology of experimental spinal trauma, The necrotic lesions a function of vascular injury, vol 39, no:3, p.236, 1978.
123. Bracken MB, Shepard M, Collins N. A. Randomised, Controlled Trial of Methylprednisolone or Naloxone in the Treatment of Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med.* 322:1405-1411, 1990.
124. Faden AI, Jacobs T, Holaday J. Opiate Antagonist Improves Neurologic Recovery After Spinal Injury. *Science*, 211:493-494, 1981.
125. Faden AI, Jacobs T, Holaday J. Endorphins in Experimental Spinal Injury. Therapeutic Effect of Naloxone. *Ann Neurol*, 10: 326-332, 1981.
126. Rhoney DH, Luer MS, Hughes M: New pharmacological approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 1996; 16: 382-392.
127. Hall ED: effects of the 21-aminosteroid U-74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 1988; 6:176-179.
128. Faden AI: Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997; 72: 377-386.
129. Faden AI, Jacobs T: Effect of TRH Analogs on Neurologic Recovery After Experimental Spinal Trauma *Neurology*, 35: 1331-1334, 1985.
130. Von Euler M, Li Li M, Whitmore S et al. No protective effect of the NMDA antagonist memantine in experimental spinal cord injuries. *J Neurotrauma*, 14:53-61, 1997.

131. Suzer T, Coskun E, Islekel H et al. : Neuroprotective effects of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999; 37: 480-484.
132. Solaroğlu I, Kaptanoğlu E, Okutan O, Beskonaklı E, Attor A, Kiline K: Magnesium sulfate treatment decrease caspase-3 activity after experimental spinal cord injury in rats. 64 suppl 2:s 17-21,2005.
133. Wrathall JR, Teng YD, Marriott R: Delayed antagonism of AMPA-Kainate receptors reduces long term functional deficits resulting from spinal cord trauma. *Exp Neurol*. 145:565-573, 1997.
134. Kaptanoğlu E, Tator CH: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma strat. In Zileli M; Omurilik ve omurga cerrahisi 2nd ed. 2002 pp813-832.
135. Pannu R.Barbosa E, Singh AK, Singh I: Attenuation of acute inflammatory response by atorvastatin after spinal cord injury in rats. *J Neurosci Res*. 79(3):340-50, 2005.
136. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC : A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995 Feb;12(1): 1-21 PMID: 7783230.
137. Rivlin AS, Tator CH : Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat.*Surg Neurol*. 1978 Jul;10(1):38-43.PMID: 684604.
138. Basso DM, BeattieMS, Bresnahan JC: Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol*. 1996 Jun;139(2):244-56.PMID: 8654527.
139. Palaoğlu S, Akbay A, Bozkurt G: Pharmacological and Surgical Interventions Effecting the Healing in Acute Spinal Cord Injury ,2002.
140. Allen AR: Remarks on the histopathological changes in spinal cord due to impact. *J Nerv Ment Dis* 41: 141-147, 1914.
141. Zhang Z, Kreps CJ, Guth L: Experimental analysis of progressive necrosis after spinal cord trauma in the rat; etiological role of the inflammatory response. *Exp Neurol* 143: 141-153, 1997.
142. Katoh K, Ikata T, Katoh S, et al: Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett* 216: 9-12, 1996.
143. Anderson BO, Meaans ED, Waters TR, Gren ES: Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg* 56: 106-113, 1982.
144. Li M, Ona VO, Chen M: Functional and therapeutic implications of neuronal caspase1 and 3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience*, vol 99(2), 333-342, 2000.

145. Digicaylioglu M, Bichet S, Marti HH, Wenger RH, Rivas LA, Bauer C, Gassman M: Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the Mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 3717-3720, 1995.
146. Bernaudin M, Marti HH, Roussel S, Divoux D, Nouvelot A, MacKenzie ET, Petit E: A potential role for erythropoietin in focal permanent cerebral ischemia in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 19: 643-651, 1999.
147. Juul SE, Yachnis AT, Rojiani AM, Christensen RD: Immunohistochemical localization of erythropoietin and its receptor in the developing human brain. *Pediatr Dev Pathol* 2: 148-158, 1999.
148. Sadamoto Y, Igase K, Sakanaka M, Sato K, Otsuka H, Sakaki S, Masuda S, Sasaki R: Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery. *Biochem Biophys Res Commun* 253: 26-32, 1998.
149. Siren AL, Knerlich F, Poser W, Gleiter CH, Bruck W, Ehrenreich H: Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol (Berl)* 101: 271-276, 2001.
150. Grasso G, Sfacteria A, Passalacqua M, Morabito A, Buemi M, Macri B, Brines ML, Tomasello F: Erythropoietin and erythropoietin receptor expression after experimental spinal cord injury encourages therapy by exogenous erythropoietin. *Neurosurgery* 56: 821-827, 2005.
151. Bernaudin M, Bellail A, Marti HH, Yvon A, Vivien D, Duchatelle I, MacKenzie ET, Petit E: Neurons and astrocytes Express EPO mRNA: Oxygen-sensing mechanisms that involve the redox-state of the brain. *Glia* 30: 271-278, 2000.
152. Juul SE, Yachnis AT, Christensen RD: Tissue distribution of erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human fetus. *Early Hum Dev* 52: 235-249, 1998.
153. Morishita E, Masuda S, Nagao M, Yasuda Y, Sasaki R: Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons, and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death. *Neuro-science* 76: 105-116, 1997.
154. Siren AL, Fratelli M, Brines M, Goemans C, Casagrande S, Lewczuk P, Keenan S, Gleiter C, Pasquali C, Capobianco A, Mennini T, Heumann R, Cerami A, Ehrenreich H, Ghezzi P: Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 4044-4049, 2001.
155. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S, Agnello D, de Lanerolle NC, Cerami C, Itri LM, Cerami A: Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 10526-10531, 2000.

156. Celik M, Gokmen N, Erbayraktar S, Akhisaroglu M, Konakçi S, Ulukus C, Genc S, Genc K, Sagiroglu E, Cerami A, Brines M: Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 2258-2263, 2002.
157. Gorio A, Gökmen N, Erbayraktar S, Yilmaz O, Madaschi L, Cichetti C, Di Giulio AM, Vardar E, Cerami A, Brines M: Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 9450-9455, 2002.
158. Grasso G: Neuroprotective effect of recombinant human erythropoietin in experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg Sci* 45: 7-14, 2001.
159. Grasso G, Buemi M, Alafaci C, Sfacteria A, Passalacqua M, Sturiale A, Calapai G, De Vico G, Piedimonte G, Salpietro FM, Tomasello F: Beneficial effects of systemic administration of recombinant human erythropoietin in rabbits subjected to subarachnoid hemorrhage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 5627-5631, 2002.
160. Grasso G, Passalacqua M, Sfacteria A, Conti A, Morabito A, Mazzullo G, De VG, Buemi M, Macri B, Tomasello F: Does administration of recombinant human erythropoietin attenuate the increase of S-100 protein observed in cerebrospinal fluid after experimental subarachnoid hemorrhage? *J Neurosurg* 96: 565-570, 2002.
161. Junk A, Mammis A, Savitz SI, Singh M, Roth S, Malhotra S, Rosenbaum P, Cerami A, Brines M, Rosenbaum D: Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 129: 10659-10664, 2002.
162. Qayumi AK, Janusz MT, Jamieson WR, Lyster DM: Pharmacologic interventions for prevention of spinal cord injury caused by aortic cross-clamping. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104: 256-261, 1992.
163. Ehrenreich H, Hasselblatt M, Dembowski C, Cepek L, Lewczuk P, Stiefel M, Rustenbeck HH, Breiter N, Jacob S, Knerlich F, Bohn M, Poser W, Ruther E, Kochen M, Gefeller O, Gleiter C, Wessel TC, Ryck MD, Itri L, Prange H, Cerami A, Brines M, Siren AL: Erythropoietin Therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol Med* 8: 495-505, 2002.
164. Grasso G: Erythropoiesis and neuroprotection: Two sides of the same coin? *Lancet Neurol* 2: 332, 2003.
165. Koshimura K, Murakami Y, Sohmiya M, Tanaka J, Kato Y: Effects of erythropoietin on neuronal activity. *J Neurochem* 72: 2565-2572, 1999.

166. Kawakami M, Sekiguchi M, Sato K, Kozaki S, Takahashi M: Erythropoietin receptor-mediated inhibition of excitotoxic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. *J Biol Chem* 276: 39469-39475, 2001.
167. Sakanaka M, Wen TC, Matsuda S, Masuda S, Morishita E, Nagao M, Sasaki R: In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 4635-4640, 1998.
168. Akisu M, Tuzun S, Arslanoglu S, Yalaz M, Kultursay N: Effect of recombinant human erythropoietin administration on lipid peroxidation and antioxidant enzyme(s) activities in preterm infants. *Acta Med Okayama* 55: 357-362, 2001.
169. Siren AL, Fratelli M, Brines M, et al: Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 4044-4049, 2001.
170. Vairano M, Dello Russo C, Pozzoli G, et al: Erythropoietin exerts anti-apoptotic effects on rat microglial cells in vitro. *Eur J Neurosci* 16: 584-592, 2002.
171. Tuna M, Polat S, Erman T, et al: Effect of anti-rat interleukin-6 antibody after spinal cord injury in the rat: inducible nitric oxide synthase expression, sodium- and potassium- activated, magnesium- dependent adenosine-5'- triphosphatase and superoxide dismutase activation, and ultrastructural changes. *J Neurosurg Spine* 95: 64-73, 2001.
172. Yang L, Blumberg PC, Jones NR, et al: Early expression and cellular localization of proinflammatory cytokines interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in human traumatic spinal cord injury. *Spine* 29: 966-971, 2004.
173. Bryl E, Mysliwska J, Debska-Slizien A, et al: The influence of recombinant human erythropoietin on tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 production by whole blood cell cultures in hemodialysis patients. *Artif Organs* 22: 177-181, 1998.
174. Villa P, Bigini P, Mennini T, et al: Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 198: 971-975, 2003.
175. Okada S, Nakamura M, Mikami Y, et al: Blockade of interleukin-6 receptor suppresses reactive astrogliosis and ameliorates functional recovery in experimental spinal cord injury. *J Neurosci Res* 76: 265-276, 2004.
176. Scurlock B, Dawson G: Differential responses of oligodendroglia to tumor necrosis factor and other pro-apoptotic agents: Role of ceramide in apoptosis. *J Neurosci Res* 55: 514-522, 1999.

177. Okutan O, Solaroglu I, Beskonakli E, Taskin Y: Recombinant human erythropoietin decreases myeloperoxidase and caspase-3 activity and improves early functional results after spinal cord injury in rats. *J Clin Neurosci* 14: 364-368, 2007.
178. Agnello D, Bigini P, Villa P, et al: Erythropoietin exerts an antiinflammatory effect on the CNS in a model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res* 952: 128-134, 2002
179. Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K: Hematopoietic factor erythropoietin fosters neuroprotection through novel signal transduction cascades. *J Cereb Blood Flow Metab* 22: 503-514, 2002.
180. Wen TC, Sadamoto Y, Tanaka J, et al: Erythropoietin protects neurons against chemical hypoxia and cerebral ischemic injury by upregulating Bcl-xL expression. *J Neurosci Res* 67: 795-803, 2002.
181. Digicaylioglu M, Lipton SA: Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF-KB signalling cascades. *Nature* 412: 641-647, 2001.
182. Gülmen V, Zileli M. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. In: Zileli M, Özer F (eds): Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. _zmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 833-839.
183. Cheeseman KH, SalterTF: An introduction to free radical biochemistry. *rit. Med Bul.* 1993; 49:481-493
184. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T et al. Relationship between free radikal production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. *Brain Res* 1991; 554:186-192.
185. Uzan M: Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji, In Hancı M; Medulla spinalis yaralanmaları 2000; pp 152-161.
186. Choen JJ: Apoptosis. *Immunology Today* 1993; 14 :126-130.
187. Kaynar, M., Y , Erdinçler P., Tadayyon E., Belce A., Giimustas K., and Ciplak, N., Effect of nimodipine and N-acetylcysteine on lipid peroxidation after experimental spinal cord injury, *Neurosurg. Rev.*;21(4):260-264, 1998
188. Kaptanoğlu E, Sen S, Baseskioglu E, et al. Antioxidant actions and early ultrastuctural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg Anesthesol* 2002; 14: 114-22.
189. Hancı V, Kerimoğlu A, Koca K, Başkesen A, Kılıç K, Taştekin Dç *Travma Acil Cerrahi Derg* 2010;16 (1):15-21