

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SPİNAL KORD TRAVMASI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA KEFİRİN LİZOZAMAL PROTEAZLARIN
SALINIMI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Emre DELEN

**Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2011**

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SPİNAL KORD TRAVMASI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA KEFİRİN LİZOZAMAL PROTEAZLARIN
SALINIMI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Emre DELEN

**Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ramazan DURMAZ**

**ESKİŞEHİR
2011**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Emre DELEN'e ait “ Spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda kefirin lizozomal proteazların salınımı üzerine etkilerinin araştırılması ” adlı çalışma jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Metin Ant ATASOY Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Ramazan DURMAZ Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Murat VURAL Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun/..../.....
Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Necmi ATA
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim boyunca bana bilgi ve tecrübeleri ile desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Metin Ant ATASOY'a, Prof. Dr. Erhan COŞAN'a, , Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ'a, Doç. Dr. Murat VURAL'a tez danışmanım Prof. Dr. Ramazan DURMAZ'a tezimin biyokimyasal incelemelerin katkıda bulunan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalından Prof. Dr. Güngör KANBAK'a, tezimin histopatolojik incelemelerine katkıda bulunan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Delen, E. Spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda kefirin lizozomal proteazların salınımı üzerine etkilerinin araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011. Akut omurilik yaralanmalarında birincil hasar travma anında olan hasarlanmadır. İkincil hasarlanma ise, birincil hasarlanmanın sonrasında gelişen, saatler içerisinde gelişen, bir takım biyokimyasal mekanizmalardır. Akut omurilik yaralanmalarında doku harabiyetinin patofizyolojisinde lizozomal proteazlar önemli bir role sahiptir. Çalışmamızda dietlerine kefir eklenmiş sıçanlarda akut omurilik yaralanması oluşturuldu ve doku katepsin B ve L, MDA değerlerindeki değişiklikler ile histopatolojik değişiklikler incelendi. Deneysel spinal kord yaralanma modeli 5 grupta 40 sıçan üzerinde uygulandı. Travma grubunda total laminektomi yapıldıktan sonra anevrizma klipi ile spinal kord travması uygulandı. Travma+tedavi grubunda aynı yöntem kullanıldı ve yüksek doz metilprednizolon verildi. Travma+tedavi+kefir ve travma+kefir grubuna yaralanma oluşturulmadan önce 1 hafta süreyle orogastrik yoldan 2*1cc/100gr kefir verildi. Tüm sıçanlar işlemiden 48 saat sonra sakrafiliye edildi. Sonuç olarak; incelenen omurilik dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde kefir almış sıçanların normale yakın histopatolojiye sahip olması kefirin nöroprotektif etkisinin olduğunu düşündürmektedir. İncelenen katepsin B ve L değerlerinde kefirin anlamlı bir düşme sağlamadığı söylenebilir. MDA değerlerinde ise kefirin anlamlı bir düşme sağladığı düşünülmektedir. Sonuçlarımız kefirin, spinal kord travmasında ikincil hasarlanmayı azaltarak nöroprotektif olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Spinal kord, travma, lizozomal proteaz, kefir

ABSTRACT

Delen, E. Spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda kefirin lizozomal proteazların salınımı üzerine etkilerinin araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011. Primary damage at the time of trauma is traumatic spinal cord injury. However secondary damages occur from metabolic and biochemical processes due to primary damage and take place in hours. Lizozomal proteases have an important role in pathophysiology of tissue damage in spinal cord traumatic injuries. In our study we analyzed changes in catepsin B and L, MDA activity levels and histopathological changes after the rats that kefir added to their dietary. Experimental spinal cord injury model was applied to 40 rats in 5 groups. In trauma group, spinal cord trauma was applied with aneurysm clips to rats after total laminectomy. In trauma+treatment group, single intraperitoneal (i.p) high dose metilprednisolon injection made after the same procedure. To the group of trauma+treatment+kefir and trauma+kefir 2*1 cc /100 gr kefir given by orogastric way for a week before the injury. All rats are sacrificed 48 hours after the procedure. As the result, the investigated subnormal histopathological evaluation of spinal cord tissue histopathology rats thos taken kefir suggest that the neuroprotective effect of kefir. Catepsin B and L activity levels were significantly same in solvent and trauma group. MDA activity levels were significantly lower in solvent group than trauma group. These results suggest that kefir may be an available agent to protect the spine cord from secondary injury after trauma.

Key words: Spinal cord, trauma, lizozomal proteases, kefir

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akut Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi	3
2.2. Akut Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi	6
2.3. Birincil Hasar	6
2.4. İkincil Hasar	7
2.5. Akut Omurilik Yaralanmasında Farmakoterapi	19
2.6. Kefir	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Biyokimyasal Ölçümler	31
3.2. Histopatolojik İnceleme İçin Örneklerin Hazırlanması	32
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	32
4. BULGULAR	34
4.1. Biyokimyasal Bulgular	34
4.2. Histopatolojik Bulgular	36
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	47

SİMGELER VE KISALTMALAR

AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-izoksazolpropiyonikasit
EAA	Eksitatör aminoasit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
Ca	Kalsiyum
HO ₂	Perhidroksi radikali
K	Potasyum
Na	Sodyum
H-E	Hematoksilen ve Eosin
i.p	İntraperitoneal
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
MNL	Mononükleer lökosit
MP	Metilprednizolon
NASCIS	Ulusal Akut Spinal Kord Yaralanmaları Çalışması
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksit
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
OH ⁻	Hidroksil radikali
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
ROO ⁻	Peroksiradikali
ROT	Reaktif oksijen türevleri
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TICAM	Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Kefir Taneleri	25
3.1. Laminektomi sonrasında omurilik görüntüsü	29
3.2. Omuriliğe klip kompresyon uygulanması	30
3.3. Deneysel yaralanma sonrası omurilik görüntüsü	30
4.1. Travma grubuna ait histolojik bulgular	38
4.2. Tedavi grubuna ait histolojik bulgular	39
4.3. Travma+tedavi+kefir grubuna ait histolojik bulgular	40
4.4. Travma+kefir grubuna ait histolojik bulgular	41

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Tator tarafından yapılan omurilik yaralanma modellerinin sınıflaması	5
2.2. Omuriliğin ikincil yaralanma patofizyolojisi	8
2.3. Serbest radikal oluşum kaynakları	13
2.4. Kefirin kimyasal ve mikrobiyolojik analizi	26
2.5. Spinal kord hasarlanmasında kronik fazdaki patolojik değişiklikler	26
4.1. Katepsin B değerlerinin gruplara göre dağılımı	34
4.2. Katepsin L değerlerinin gruplara göre dağılımı	35
4.3. MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı	36

1. GİRİŞ

Spinal kord travması mortalite ve morbidite açısından bireysel, sosyal, psikolojik ve ekonomik yaşamı olumsuz etkileyen patolojik bir durumdur. Birçok ülkede akut spinal kord yaralanması milyonda 20-40 oranında görülür, ABD’de 183.000-230.000 kişi spinal kord yaralanması kaynaklı sakatlıkla yaşamaktadır. Her yıl bunlara 10.000 yeni olgu eklenmektedir. Ülkemizde akut spinal kord travmasının insidansı yılda 500-600 yeni vaka olarak bildirilmekte ve prevalansın her yıl 12,7/1.000.000 olduğu tahmin edilmektedir (1,2,3).

Akut spinal kord yaralanması sonrası gelişen nörolojik hasar, birincil mekanik yaralanma ile birlikte yaralanma sonrasında gelişen ikincil yaralanmayı izleyen nekroz ve daha geç görülmeye başlayan apoptozise bağlıdır (4). Birincil hasarlanma, koruyucu sağlık hizmetleri konusu olup, ikincil hasarlanma deneysel çalışmaların konusudur. Akut spinal kord travmasında ikincil hasarlanmadan korunma nöroproteksiyon olarak adlandırılır. Bu amaçla ilaç tedavileri, doku oksijenlenmesinin düzeltilmesi, spinal kord basısının kaldırılması, vertebranın stabilizasyonu gibi birçok medikal ve cerrahi yaklaşım denenmektedir (5).

İkincil hasarlanma, travmayı takip eden sistemik vasküler değişikliklerin, hücrel iyon konsantrasyonlarının ve biyokimyasal olayların, apoptozisin, ekzositotoksitenin, nörotransmitterlerin, lipid peroksidasyon ürünlerinin ve serbest oksijen radikallerinin, immün cevabın ve enerji metabolizmasının rol aldığı kompleks kaskat olaylar dizininin sonucudur (6). Spinal kord travmasının tedavisi, ikincil hasarlanmanın durdurulması ile ilgilidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda spinal kord yaralanmalarının tanı, cerrahi teknik ve tedavisinde, hatta fizyopatolojisinde oldukça büyük mesafeler alınmış olmasına rağmen henüz etkili bir tedavi protokolü ortaya konulamamıştır. Klinik kullanımda tek yer bulan yüksek doz metilprednisolon tedavisi de tartışmalı konular arasında yer almaktadır.

Probiyotikler, çoğunlukla bakterilerden oluşan canlı mikroorganizmalar olup, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım olanağı olan besinlerdir. Kefir, probiyotik besin grubunda yer alan, yaşam uzaması ile ilişkilendirilen besindir. Kefir ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalar kısıtlı olsa da antioksidan ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri ortaya konmuştur.

Bu çalışmada deneysel spinal kord travması fizyopatolojisi ve tedavisi gözden geçirilmiş olup, ikincil hasarlanmanın engellenmesi amacıyla kefirin lezyon üzerine etkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Travmasının Tarihçesi

Omurilik yaralanması ile ilgili bilinen ilk yazılı kayıtlar, M.Ö. 2500-3000 yılları arasında mısırlı cerrahlarca yazılan, 1930 yılında Bearsted tarafından tercüme edilen, “Edwin Smith Papirüs” leridir (7). Bu belgede muhtelif olgular değerlendirilmekte ve hastalar tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmaktadır (8). Tedavisi mümkün olmayan olgular, boynunda bir çıkığı olup kollarını ve bacaklarını fark etmeyen, ereksiyon ve spontan ejakulasyonu olan, idrarını damla damla yapan, gözleri kızarmış, eti rüzgârlanmış olgu şeklinde tanımlanmıştır (9). Bu tanımlama, günümüz komplet omurilik lezyonlarına denk gelmektedir.

Bu ilk yazılı kayıtlardan itibaren tarihte Hipokrat ve Galen’e kadar herhangi bir kayıtlı evrak yoktur (7). Hipokrat paraplejiyi tarif etmiş ve tarihte ilk sayılabilecek omurilik travmasının traksiyon ile tedavisinin mümkün olduğu ifade etmiştir. Daha sonraları bu traksiyon cihazı Aulus Cornelius Celsus tarafından bildirilmiştir. Ayrıca Celsus, servikal travma sonrası solunum zorluğu ve ani ölüme, alt servikal travmaların sonrasında da parapleji ve idrar inkontinansı olabileceğini belirtmiş, spinal omurilik travmasının tedavisinde immobilizasyon ve eksternal fiksasyondan bahsetmiştir (10).

Galen, spinal anatomi ve fizyoloji üzerine çalışmış, kordun yarım kesisi sonrasında hemiplejiyi tanımlamış, hastaya yaptığı nörolojik muayene ile omurilik yaralanma seviyesini tespit eder duruma gelmiştir (11). Galenin yaptığı çalışmalar neticesinde, Hipokratın omurilik yaralanmalarında lezyon seviyesinin altında motor ve duyu kaybı olduğu hipotezini doğrulamıştır. Galenin omurilik kesisi yaparak yaptığı bu çalışmalar, tarihteki ilk deneysel omurilik travma modeli sayılabilir.

Yedinci yüzyıla kadar spinal omurilik travmasının tedavisinde genellikle konservatif yaklaşımlar söz konusu iken, tarihte ilk defa Paulus (625-690), dekompresyon amaçlı laminektomi tanımlanmış, omuriliği komprese eden bir omurga kırığına laminektomi yaptığı olguyu sunmuştur (12).

Daha sonraları, bir takım cerrahi tedavilerinde denendiği, omurga travmasının tedavisi ile ilgili hızlı bir gelişme yaşanmaya başlamıştır. Fransız cerrah Pare (1510-

1590) spinal travmalarda redüksiyon sağlamak için odundan bir düzenek oluştururken, omurga travmasının tanısını palpasyon ve krepitasyon hissederek yapmaya başlamıştır (7).

Fabricius Hildanus 1646'da servikal fraktür dislokasyonlarda 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. Hildanus ile birlikte belkide omurga cerrahisinde enstruman kullanımının teknikleri tarihte yer almaya başlamıştır.

Louis 1762'de lomber bölgeye giren ve paraplejiye yol açan metal bir fragmanı çıkarmış, komplikasyonsuz geçen operasyon sonrası tam iyileşme bildirmiştir (13,14).

19. yüzyıla kadar omurga travması ile ilgili yazılı çalışmalar hastalığın tanısı ve çeşitli tedavi şekilleri üzerine iken, 1890 yılında Schamus tarafından tavşan omuriliğinde patolojik değişiklikleri inceleyen çalışması ile birlikte, omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi üzerine durulmaya başlanmıştır. 1914 yılında Allen tarafından omurilik yaralanmasının iki basamaklı teorisi ortaya atılmış, artık omurilik travmasında geniş laboratuvar ve hayvan deneyleri yapılmaya başlanmıştır. Laboratuvar ortamında, günlük hayatta karşılaşılan omurilik travmasına en yakın mekanizma ile travma oluşturma modelleri ortaya atılmıştır (15). Çok çeşitli bu deneysel travma modelleri için Chung bir takım kriterlerden bahsetmiştir (16). Bunlar;

1.Oluşturulacak travma, doku hasarı ya da nöronal disfonksiyon, hayvandan hayvana değişmez şekilde yaratılabilmeli, travma sonrası değerlendirilecek parametrelerdeki varyasyonlar kabul edilebilir sınırlarda olmalı, prelinik çalışma başlamadan önce bu sınırlar belirlenmelidir.

2.Hayvan modelindeki kaçınılmaz yan etkiler (cerrahi yaralanma, anestezi ajanlarının etkisi, metabolik ve hemodinamik değişiklikler) en aza indirgenmeli, çalışma başlamadan olası etkiler tanımlanmalıdır.

3.Çalışmanın sonuçları tekrarlanabilir ve sayısal hale getirilebilir olmalıdır.

Bu çeşitli yaralanma modelleri arasında kendi çalışmalarında klip kompresyon modelini kullanan Tator daha sonraları bu yaralanma modellerini sınıflandırılmıştır (17). (Tablo 2.1)

Tablo 2.1 Tator tarafından yapılan omurilik yaralanma modellerinin sınıflaması

Travmatik yaralanma	Travmatik olmayan yaralanmalar
1.Akut kinetik kompresyon Kaf/klip/balon	1.İskemi Aort oklüzyonu Selektif ven/arter oklüzyonu
2.Akut statik kompresyon Ağırlık uygulama	2.Tümör kompresyon
3.Ağırlık düşürme	3.Kimyasal
4.Akselerasyon-deselerasyon	
5.Distraksiyon	
6.Transeksiyon Parsiyel,komplet Lazer,bisturi	

Bu modeller üzerine yapılan çalışmalar ile omurilik travmasının fizyopatolojik süreci ortaya konmaya çalışılmıştır. Deneysel çalışmalarda sıkça kullanılan Tator'un klip kompresyon modelidir.

2.2. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi

Omurilik travması, neden olduğu önemli oranda iş gücü kaybı ve ekonomik sorunların neticesinde ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar ile omurilik travmasının fizyopatolojisi ortaya konamaya çalışılmakta, tedavi yolları aranmaktadır. İlk kez Allen tarafından ortaya atılan omurilik travmasının iki basamaklı teorisi ışığında laboratuvar çalışmaları devam etmektedir. Birincil hasardan sonraki saatler ve günler içerisinde gelişen, bir dizi fizyopatolojik sürece bağlı olarak ortaya çıkan spinal kord yaralanmasına da ikincil hasarlanma denir (18,19).

Omurilik yaralanmasında, birincil hasar, travma sırasındaki mekanik kuvvetler neticesinde gelişmekte ve tıbben tedavisi mümkün olmamaktadır. Spinal kord dekompresyonunu veya stabilizasyonunu gibi cerrahi tedavilerin ve medikal tedavilerin uygulandığı ikincil hasar ise birincil hasarın tetiklediği, oluşabilecek fonksiyonel kaybı ağırlaştırarak, bir takım fizyopatolojik mekanizmalar sonucunda gelişir.

2.3. Birincil Hasar

Omurilik travmalarında birincil hasar, travma anında travma bölgesindeki dokuların çeşitli mekanizmalarla zedelenmesi sonucu nekroz ve fonksiyon kaybı ile sonuçlanan, ikincil hasarlanmanın başlamasına neden olan hasar olarak tanımlanabilir. Çarpma, kompresyon, distraksiyon, lacerasyon gibi mekanizmalar sonucu travmanın spinal kord veya çevresindeki vertebral kolona uyguladığı güce bağlı olarak gelişir (20). Oluşan yaralanma birincil hasarın şiddeti ile orantılı iken kırılan kemik fragmanının derecesi ile ilişkili olmayabilir (17,21).

Omurilik travmasının en sık nedeni taşıt kazaları olup (%45.4), yüksekten düşmeler (%16.8), spor yaralanmaları (%16.3) ve şiddet sonrası gelişen yaralanmalarda diğer sebepler arasındadır (22).

Primer yaralanmanın derecesi, yaralanmaya neden olan gücün genliğine, etki süresine ve omurilik tarafından absorbe edilen enerji miktarına göre değişir (23). Omuriliğin uzun süre bası altında kalması, nörolojik hasarın artmasına ve prognozunun daha kötü olmasına neden olur. Bu noktada acil dekompresif cerrahi, nörolojik defisitinin engellemesinde büyük önem arz eder.

Birincil hasarlanmanın bugün için medikal tedavisi söz konusu değil iken travma öncesinde aktif ve pasif güvenlik önlemleri ile koruyucu sağlık hizmetlerinin konusu içine girmektedir. Hasta transportu sırasında omurganın stabilizasyonun sağlanması ve kardiyopulmoner stabilizasyonun sağlanarak omurilik kanlanmasının devam ettirilmeye çalışılması, sekonder hasarın gelişmesini engellemede veya en azından ikincil hasarlanmanın gelişmesinin geciktirilmesi, branşı ne olursa olsun her hekim tarafından alınabilecek önlemler arasındadır.

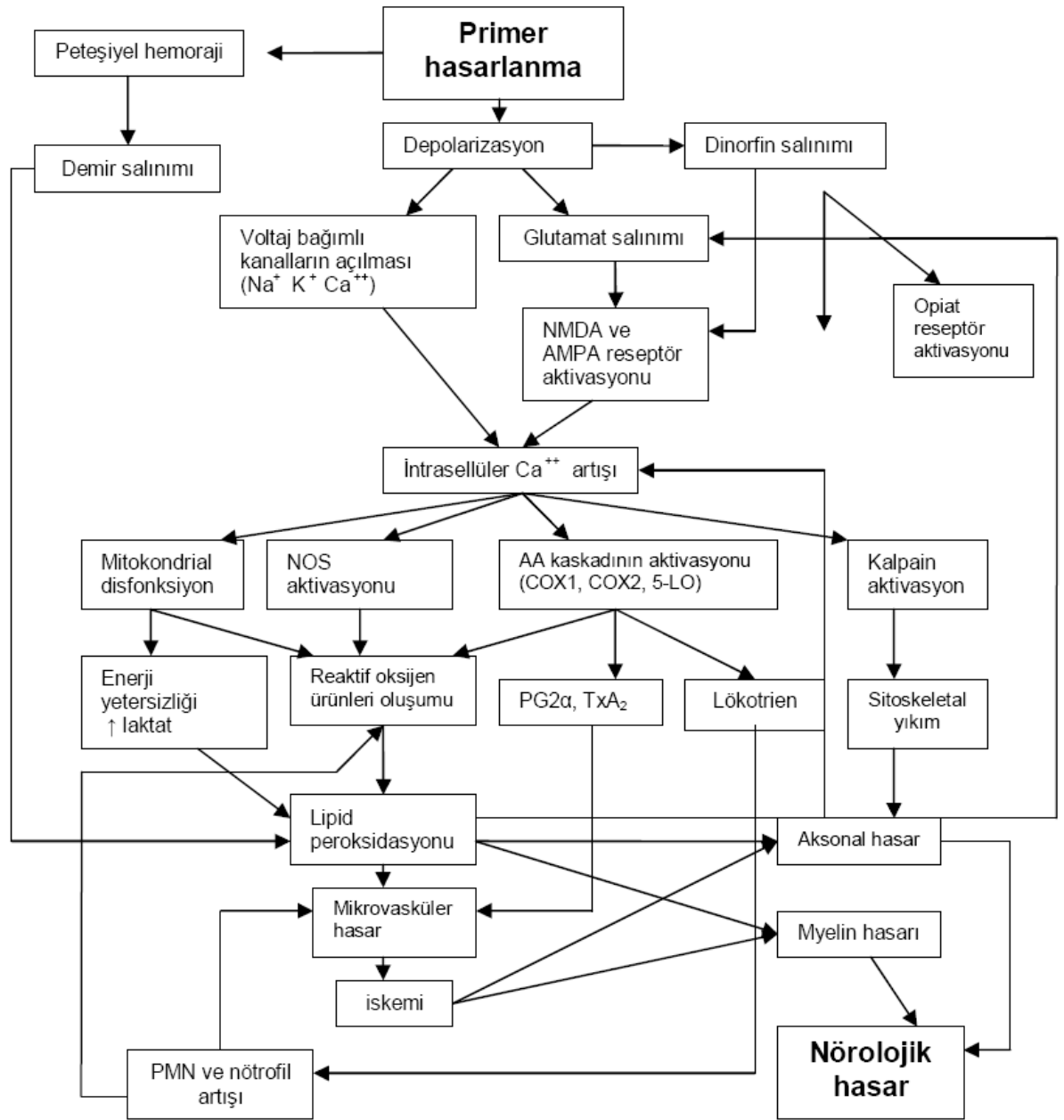
2.4. İkincil Hasar

Omurilik yaralanması sonucunda, mekanik etkiler ile oluşan birincil hasarın sonucunda gelişen, ilerleyici nörolojik defisit nedeni olan, önlenemez olması nedeniyle deneysel çalışmaların yoğunlaştığı hasarlanmaya ikincil hasarlanma denir. Birincil hasar, daha sonra haraplanmanın büyümesine neden olacak ikincil mekanizmaların oluşmasında merkezi bir işlev görür (24).

Omuriliğin iki basamaklı yaralanma teorisi, 1900 yıllarda Allen tarafından ortaya atılmasından sonra, yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, ikincil hasarlanmanın önlenmesi üzerinde durulmaktadır. Birincil hasarlanmanın koruyucu önlemler ile önüne geçilmesine çalışılmakla beraber, tedavi edilebilirlik imkanı yoktur. İkincil hasarlanmanın önlenemez ve tedavi edilebilir olması çalışmaların bu noktada yoğunlaşmasına neden olmaktadır. Sekonder hasarlanmadan sorumlu olan nedenlerin öğrenilmesi ve tedavi planının yapılması deneysel çalışmaların amacı haline gelmiştir (18,19,20,25).

İkincil hasarlanma, omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, akson ve nöron nekrozu gibi zincirleme ve birbirini etkileyen bir fizyopatolojik süreçtir. Bu fizyopatolojik süreç; nörojenik şok, hemoraji ve iskemi-reperfüzyonu içeren damarsal problemler, eksitotoksitite, kalsiyumla ilişkili sekonder hasar, sıvı elektrolit dengesizliği, immünolojik hasar, apoptoz ve mitokondrial disfonksiyonu içermektedir. İkincil omurilik yaralanması aşağıdaki şekildeki gibi özetlenebilir (26).

Tablo2.2 Omuriliğin ikincil yaralanma patofizyolojisi (26).



İkincil yaralanmada birbiri içine geçmiş bir çok mekanizma söz konusudur. Omurilik yaralanmasında erken dönemde görülen, diğer mekanizmaların tetiklenmesine de neden olan hücre membran geçirgenliğinin artması ve iyon

pompalarının bozulmasıdır. Hücrenin temel fonksiyonlarını yerine getirmede anahtar rol oynayan iyon dengesi, hücreyi apoptozise sürükleyecek şekilde bozulur.

Spinal kord yaralanmalarında sekonder hasar mekanizmaları birbiriyle ilişkili ve birbirini tetikleyen dört ana teoride toplanmıştır:

1. Serbest Oksijen Radikalleri Teorisi
2. Kalsiyum Teorisi
3. Opiat Reseptör Teorisi
4. Enflamasyon Teorisi

Serbest Oksijen Radikalleri Teorisi: İskemik dokuda fazla miktarda biriken radikaller ve onların ürünleri doku hasarının ilerlemesine neden olurlar.

Kalsiyum Teorisi: Serbest kalsiyum iyonlarının nörotransmitter kanallardan fazla miktarda geçişi sonucu doku yıkım enzimleri olan fosfolipaz, proteaz ve fosfatazın aktive olmaları doku harabiyetine neden olur.

Opiat Reseptör Teorisi: Naloxone gibi opiat reseptör blokörleri nörolojik iyileşmeyi hızlandırır.

Enflamasyon Teorisi: Lipid enflamasyon mediatörleri ve diğer sitokinler lezyon sahasında birikirler ve takiben makrofaj ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonuna neden olurlar.

Bu teoriler baz alınarak spinal kord yaralanmalarının medikal tedavisinde nöroprotektör etkisi olduğu düşünülen pek çok madde denenmiştir. Opiat reseptör antagonistleri, steroidler (Metilprednizolon), antioksidan maddeler ve serbest radikal tutucular, gangliozidler, tirotropin salıcı hormon ve analogları, araşidonik asit modülatörleri, glutamat reseptör blokerleri, monoamin modülatörleri, kalsiyum kanal antagonistleri, nonsteroidal antiinflamatuvarlar, immün supresifler, büyüme faktörleri, serotonin reseptör blokerleri ve sodyum kanal blokerleri bu amaçla kullanılmışlardır. Bunlar arasından sadece metilprednizolon klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (17,28,29,30,31).

2.4.1. Vasküler Değişiklikler

Akut omurilik yaralanmaları, yerel vasküler değişiklikler ile başlayıp sistemik vasküler değişikliklere neden olur. Vasküler değişiklikler sonucunda posttravmatik iskemi omurilik hasarının temel sebebidir. Posttravmatik spinal kord iskemisi travma

şiddeti ile lineer korelasyon göstermektedir. Birçok araştırmacı spinal kord yaralanmasının küçük damarlarda ani mekanik bir hasar yaptığını bunun da sekonder hasara yol açtığını saptamıştır (32,33,34,35).

Birincil yaralanma sırasında oluşan darbenin etkisi ile kapiller, venüller ve bazı arteriollerde yırtılmalar olur. Lokal olarak kan akımının bozukluğu sadece yaralanma bölgesinde sınırlı kalmamakta ve rostra-kaudal olarak ilerlemektedir. Mikrosirkülasyonun bozulmasına, direkt mekanik etkiye bağlı vazospazmın yanında glutamat, prostaglandinler, katekolaminler gibi travmaya sekonder salgılanan biyokimyasal ajanlarla oluşan vazospazm da sebep olmaktadır (36).

Omurilik yaralanması sonrasında gelişen, azalmış sempatik tonus ve parasempatik myokardiyak etkiler sonucunda, sistemik olarak meydana gelen şok, bradikardi, hipotansiyon ve azalmış kardiyak output gelişir. Bozulmuş olan otoregülasyon sonucu bölgesel end-kapiller kan akımı, sistemik arteriyel basınca karşı pasif direnç oluşturur ve akımı azaltır (37,38). Mekanik travmanın etkisiyle lokal olarak damar duvar bütünlüğünün bozulması neticesinde kan akımı azalmakla beraber, sistemik etkiler sonucundan bölgeye gelen kanın azalmasıyla beraber, posttravmatik iskemi derinleşir. Kord hasarının ciddiyeti posttravmatik iskemi ve aksonal disfonksiyon ile koreledir (34). Zaten yapılan deneysel çalışmalar göstermiştir ki travma sonrası hemodinaminin sağlanması nöroprotektif etki sağlamaktadır (39,40).

2.4.2. Elektrolitler ile İlgili İkincil Hasar

İkincil omurilik yaralanması sonrasında, temel hücre mekanizmalara bozulur iken hücre içi ve dışı elektrolit dengeleri de bozulur. Na, K ve Ca gibi hücrenin temel elektrolitleri denge halinde iken omurilik travmasında hücreyi ölüme sürükleyecek şekilde birikirler. Kalsiyumun hücre içi artışı özellikle iskemi ve travmada daha fazla olmak üzere, tüm nöral yaralanmalarda başrol oynamaktadır.

Kalsiyum iyon konsantrasyonu ekstrasellüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanması sonucunda kalsiyum hücre içinde, nöron fonksiyonlarını tamamen bozacak şekilde birikir. Hücre içi kalsiyum girişi merkezi sinir sisteminde “toksik hücre ölümünün son ortak yolu” olarak isimlendirilmektedir (41).

Omurilik travması sonucunda hücre içine kalsiyum girişi, hücre membran bütünlüğü bozulması sonucunda direkt olarak olduğu gibi voltaj ve glutamat bağımlı kalsiyum kanallarının bozulması neticesinde de olmaktadır.

Kalsiyumun hücre içine girmesi nörotoksisiteyi tetikler. Kalsiyum iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktive ederek hücre hasarının ilerlemesine neden olur (41). Fosfolipazlar hücre membranını yıkılmasını sağlayarak araşidonat gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz, araşidonik asiti prostaglandinler ve lökotrienlere dönüştürür. Kuvvetli vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla Ca^{++} girişine neden olarak; hücre içi Ca birikmesine bir kısır döngü oluşturur (42). Fosfatazlar nitrik oksit sentetaz gibi diğer enzimleri aktifler, ayrıca Ca^{++} iyon kanalları ve diğer iyon kanallarının çalışmasını düzenler (48). Hücreye Ca^{++} girişi ve serbest radikal oluşumu eş zamanlı olur ve sinerjistik etki gösterebilir. Proteaz aktivasyonu neticesinde de, hücredeki fonksiyonel protein yapıları yıkarken, ATP'az, SOD ve diğer enzimleri haraplar (43,44).

Spinal kord yaralanmasından sonra meydana gelen miyelin hasarı ile miyelin kılıfı tarafından sarılmış olan hızlı potasyum kanallarının aktivitesi artar ve membran potansiyeli potasyum denge potansiyeline yaklaşır. Sonuçta aksonal ileti bloğu oluşur (45).

Beyaz cevher yaralanması sonucu oluşan anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına sebep olarak Na^{+} kanallarından hücre içine Na^{+} akışını sağlar. İntrasellüler Na^{+} konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, Na^{+}/Ca^{++} deşitiricinin ters çalışmasına sebep olur. Bu da hücre içine zararlı miktarda Ca^{++} girişini sağlar (29).

2.4.3. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri, bir molekülün dış yörüngesine bir tek elektronun eklenmesiyle oluşan yüksek reaktivitesi olan kimyasal bileşiklerdir. Kısaca tek sayıda elektrona sahip olan moleküllerdir (46,47). Serbest oksijen radikalleri son yörüngelerinde yer alan çiftlenmemiş elektronları nedeniyle son derece kararsız moleküllerdir. Dış halkalarında bulunan çiftlenmemiş elektronu bir başka moleküle

vererek veya başka bir molekülden elektron alarak stabil hale gelirler. Tanımlama olarak günümüzde serbest oksijen radikalleri yerine, reaktif oksijen türevleri (ROT) terimi kullanılmaktadır.

Serbest radikaller organizmada, hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hemde çevresel faktörlerin etkisi ile oluşabilmektedir. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle başta lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA olmak üzere oksidlenebilen tüm hücre elemanları ile etkileşmektedirler (48).

İnsan vücudunda en fazla bulunan serbest radikaller oksijen kaynaklı olanlarıdır. Fakat pek çok sayıda serbest radikalın varlığı da gösterilmiştir. Serbest radikaller protein yapılarla, nükleik asitler ve DNA'yla, hücrenin enerji kaynağı olan karbonhidratlarla reaksiyona girerek, orijinal yapıyı bozarlar. Poliansatüre membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu iskemik nöronal hasarın gelişmesinde önemli bir mekanizmadır. Sonuç fonksiyonu kaybolmuş ve antijenitesi değişmiş hücre membranı ve hücre yapısındaki yıkımdır.

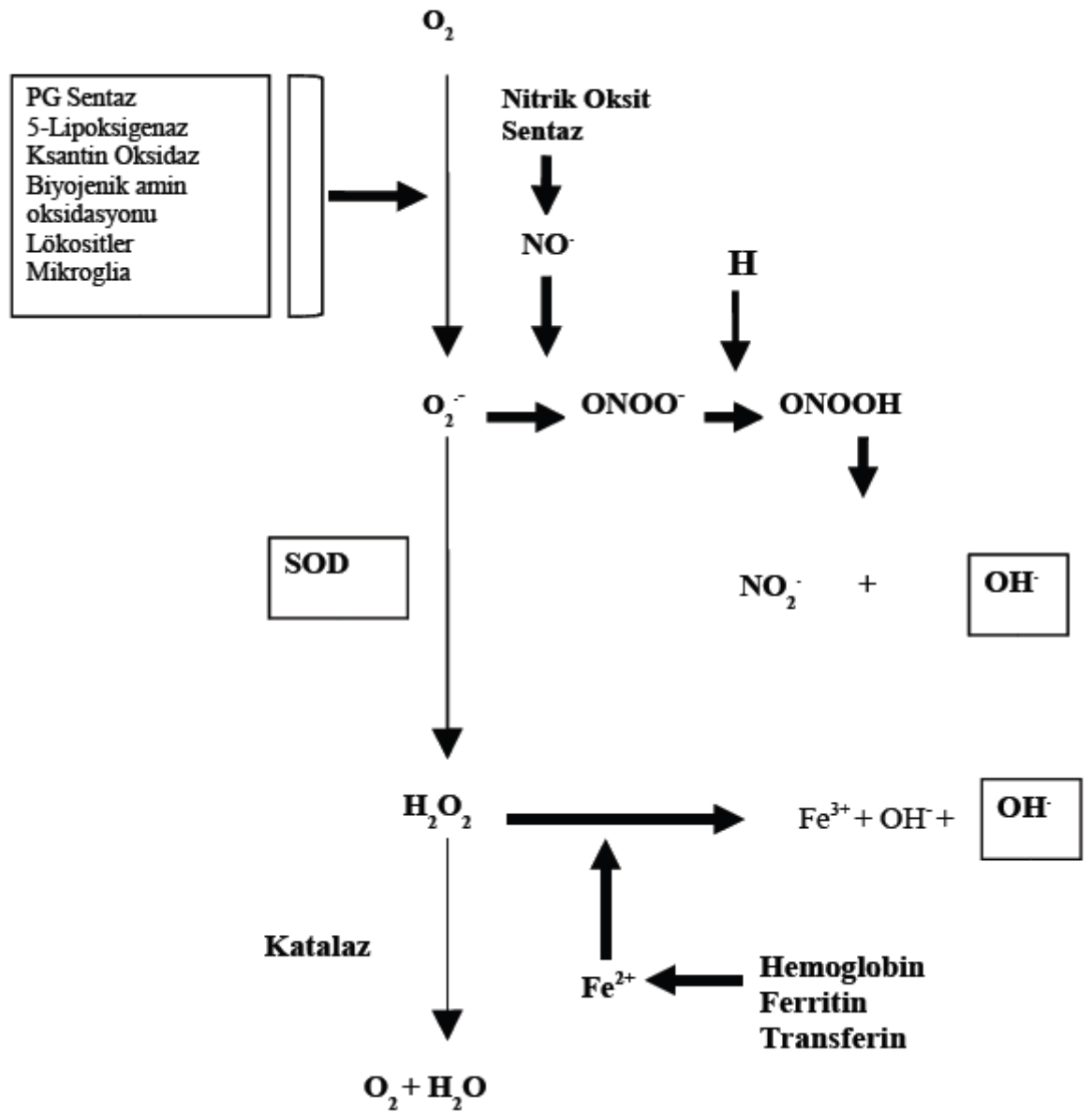
Reaktif oksijen türevleri arasında süperoksit radikal (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikal (OH^\cdot), perhidroksi radikali (HO_2) ve organik peroksi radikal (ROO^\cdot) sayılabilir. Hidroksil radikali (OH) hidrojen peroksite bir elektron ilavesi veya oksijen molekulüne 3 elektron verilmesiyle oluşur. Bilinen en güçlü oksidan radikaldır, küçük miktarlarda bile bulunduğu yerde aşırı hasar yapabilir (49).

Santral sinir sistemi yüksek konsantrasyonda poliansatüre yağ asidi içerdiği için serbest radikal reaksiyonları sonucu oluşan lipit peroksidasyonuna oldukça duyarlı bir dokudur (50). Biriken serbest radikaller hücre lipidlerine, proteinlerine ve DNA ya zarar verir. Serbest radikaller, mitokondride oluşur ve antioksidan sistemler ile zararlı etkileri engellenir (51). Serbest radikallerin aşırı artışı, antioksidan sistemlerin yetersiz kalmasına ve hücre ölümüne neden olur (52). Travma sonrası spinal korddaki hasarın çoğu glutamat eksitotoksitesinin sekonder etkileriyle ilişkilidir.

Hasara uğramış sinir sisteminde, travmadan birkaç dakika veya saatler sonra birçok sebepten dolayı superoksit radikali oluşur. Bu mekanizmalar; araşidonik asit kaskadı, biyojenik amin norotransmitterlerin otoenzimatik otooksidasyonu, mitokondrial ksantin oksidaz aktvasyonu ve ekstravaze hemoglobin oksidasyonudur (Tablo 2.2). Hücrenin maruz kaldığı iskemi ve bunu takip eden

reperfüzyon esnasındaki serbest oksijen radikali artışı karşısında, endojen antioksidanlar, serbest oksijen radikal temizleyicileri ve peroksidazlar yetersiz kalmaktadır (53).

Tablo 2.3 Serbest radikal oluşum kaynakları (48).



Organizmalar oluşan serbest oksijen radikallerinin hasarına karşı endojen koruyucu antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler (54). Akut omurilik travmasında bu

antioksidan mekanizmalar yetersiz kalmakta ve nörotoksik dozlarda oksijen radikalleri hücrede birikmektedir.

2.4.4. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, membranda bulunan (fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan) poliansatüre yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Normalde, düşük düzeyde tüm hücre ve dokularda meydana gelir (55). Lipid peroksidasyonu, hücre hasarının başlıca nedenidir ve iskemi dışında ısı, ışık, radyasyon, detoksifikasyon ve hızlı hücre bölünmesi gibi diğer etkenlerle de oluşmaktadır.

Lipid peroksidasyonu başlangıç (initiation) , ilerleme (propagation) ve bitiş (termination) olmak üzere üç fazda oluşur. Başlangıç döneminde, hız sınırlayıcı basamağı olup, reaktif elemanlar, özellikle hidroksil radikali ve oksijen radikalleri, poliansatüre yağ asitlerinden hidrojen alırlar. Böylece lipid radikalleri oluşur. Bunlar oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksi radikallerini oluştururlar. Çift bağların tekrar oluşturulmasıyla konjuge dienler oluşur. İlerleme döneminde zincirleme reaksiyonlar oluşarak yeni radikaller ortaya çıkar. Oksidatif hasar, membranlarda yağ asitlerinin birbirlerini etkileyebilecek kadar yakın yerleşmesinden dolayı komşu yağ asitlerine sıçrar. Bu ilerleme döneminde başlangıç takip eden binlerce reaksiyon, geniş bir hasar oluşturur. Lipid peroksidasyonu, radikallerin malondialdehide (MDA) dönüşümü ile sonlanır, in vitro membran lipid peroksidasyonunu tespit etmek için MDA düzeyinin ölçülmesi oldukça sık kullanılan bir metottur. MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir.

Biyolojik membranlar, poliansatüre yağ asitleri, oksijen ve metal iyonları yönünden oldukça zengin olduğundan oksidatif hasara açıktır. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır (56). Lipid peroksidasyonu, biyolojik zarların özelliklerinde ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparak hastalık patogenezinde önemli bir rol oynarlar (57,58,59). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar serbest radikal reaksiyonlarının ve özellikle lipid peroksidasyonunun, omurilik yaralanmalarında önemli yer tuttuğunu göstermektedir.

Gerçekten de santral sinir sisteminde deneysel olarak oluşturulan mekanik yaralanma ile kimyasal peroksidatif yaralanmanın büyük benzerlik göstermesi, serbest radikalleri temizleyen veya lipid peroksidasyonu inhibe eden bileşiklerin uygulanmasıyla posttravmatik patofizyolojik değişikliklerin bloke edilebilmesi ve fonksiyonel düzelmenin hızlanması bu teoriyi güçlendirmektedir (60,61,62,63,64).

Omurilik yaralanması sonrasında gelişen reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest radikallerin nöronal hücre, plazma ve organel membranları, vasküler endotel hücre membranı ve myelinde başlattıkları lipid peroksidasyonudur. İskemide başlayan lipolizin, reperfüzyon süresince de devam ettiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu nedenle reperfüzyonda, enzimatik lipoliz ve lipid peroksidasyonu, membran hasarında sinerjizm içinde sürmektedir.

Hücre membranında meydana gelen lipid peroksidasyonu membran lipoproteinlerinin oksidasyonu ve yapısal bütünlüğünün bozulmasına yol açarak, anormal iyon girişiyle birlikte hücre ölümüne neden olur. Bu olayın kontrol edilememesi halinde oluşan zincir reaksiyon ile hücre ölümünün yayılması ortaya (70). Ayrıca oluşan lipid peroksidasyonu ile birlikte mikrovasküler endotel hasarı oluşarak kan beyin bariyerinin bozulduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir.

2.4.5. Eksitatör Aminoasitler

Glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitler memeli santral sinir sisteminin ana nörotransmitterleridir. Nöron içine iyon geçişini kontrol ederler ve sinapslarda iletilerin yönlendirilmesinde önemli rolleri vardır. Normalde beyinde çok yüksek konsantrasyonda bulunurlar. Eksitatör aminoasitler aynı zamanda nörotoksisiteninde kaynağıdır. Fizyolojik koşullarda yüksek konsantrasyonda bulunsalar dahi hücre içine geri alınma mekanizmalar sayesinde herhangi bir nörotoksisiteye neden olmazlar. İlk defa Olney ve Sharpe'in (66), eksitatör aminoasitlerin nörotoksik etkilerini göstermesinden bu yana deneysel çalışmalar bu konuda hız kazanmıştır.

Omurilik yaralanması sonrası eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir (67). Glutamat hücre içine Ca^{+2} girişine izin vererek nöronları zedeler. Bunun sonucu olarak meydana gelen depolarizasyon ise voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının açılmasına neden olur veya NMDA, AMPA ve

kainat reseptörlerini aktifler. Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri aracılığıyla olurken, travmatik omurilik yaralanmasında AMPA ve kainat gibi non-NMDA reseptörleri üzerinden olmaktadır (20).

Glutamat artışı NMDA reseptörlerinin aşırı uyarımına neden olarak yüksek Ca^{+2} girisine bağlı olaylar zincirini başlatır ve buna bağlı olarak mitokondriyal işlev kaybı, nükleer şişme ve nekrotik hücre ölümü görülür. Hücre içi yüksek Ca^{+2} seviyeleri, fosfolipaz, proteaz ve endonükleaz gibi enzimlerin aktivasyonuna neden olur (3,68). NMDA antagonistlerinin verilmesi ile belirgin nörolojik düzelme sağlandığı gösterildiği gibi, AMPA antagonistlerinin verilmesiyle de , lezyon genişliği küçülür ve fonksiyonel düzelme ortaya çıkar (69). NMDA ve AMPA antagonistleri gibi ilaçların sistemik yan etkileri olması nedeniyle özellikle lokal uygulamalardaki etkinlikleri kullanılmalarını gündeme getireceği için önem taşımaktadır.

2.4.6. Opiat Reseptörleri

1970'li yılların başında santral sinir sisteminde opioid reseptörlerin varlığı radyoligand bağlama yöntemi ile gösterildi. Temel olarak iyi bilinen 3 tip reseptör mevcuttur. Bunlar μ (mü), δ (delta) ve κ (kappa) reseptörleridir. Bunlardan μ reseptörleri; supraspinal analjezi, solunum depresyonu, GİS fonksiyonları gibi aktivitelerden sorumludurlar. κ reseptörü ise supraspinal analjezi ve nosisepsiyon'dan sorumludurlar. δ reseptörü ise, spinal analjeziden sorumludur.

Akut omurilik yaralanması sonrası endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, ikincil hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (70). Opiatlar ekstraselüler glutamati serbestleştirir. Buna dayanarak opiat reseptör blokerlerinin akut omurilik yaralanmalarında faydalı etkisi bulunmuştur (71). Rastlantısal olarak metil prednizolonun da nöronlarda glutamata bağlı toksisiteyi önlediği bildirilmiştir (72).

Omurilik yaralanması sırasında dinorfin salınımı artar. İntratekal dinorfin uygulanmasıyla paralizi ve hücre hasarı bulguları ortaya çıkar. NMDA reseptör blokörlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar verici etkisini önlemesi ile opioidlerin eksitotoksik aminoasit salınımını artırdığını ve zararlı etkilerini eksitatör aminoasitler üzerinden yaptığı gösterilmiştir (73). Opiat reseptör blokajının ilerleyici

doku hasarını önlemesi, sekonder yaralanma patofizyolojisinde endojen opioidlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür (69).

2.4.7. İnflamasyon Cevabı

Enflamasyon, inflamasyon, yangı veya iltihaplanma, canlı dokunun her türlü canlı, cansız yabancı etkene verdiği sellüler, humoral ve vasküler bir seri vital yanıttır. Bu yanıtın ana kaynağı birincil travmanın yol açtığı doku hasarlarının ortamda uzaklaştırılma isteği olmaktadır. Bu reaksiyonda en önemli nokta nötrofillerin bölgeye göç etmesi ve sonucunda endotel hücre hasarı gelişmesidir. Nötrofillerin aktive olması neticesinde serbest radikaller salgılanır ve proteazlar açığa çıkar.

İnflamasyon, organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (74). Omurilik yaralanması sonuç fazında inflamasyon ve demiyelinizasyon gelişir. İnflamasyonun erken döneminde nötrofiller hakim iken, daha sonra makrofajlar kanamalı ve nekrotik dokuların ortadan kaldırılması olayına katılırlar.

İnflamasyon, spinal kord yaralanması sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioler vazodilatasyon oluşur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben vasküler permeabilitede artışa sebep olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle başlar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır.

İnflamasyon omurilik yaralanmasının ilk 24 saatinde başlar ve birkaç gün devam eder. Wallerian dejenerasyonu ve skar dokusu oluşumu ile sonuçlanan bu olayda astrositler ve diğer glial hücreler ağırlıklı rol oynar, fibroblastlar da ayrıca katkıda bulunurlar (17).

Akut inflamasyon özellikle hemoraji bölgesindedir. Bu bölgeden salgılanan bir takım mediatörler ile bölgeye hücre göçü başlamaktadır. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre göçü iki dalga halindedir. Birinci dalgada polimorfonükleer granulosit infiltrasyonu varken, ikinci dalga monosit ve makrofajlar tarafından

gerçekleştirilir. Polimorfonuklear granulositler lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infitre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. İkinci dalgada yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferik hücreler monosit/makrofaj ve mikroglial gruptur. Burada asıl fonksiyonun hücre debrisinin fagositozu olduğu düşünülmektedir (75).

Lezyon bölgesine göç eden nötrofillerin tetiklemesi ile oluşan serbest radikaller ve bunun etkisiyle gerçekleşen lipid peroksidasyonu sonucunda arışidonik asit metabolitleri olan bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, platelet-aktive edici faktör ve serotonin gibi enflamasyon mediatörleri yaralanmış omurilikte lezyon bölgesinde birikirler. Aynı zamanda inflamatuvar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku hasarının hızla ilerlemesine neden olurlar (42).

Arişidonik asitin yıkılması ile oluşan sitokinlerin bir kısmı antiinflamatuvar iken diğer bir kısmı da proinflamatuvar özelliklere sahiptirler. Spinal kord travmalarında IL-1, IL-2, IL6 ve tümör nekroz faktör (TNF) seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (76).

2.4.8. Lizozomal Proteazlar

Lizozomlar tek bir membran ile çevrili veziküler yapıli organellerdir. Ortalama olarak bir hücrede 300 lizozom bulunur. Lizozomal protein yıkımından sorumlu olan enzimlerde katepsinlerin, ikincil omurilik yaralanmasında yeri, son zamanlardaki çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

Lizozomal proteazlar iskemik ve eksitoksik nöronal hücre ölümünde önemli rol oynarlar. Lizozomal proteaz grubundan olan katepsin B, çapraz bağlara yakın bölgelerdeki bağları parçalayarak sarmal yapının stabilitesini bozar ve proteolize yardım eder. Literatürde katepsin B'nin akut spinal kord travmasında arttığını gösteren pek çok çalışma mevcuttur (77,78).

Lizozomal asidik proteaz grubundan olan katepsinlerin, apoptozis regulasyonunda önemli rolü vardır (79,80). Katepsin B merkezi sinir sistemi hastalıklarında ve yaralanmalarında proteaz rolü üstlenerek görev yapar. Son zamanlarda yapılan deneysel rat çalışmalarında katepsin B'nin akut omurilik yaralanması sonrasında motor nöronların ölümü ile yakında ilişkili olduğu gösterilmiştir (81). Travma sonrası omurilikteki enflamasyonda etkin rol oynayan

makrofajların lizozomal aktivitelerinin katepsin D ile yakından ilişkili olduğu saptanmıştır (82).

İslekel ve ark.(84) sıçan beyinde kısa süreli derin iskemi reperfüzyon sonrasında katepsin L aktivitelerini, penumbral iskemi reperfüzyon ve kontrol gruplarına göre yükselmiş olarak bildirmişlerdir. Seyfried ve ark. (84) iki saatlik a. cerebri media tıkanması ve reperfüzyonu sonucunda katepsin B aktivitesinin ve ekspresyonunun arttığını gözlemlemişler, bunun da nöronal ölüme neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Beyinde iskemi derinleştikçe lizozomal proteolitik enzim aktivitesi artmaktadır. Bu intraselüler proteoliz artışının geri dönüşümsüz hücre hasarında rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

2.5. Akut Omurilik Yaralanmasında Farmakoterapi

Omurilik yaralanması ve eşlik eden nörolojik bozukluklarının altındaki temel mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamakla birlikte, omurilik yaralanmasının tedavisinde ve eşlik eden nörolojik bozukluklarının önlenmesinde nispeten az ilerleme elde edilmiştir. Tüm genel vücut yaralanmaları arasında medikal tedaviye en olumsuz yanıtın alındığı yaralanmalardır. Pek çok protektif ajan tedavide denenmesine rağmen bunlardan sadece metilprednizolonun, kontrollü, çok merkezli ve geniş klinik çalışmalarda, insanlarda fonksiyonel iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir (85).

Spinal kord travmasında farmakoterapinin teröpatik rolü üç safhada olmaktadır (86,87). Birinci safha akut dönemdir ve immün ya da inflamatuvar yanıt, ekzotoksisite, lipid peroksidasyon ve serbest oksijen radikallerinin yer aldığı patofizyolojik hasarın önlenmesine yöneliktir (88). İkinci safha subakut dönemi yani nörorejenerasyonu ve nörotrofik tedavileri kapsar (89,90). Üçüncü ve son safha ise kronik dönemdir. Doku ya da mezenkimal stem cell transplantasyonunun olduğu nörotrofik tedavilerdir (91,92,93,94).

2.5.1. Kortikosteroidler

Bracken ve ark.'nın 1991'de yayınladıkları çok merkezli, randomize kontrollü çalışmaya kadar, travmatik spinal kord hasarlı hastalarda nörolojik

iyileşmeyi artıracak bilinen tedavisi yok denilmekteydi. Ancak bu çalışmanın, yaralanmadan sonra 8 saat içinde başlayıp 24 saat süren tedavide verilen yüksek doz metilprednisolon uygulamasının (total doz 154,2 mg/kg/24 st), nörolojik fonksiyonu iyileştirdiğini göstermesi, akut spinal kord hasarının farmakolojik tedavisi için önemli vaat vermiştir (95).

Klinik çalışmalarda metilprednizolon diğer kortikosteroidler olan deksametazon ve hidrokortizona göre daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle ön plana çıktı.(95) Metilprednizolon sentetik bir glukokortikoid steroid olup, güçlü anti-inflamatuar etkisiyle birlikte akut omurilik yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir (96).

Metilprednosolon, nöral doku yaralanmalarında üzerinde en çok çalışılan ajanlardan biri olmasına rağmen tartışmaların odağında ajanlardandır. Bilinen tek tedavi şekli olmasına rağmen hasar görmüş dokunun yenilenmesinde veya fonksiyonunun geri kazanılması üzerine bir etkisi olmadığı bildirilmiştir.

MPSS ile ilgili çok merkezli ve kontrollü ilk çalışma, “National Acute Spinal Cord Injury Study-NASCIS” olarak bilinen çalışma serilerinin ilki olan ve 1979–1984 yılları arasında yapılan NASCIS-I’dir. Daha sonraları bu çalışma serilerine devam edilmiştir. Bugün için rutin tedavide kullanılan ilk 8 saat içinde 30 mg/kg/ 15 dakika, devamında 5.4 mg/kg/ 23 saat infüzyon dozları NASCIS-II çalışması sonucunda elde edilmiştir ve morbidite ve mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir.(100,101) NASCIS II tedavisi NASCIS III çalışması ile değişikliğe uğramıştır. NASCIS III çalışmasına göre yaralanma sonrası ilk 3 saat içinde tedaviye alınan ve 48 saat sürdürülen hastalarda sonuçlar daha iyi bulunmuştur (26,97).

Metilprednizolonun spinal kord hasarını azaltıcı etkisini oluşturmasının birçok mekanizmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunların; lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımının ve aerobik enerji metabolizmasının düzenlenmesi ile ilerleyici posttravmatik iskemiden korunma, nöroflament degradasyonunun inhibisyonu, intrasellüler kalsiyum birikiminin engellenmesi, vasoaktif prostoglandin F2 α ve tromboksan A2 formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir (70).

2.5.2. Kalsiyum Kanal Blokörleri

Akut omurilik yaralanması sonrasında, hücre membranının hasara uğraması ile kalsiyum kanallarının depolarize olur ve kalsiyumun hücre içine akışı olur. Kalsiyumun doğrudan nörotoksik etkisinden başka vasküler düz kas hücreleri üzerinde de kasılmaya yol açarak vazospazma neden olur. Bu şekilde kalsiyum hem doğrudan hücreyi etkileyerek hücre ölümüne yol açmakta, hem de kan akımını bozup enerji metabolizmasını etkileyerek diğer hücrelerde sekonder hasarlanmaya neden olmaktadır (70). Kalsiyumun iskemi ve nörotoksik etkilerini engellemek amacıyla deneysel olarak pek çok kalsiyum kanal blokörü denenmiştir.

En çok çalışılan maddelerden birisi, merkezi sinir sistemi için selektif etkinliği olduğu düşünülen nimodipindir. Nimodipinle yapılan pek çok çalışmada, nöroprotektif etkiden çok posttravmatik kan akımını artırdığı saptanmıştır. Takiben, nimodipin verilmesiyle birlikte, kardiyak debinin ve intravasküler volümün artırıldığı çalışmalarda bir miktar nöroproteksiyon sağlanmıştır. Bunun yanında Tator ve ark. (98) yaptığı çalışma sonucunda nimodipinin akut omurilik travmasında olumlu bir değişikliğe yol açmadığı bulunmuştur. Nimodipin ile ilgili bir diğer olumsuz deneysel bulgu yaralanmadan sonra en geç 1 saat içinde verilmesi gerektiği ve bu süreden sonra olumlu etkisi olmadığı belirtilmesidir (70,98,99). nöroprotektif etkisinin tartışmalı olması ve travma sonrası ilk bir saatte verilmesinin gerekmesi gibi olumsuz yönlerinden dolayı nimodipinin klinik kullanımdaki yerini güçleştirmiştir.

2.5.3. Potasyum Kanal Blokörleri

Akut omurilik travması sonrasında demiyelinizasyon, K kanallarının açılmasına dolayısıyla hücre içi K birikimine neden olmakta ve uzun dönemde motor ve duysal bozukluklara yol açan önemli bir faktördür. Potasyum kanal blokerlerinin kronik dönemde nöronal fonksiyonun yeniden sağlanmasında olumlu etkilerinin olduğuna inanılmaktadır (99,100).

2.5.4. Sodyum Kanal Blokörleri

Akut omurilik travması sonrasında hücreyi ölüme sürükleyen intrasellüler olarak nörotoksik dozda biriken elektrolitlerden biri de sodyumdur. Tetrodotoksin

(70,101) ve Riluzol (102) gibi sodyum kanal blokerleri ile yapılan deneysel çalışmalar uzun dönemde nörolojik iyileşmeyi önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır.

2.5.5. Opioid Reseptör Antagonistleri

Deneysel omurilik yaralanmalarından sonra endojen opioid peptidlerde yerel artış olmakta ve bunlar da opioid reseptörleri aracılığı ile sekonder hasarda önemli rol oynamaktadırlar (41). Omurilik yaralanmalarında opioid reseptörlerinin rolü ortaya konduğundan bu yana deneysel farmakolojik ajanlar arasında opioid reseptörleri kullanılmaktadır.

Non-spesifik opioid antagonisti olan nalokson bu amaçla deneysel omurilik travmalarında kullanılmıştır. Naloksan, yaralanma sonrası endorfin salınmasını nötralize ederek omurilik kan akımını artırmaktadır. Ayrıca naloksanın paretik hastalarda daha etkili olduğu gösterilmiştir (103,104,105). Bunun yanında NASCIS-2 çalışmasında plaseboya göre daha etkili olmadığı gösterilmiş ise de (103) tam olmayan omurilik kesilerinde nalokson kullanımının plaseboya göre anlamlı derecede nörolojik düzelme sağladığı gösterilmiştir (106). Akut omurilik travmalarında opioid antagonistlerinin tedavi yöntemi olarak kullanılabilmesi için daha çok laboratuvar ve klinik çalışmaya gereksinim vardır.

2.5.6. Tirotropin Salgılatıcı Hormon ve Analogları

TRH ve analoglarının akut omurilik yaralanmalarında kan akımını arttırdıkları, elektrolit balansını düzenledikleri, hücresel enerji düzeyini restore ettikleri ve lipit peroksidasyonunu azalttıkları düşünülmektedir (107). TRH yarı ömrünün çok kısa olması nedeniyle daha stabil analogları geliştirilmiştir.

TRH'un omurilik yaralanmasındaki spesifik etkisi iyi bilinmemekte ise de spinal refleksleri potansiyelize ettiği ve kollinerjik nöronlar üzerinde tropik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle TRH, yaralanmanın genişlemesini önlemekten çok iyileşme fazında daha etkili olabileceği belirtilmiştir (107).

2.5.7. Gangliozidler

Gangliozidler asidik glikolipidler olup hücre membran dış lipid tabakasındaki ana maddedir. Gangliozidler ön sürülen etki mekanizmaları eksitatör amino

asidlerin salınımını azaltmaları, protein kinaz C regülasyonu ve NO oluşumunu engellemelerine bağlıdır (108). Sonuç olarak aksonal büyümeyi yani hücre rejenerasyonunu arttırlar.

Bir çalışmada 100 mg/gün GM-1 travmadan 48 saat sonra başlanmış ve ortalama 26 gün uygulanmıştır. Bir yıl sonunda hastalar Frankel ve ASIA motor skoruna göre değerlendirildiklerinde GM-1 anlamlı düzeyde yararlı olarak bulunmuştur (86,108,109).

2.5.8. Serbest Radikal Tutucular

Steroidler ile yapılan deneysel çalışmaların asıl faydalı etkiyi steroidlerin antioksidan özelliklerinin sağladığının ortaya konması ve ikincil hasarlanmada serbest oksijen radikallerin etkilerinin ortaya konmasından sonra, deneysel çalışmalar bu noktaya yönelmiştir. Bu amaçlı pek çok antioksidan ajan kullanılmıştır. Bunlardan 21-aminosteroid, tirilazad mesilat, siklosporin A gibi antioksidanlardan da yeterli etki sağlanamamıştır. Yakın zamanda yapılan deneysel çalışmalarda kullanılan melatonin (28) ve magnezyum (30) ultrastrüktürel iyileşme sağladığı ve lipid peroksidasyon üzerinden nöroprotektif etkisi olduğu gösterilerek ümit vadeden antioksidanlardır. Diğer bilinen antioksidanlar vitamin A ve vitamin C tedavisinin faydalı olduğu gösterilmiştir (70). Yine yapılan birçok santral sinir sistemi yaralanma modelinde α -tokoferol tedavisinin doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (108).

2.5.9. Ekstibatör Aminoasit Antagonistleri

Eksitatör aminoasitler (özellikle glutamat) NMDA reseptörlerini uyararak hücre içine kalsiyum girişini başlatırlar. Travma sonrası sinaptik aralıkta eksitatör aminoasit konsantrasyonunun artışı hücre içine kalsiyum girişini artırır. Kalsiyumun hücre içine girişi hücre ölümüne kadar giden bir reaksiyon zincirini başlatır.

MK-801 ve dekstrometorfan gibi NMDA reseptör antagonistlerinin etkili oldukları ve nörolojik iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir (74). AMPA ve kainat reseptör antagonistleri de çalışılmıştır. GYKI 52466 AMPA reseptör antagonisti olup deneysel çalışmalarda akut omurilik yaralanmalarından sonra önemli terapötik nöroprotektif etkili olduğu bildirilmiştir (17,110,111).

Travmaya sekonder ekstraselüler glutamat artışının 1–2 saat içinde normale döndüğü gösterilmiştir. Bu mekanizma ilaçların ilk 1–2 saat içinde uygulanması zorunluluğunu getirmektedir (109). Daha geç uygulanan NMDA agonistlerinin glutamat nörotoksisitesini arttırdıkları gösterilmiştir (110). Eksitator aminoasit antagonistlerinin, sistemi yan etkilerinin oluşu ve yaralanma sonrasında ilk 1-2 sa kullanım zorunluluğu klinik kullanımlarını güçleştirmektedir.

2.5.10. Antiinflamatuvar Ajanlar

Akut omurilik yaralanması sonucunda, hücre membranı parçalanmış nöronlarda arışidonik asit gibi yağ asitleri serbestleşir. Arişidonik asit yıkımıyla oluşan son ürünler prostoglandinler ve lökotrienler, hücre şişmesine ve kan akımı değişiklerine neden olarak, enflamatuvar prosesin başlamasına neden olur.

Klinik tedavi protokolünde yer alan tek ajan metilprednozolonunda inflamatuvar cevabı kısmen ya da tamamen inhibe ederek etki göstermektedirler. Klorakin ve kolşisin kullanımının, spinal kordda iskemi sonrası inflamatuvar değişiklikleri ve doku hasarını azalttığı deneysel çalışmalarda bildirilmiştir (112). Ancak pek çok uygulanan anti-enflamatuvar ajanların dozu, nöroprotektif etki için toksik olduğu bildirilmiştir (99,113).

2.6. Kefir

Probiyotikler, çoğunlukla bakterilerden oluşan canlı mikroorganizmalar olup, günlük sağlıklı kişilerin kullanabileceği, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım olanağı olan besinlerdir. Probiyotiği, Birleşmiş Milletler Yiyecek ve Tarım Örgütü ("Food and Agriculture Organization of the United Nations") ve Dünya Sağlık Örgütü uzman heyetince 'yeterli ve uygun miktarda alındığında kişinin sağlığına olumlu katkıları olan canlı mikroorganizmalar' olarak tanımlamışlardır (114). Kefir, probiyotik besin grubunda yer alan, yaşam uzaması ile ilişkilendirilen besindir.

Kefir adı, kef'ten türetilmiş olup, Türkçe mutluluk verici tat olarak tanımlanmıştır. Kefir'in kelime anlamı: Kafkasça'da''En iyi kalite''; Türkçe'de ''Kef'':''Sarhoş eden'', ''başa vuran'' anlamları taşır. "Sevinç içkisi", "gençlik iksiri", "süt-yoğurt şampanyası" isimleri ile de bilinir (115). Hâlâ üretilmekte olan

ürünler kefir, kiaphur, kefyr, kefer, knaphon, kepi ve kipe adlarını almaktadırlar (116).

Tarihte üretildiği zamana ait kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak bilinen; ilk olarak Küzey Kafkas'ya da Elburus dağları eteklerinde bulunan "Gaucase" köyündeki yaşayan kabilelerden geldiğidir. Bu bölgede yaşayan insanların uzun yaşamasında etkisi olduğu bildirilmiştir (117). O zaman için koyun ve keçi sütünün mezofilik şartlarda hayvan derisinden yapılan çantalarda, kilden yapılmış çömlerlerde, deri torbalarda veya tahta kaplarda kefir taneleri ile fermentasyona bırakılmasıyla yapılmakta idi. Geleneksel kefir üretiminin yanı sıra çağımızda endüstriyel kefir üretimide yapılmaktadır.

Kefir bir süt ürünü olup, kefir tanelerinin süt ile inkubasyonu sonucu asidik ve alkolik fermentasyonları neticesinde oluşmaktadır (118). Beyazımtarak renkte, karnıbaharı andırır şekilde ve genellikle bezelye veya fındık büyüklüğünde tanelerden oluşan, sindirimi kolay, serinletici, hafif alkollü, ekşi ve köpüklü bir süt ürünüdür. (Şekil 2.1) Fermentasyondan sonra süzülerek tekrar kullanılabilmesi en önemli özelliklerindedir (119).



Şekil 2.1 Kefir taneleri

Kefir ieeği bileşiminde %0,5-1,5 etil alkol, yaklaşık %0,7 süt asiti ve kullanılan sütün yağ oranına bağlı olarak değişmekle birlikte, ortalama %3,2 yağ barındırmaktadır. Kefir taneleri, içerisinde simbiyoz halde yasayan laktozu fermente eden ve etmeyen mayalar ile laktik asit bakterileri ve asetik asit bakterilerinin farklı türlerini içeren kompleks bir mikrofloraya sahiptir (117). Kefir tanelerinde dıştan içe doğru bakteri sayısı azalırken merkezinde maya kolonileri artmaktadır. En yoğun bakteri kolonisi dış kısmında yer almaktadır.

Kefirin bileşimi ve kimyasal özellikleri; yapımında kullanılan süte, inkübasyon ve depolama süresine, kefir tanesinin mikrobiyolojik yapısına göre değişiklik gösterebilmektedir. Ancak aşağıdaki yer alan veriler pek çok çalışmada elde edilen verilere yakın değerlerdir. Kefirin kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri aşağıdaki tabloda yer almaktadır.

Tablo 2.4 Kefirin kimyasal ve mikrobiyolojik analizi (121).

Kimyasal analiz		Mikrobiyolojik analiz	
Madde	%		
		Aerop mezofilik canlı	1.04×10^9 kob/ml
Su	86-89	Laktik asit bakterileri	9.87×10^8 kob/ml
Kuru madde	11-14	Laktik streptokok	4.38×10^8 kob/ml
Yağ	2.8-3.3	Enterekok	7.80×10^4 kob/ml
Süt şekeri	2.7-2.9	Total koliform	0 kob/ml
Mineral madde	0.6-0.9	Maya sayıları	1.26×10^5 kob/ml

Kefirin kimyasal analizinden anlaşılacağı gibi, kefir süt içindeki tüm maddeleri içermektedir. Kefirin içindeki yüksek miktardaki laktik asit bakterileri ise kefirin antioksidan özelliğinden sorumlu tutulmaktadır.

Kefir hakkında ilk bilimsel çalışma 19.yy'ın sonunda Rusya'da, barsak ve mide rahatsızlıklarında tedavi amaçlı kullanılmak üzere yapılmıştır. Bu çalışmada, aynı zamanada Nobel ödülü almış bir çalışmadır, modern immünolojinin babası ve mikrobiyolog Rus bilim adamı Methcnihoff, fermente süt ürünleri (kefir) tüketimine bağlı, etnik gruplar arasında uzun yaşam farklılığına dikkat çekmiştir.

Çevikbaş ve arkadaşları kefir'in, dünyanın çok değişik bölgelerinde tüberküloz, kanser ve GİS patolojilerinde kullanıldığını belirlemişlerdir (121). Japon bilim adamları Shiomi ve arkadaşları 1982'de, kefirde izole ettikleri KGF-C'yi, (suda çözünür polisakkarit) oral olarak 0,05-2 mg/gün verildiğinde Erlik karsinoma hücrelerinin (deneysel amaçla en yaygın olarak kullanılan asitik tümörler) gelişmesine % 40 - % 64 ve " sarkoma-180 " kanser hücrelerinin gelişmesini de % 20 - % 90 engellediğini bildirmişlerdir (119).

Kefirin bilimsel araştırmalar sonucunda sağlık açısından önemli etkileri şu şekilde sıralanabilir (122,123).

- Kan kolesterolunu dusurur,
- Immun sistemi güçlendirir,
- Laktoz intoleransını önler,
- Antibakteriyel ve antifungal etkiye sahiptir,
- Antioksidatif etki gösterirler,
- Antimutajenik ve antitumor aktivite gösterir,
- Kalp ve damar rahatsızlıklarında etki gösterir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma tarih ve numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan deneyleri Yerel Etik Kurul 31.03.2011 tarih ve 193-1 kayıt numaralı kararı ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (TİCAM) yapıldı. Çalışmada, 200-250 gr. Arasında ağırlıkları değişen Spraque Dawley ırkı dişi sıçanlar kullanıldı. Araştırma yeterli hava sirkülasyonu ve çevre ısısının sağlandığı odalarda yapıldı. Lezyon yapıldıktan sonra tüm deneklere ayrı ve kolay beslenmelerini sağlayan kafeslerde bakım uygulandı.

Deneklerin uyutulması işleminde 60 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç San., İstanbul) ve 12 mg/kg Ksilazin (Rompun, Bayer İlaç Sanayi, İstanbul) karışımının intraperieneal yol ile verilmesi ile genel anestezi sağlandı. Rahat bir cerrahi girişim sağlamak amacı ile özel tahtalar ve sabitleyiciler ile deneklere cerrahi girişim yapıldı.

Bu deneysel çalışmada cerrahi kesi sıçanın sırt kısmında, tıraş yapıp antisepti sağlandıktan sonra yapıldı. Deneysel çalışmada beş grup yer almış olup, toplam 40 adet rat kullanıldı. Torakal dokuz ve torakal on bir vertebra hizasından lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçildi . Fasya açılarak paravertebral adaleler subperiostal sıyrıldı. Torakal dokuz ve onuncu vertebraya laminektomi yapıldı. Omurilik açığa çıkarıldı (Şekil 3.1). Omurilik travması klip kompresyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Klip kompresyon yönteminde 1,43 N kuvvet uygulayan (Yaşargil, FE 740 K, Aesculap AG, Almanya) anevrizma klipi kullanıldı. Klip epidural olarak altmış saniye süreyle uygulandı (Şekil 3.2). Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu görüldü (Şekil 3.3). Kontrol grubu hariç travma uygulanan sıçanlar travmadan sonra parapelejik olduğu tespit edildi.

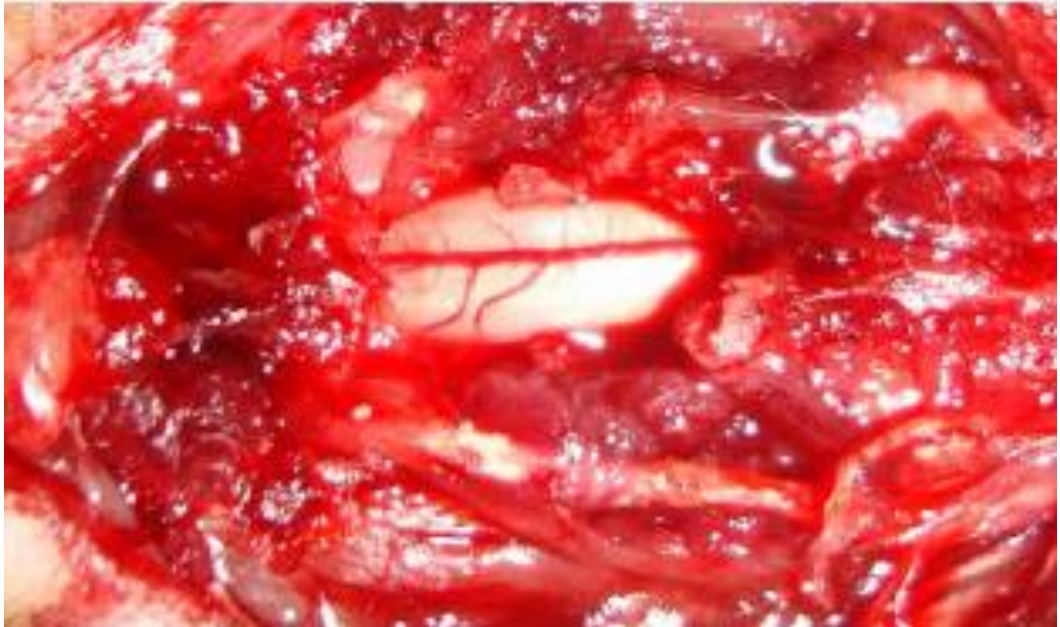
1.Grup (Kontrol): 8 sıçan alındı. T9-T10 laminektomi yapıldı. Travma veya medikal tedavi uygulanmadı. 48 saat sonra biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amacıyla omurilik doku örnekleri alındı.

2.Grup (Travma): 8 sıçan alındı. T9-T10 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klipi ile 60 sn kadar omurilik komprese edildi. 48 saat sonra biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amacıyla omurilik doku örnekleri alındı.

3.Grup (Travma+Tedavi): 8 sıçan alındı. T9-T10 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klipi ile 60 sn kadar omurilik komprese edildi. Travma sonrası metilprednizolon yükleme dozu olarak 30mg/kg daha sonra idame 6h arayla 5,4mg/kg intraperitoneal yolla 24 saatte, metilprednizolon tedavisi verildi. 48 saat sonra biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amacıyla omurilik doku örnekleri alındı.

4.Grup (Travma+Tedavi+Kefir): 7 gün süreyle 2*1cc/100gr orogastrik kefir verilen 8 sıçan alındı. T9-T10 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klipi ile 60 sn kadar omurilik komprese edildi. Travma sonrası metilprednizolon yükleme dozu olarak 30mg/kg daha sonra idame 6h arayla 5,4mg/kg intraperitoneal yolla 24 saatte, metilprednizolon tedavisi verildi. 48 saat sonra biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amacıyla omurilik doku örnekleri alındı.

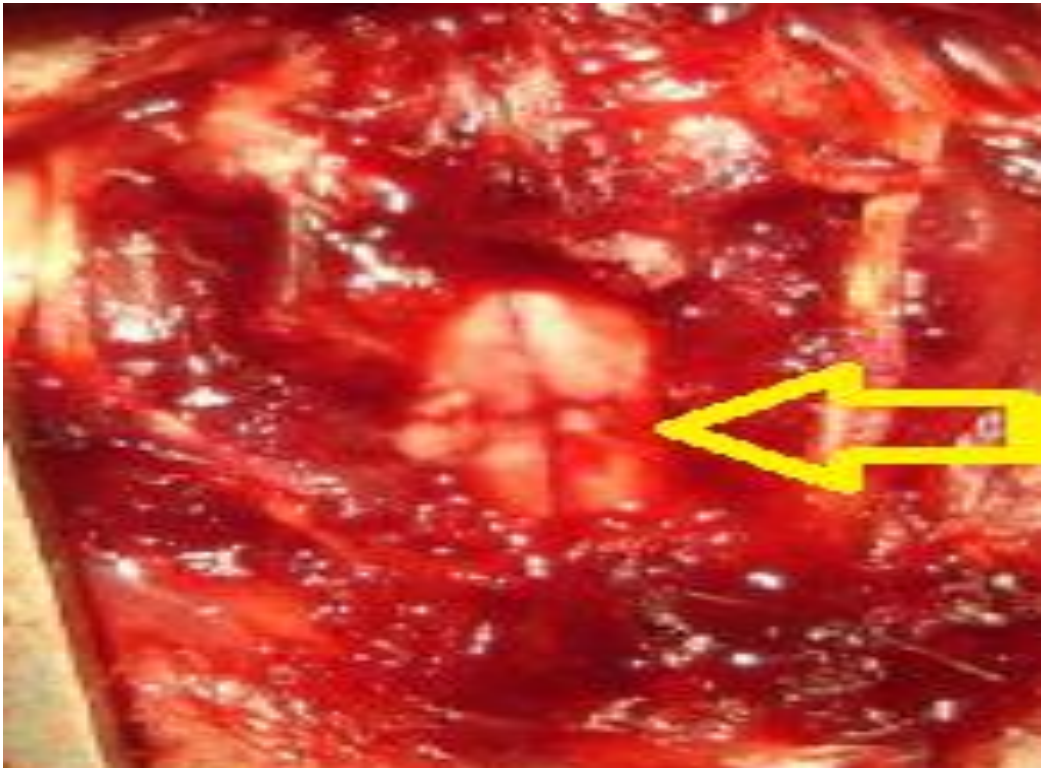
5.Grup (Travma+Kefir): 7 gün süreyle 2*1cc/100gr orogastrik kefir verilen 8 sıçan alındı. T9-T10 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klipi ile 60 sn kadar omurilik komprese edildi. 48 saat sonra biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme amacıyla omurilik doku örnekleri alındı.



Şekil 3.1 Laminektomi sonrasında omurilik görüntüsü



Şekil 3.2 Omuriliğe, klip kompresyon uygulanması.



Şekil 3.3 Deneysel yaralanma sonrası omurilik görüntüsü

3.1. Biyokimyasal Ölçümler

Süpernatandan sitozolik fraksiyonun elde edilmesi için spinal kord dokusu homojenatı sükröz Tris-HCL tamponunda (0.32 M sucrose, 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.4) homojenizatör kullanılarak hazırlandı. Daha sonra homojenatlar +4 oC'de 5 dakika boyunca 1000 g'de santrifüj edildi. Pelletler ayrıldıktan sonra süpernatantlar +4 oC'de 20 dakika boyunca 10 000 g'de santrifüj edildi. Süpernatantlar sitozolik fraksiyon olarak kullanıldı. Pellet ise 1 ml Triton X 100 içeren tampon ile resüspanse edilerek lizozomal fraksiyon olarak kullanıldı. Sitozolik ve lizozomal fraksiyonlarda ayrı ayrı ölçülen katepsin aktivitelerinin oranı lizozomal bütünlüğün miktarını gösterdi. Katepsin B ve L enzim aktivitesi Kirschke ve ark.'nın modifiye ettikleri yöntemle ölçüldü. Enzim aktivitesi metilkumarilamid substratı kullanılarak ölçüldü. 75 ml. Madde B (8.0 mM L-sistein) 0.90 ml. Madde C (% 0.1 (v/v) Brij 35 çözeltisi), 0.10 ml. homojenat karıştırıldı. Üzerine 0.75 ml madde D (0.02 mM Z-arg-arg-7-amido-4-metilkumarin ve 0.02 mM Z-Phe-Arg-7-Amido-4-Methylcoumarin) konulduktan sonra oluşan floresans 348 nm eksitasyon ve 440 nm emisyonunda ölçüldü (77).

Lipid peroksidasyonu ürünlerinden olan malondialdehit (MDA) tayini, tiyobarbitirik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyon vererek 532 nm dalga boyunda ölçülebilen renkli bir bileşik vermesi esasına dayanmaktadır. Tetrametoksipropan standart olarak kullanıldı. Sonuçlar, nmol/ml olarak tanımlandı. Bu yöntemde; tiyobarbitirik asitle reaksiyon veren maddeler ölçülecek olup, literatürde TBARS olarak yer almaktadır (77).

Doku homejenatlarından 0,5 ml alınarak üzerine 0,5 ml fosfat tamponu, 0,5 ml %15'lik trikloroasetik asit solüsyonu ilave edilerek vortekslendi ve buz keseleri üzerinde 2 saat tutuldu. 4^oC'de 4400 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Sonra 1 ml süpernatant alınıp üzerine 75 ul 0.1 M EDTA ve 250 ul 0.05 N NaOH içerisinde hazırlanmış % 1'lik TBA solüsyonu ilave edildi, 15 saniye vortekslenir ve kaynayan su banyosunda 15 dakikada tutuldu. Absorbanslar, 532 nm dalga boyunda köre karşı spektrofotometrede ölçüldü.

3.2. Histolojik İnceleme İçin Örneklerin Hazırlanması

Gruplarını oluşturan tüm sıçanlardan medulla spinalis örnekleri alındı. Alınan medulla spinalis örneklerinin % 10'luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile

fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70'lik, %80'lik, %90'lık ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'er dakika ksilolde bekletildi. Medulla spinalis örnekleri şeffaflanmalarının ardından etüv içinde 65°C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğütularak, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'er dakika tutularak şeffaflaştırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıldı ve medulla spinalis örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.3. İstatiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 17.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotları (Ortalama, Standart sapma) kullanılmıştır.

Verilerin normal dağılıp dağılmadığının belirlenmesinde Shapiro Wilk's testi kullanıldı. Beş farklı grubun Katepsin B ve L, MDA değişkenlerine göre ortalamalarının karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı. Farklı grupların

belirlenmesinde POST HOC testlerden Tamhane testi kullanıldı. Anlamlı olarak değer olarak %95 güven aralığında, $p < 0,05$ kabul edildi.

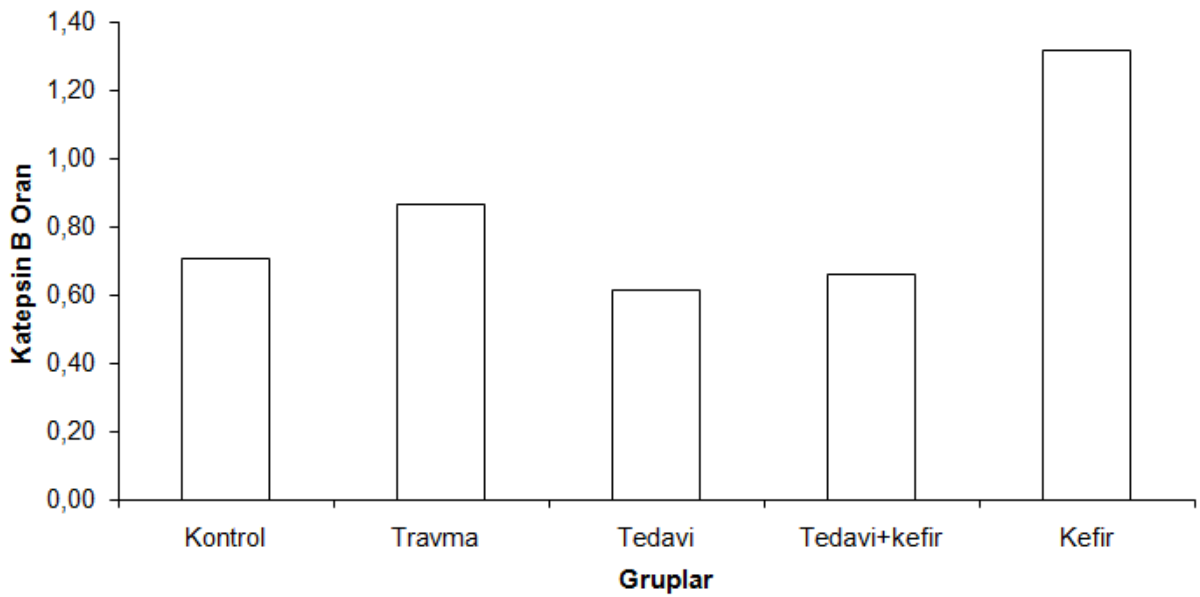
4.BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Bulgular

Katepsin B ve L,MDA değerlerine belirlemek üzere, genel anestezi altında ratlardan omurilik doku örnekleri alındı.

Elde edilen katepsin B değerleri aşağıda Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

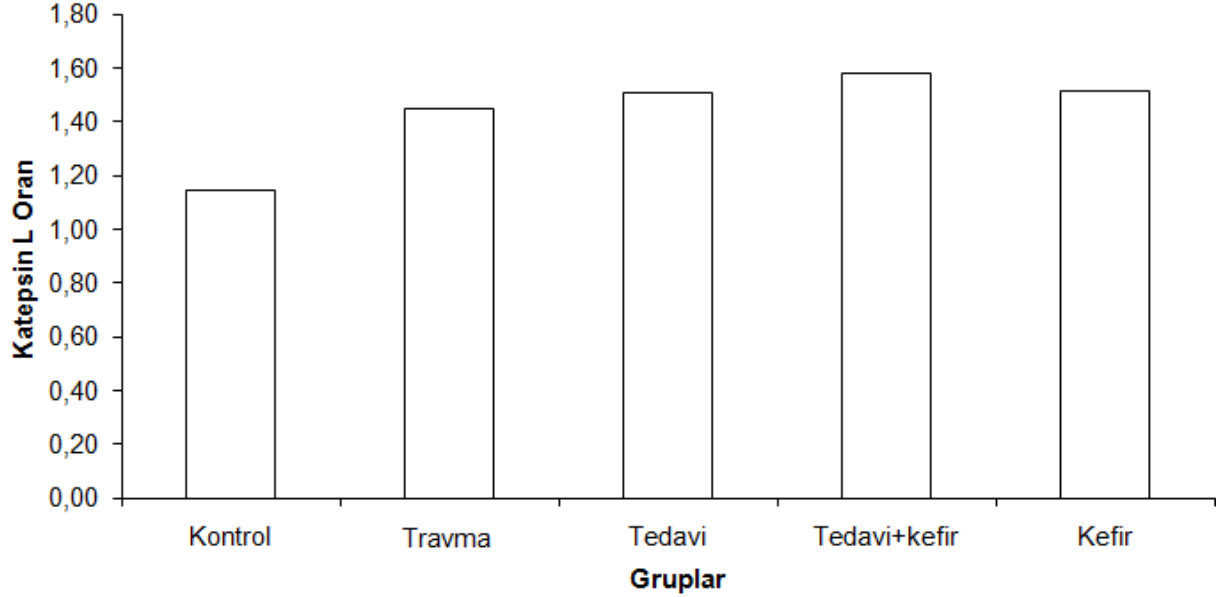
Tablo 4.1 Katepsin B değerlerinin gruplara göre dağılımı



Katepsin B sonuçları: Kontrol grubundaki ratların katepsin B sonuçları, travma,tedavi,tedavi+kefir ve kefir gruplarının katepsin B sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,05$) Kefir grubunun katepsin B değerleri, diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0,05$)

Elde edilen katepsin L değerleri aşağıda tablo 4.2 de gösterilmiştir.

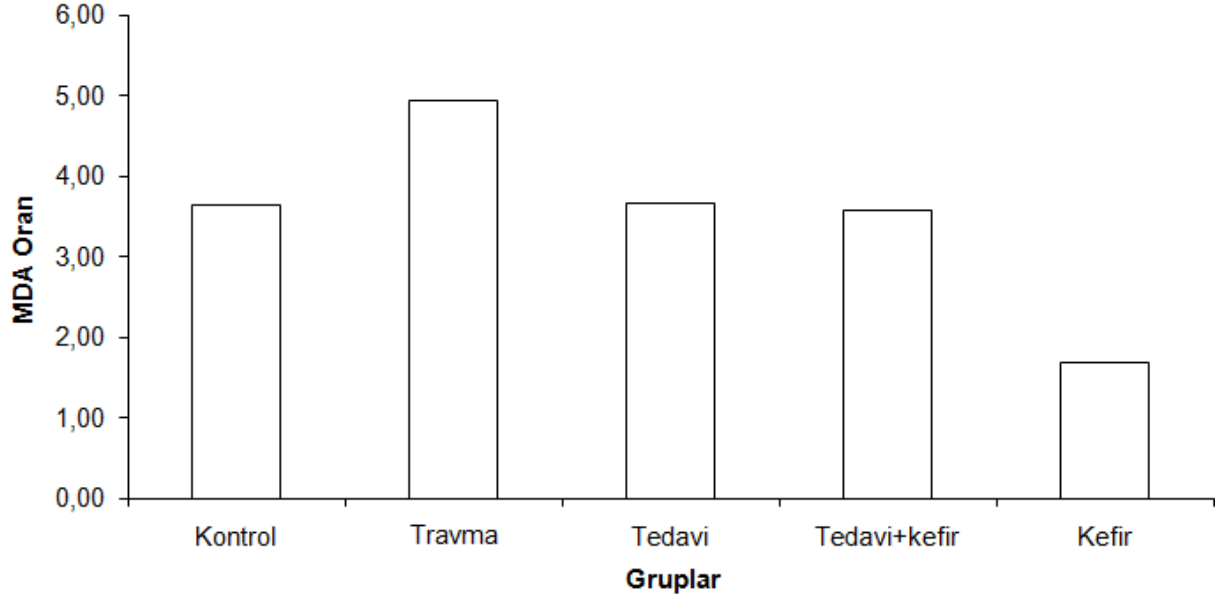
Tablo 4.2 Katepsin L değerlerinin gruplara göre dağılımı



Katepsin L sonuçları: Kontrol grubundaki ratların katepsin B sonuçları, travma,tedavi,tedavi+kefir ve kefir gruplarının katepsin L sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,05$) Tedavi uygulanan her u grubun (tedavi,tedavi+kefir,kefir grupları) katepsin L değerleri arasında anlamlı fark yoktu. ($p>0,05$)

Elde edilen MDA değerleri aşağıda tablo 4.3 de gösterilmiştir.

Tablo 4.3 MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı



MDA sonuçları: Kefir grubunun MDA değerleri, tedavi yapılan diğer iki gruba göre (tedavi ve tedavi+kefir) anlamlı olarak düşük bulundu. ($p < 0,05$) Tedavi ve tedavi+kefir grubunun ikisi arasındaki MDA değerleri istatistiksel olarak anlamlı farkı yoktu. ($p > 0,05$) Travma grubuna göre, tedavi ve tedavi+kefir grubunun değerleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ($p < 0,05$) Kefir grubunun MDA değerleri, travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ($p < 0,05$)

4.2 Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubuna, 1. gruba ait deney hayvanlarının histolojik görünüm normaldi.

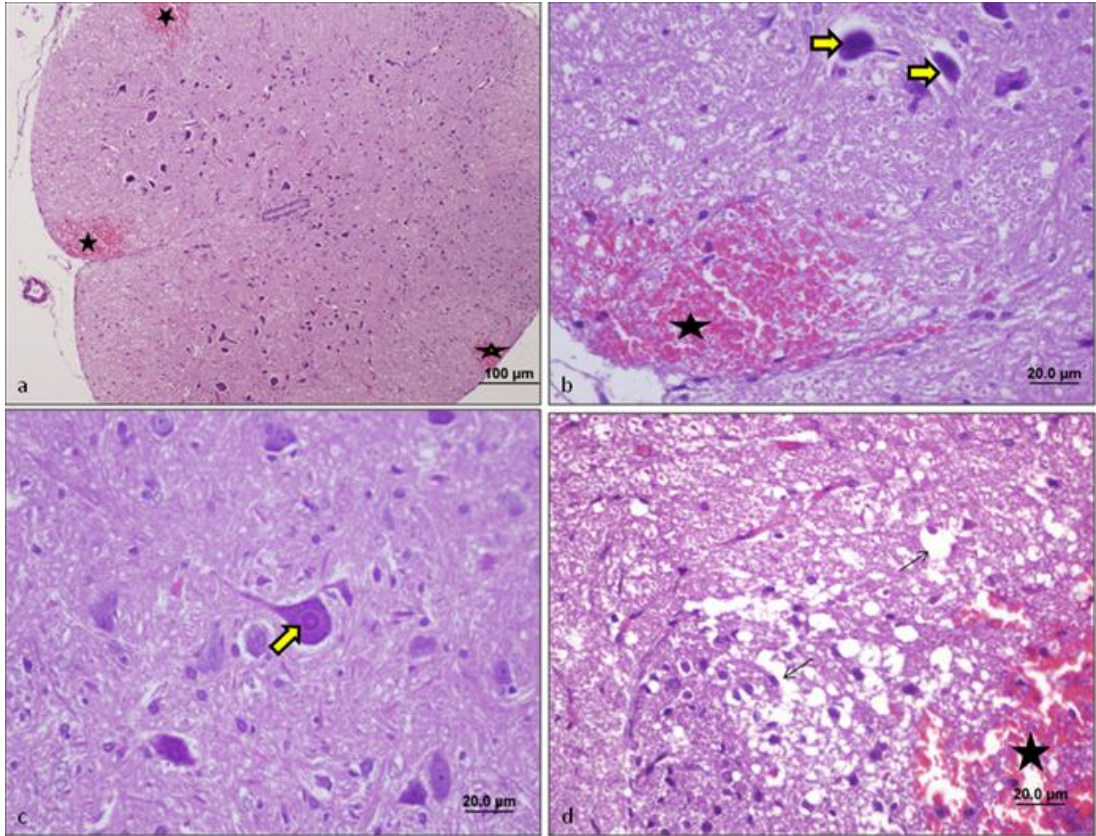
Travma grubuna, 2. gruba ait deney hayvanlarının medulla spinalisleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde arter duvarında kalınlaşma, ak maddede miyelin kılıflarda hasar ve vakuolizasyon ile damar içi kongesyon görüldü. Ayrıca gri maddedeki motor nöronlarda bazofilik boyanma ve nekroz ile doku içi hasar görüldü. (şekil 4.1)

Travma+tedavi grubuna, 3. gruba deney hayvanlarının medulla spinalisleri üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde ak maddede hemoraji, miyelin kılıflarda hasar ve vakuolizasyon gözlendi. Gri maddedeki motor nöronlarda

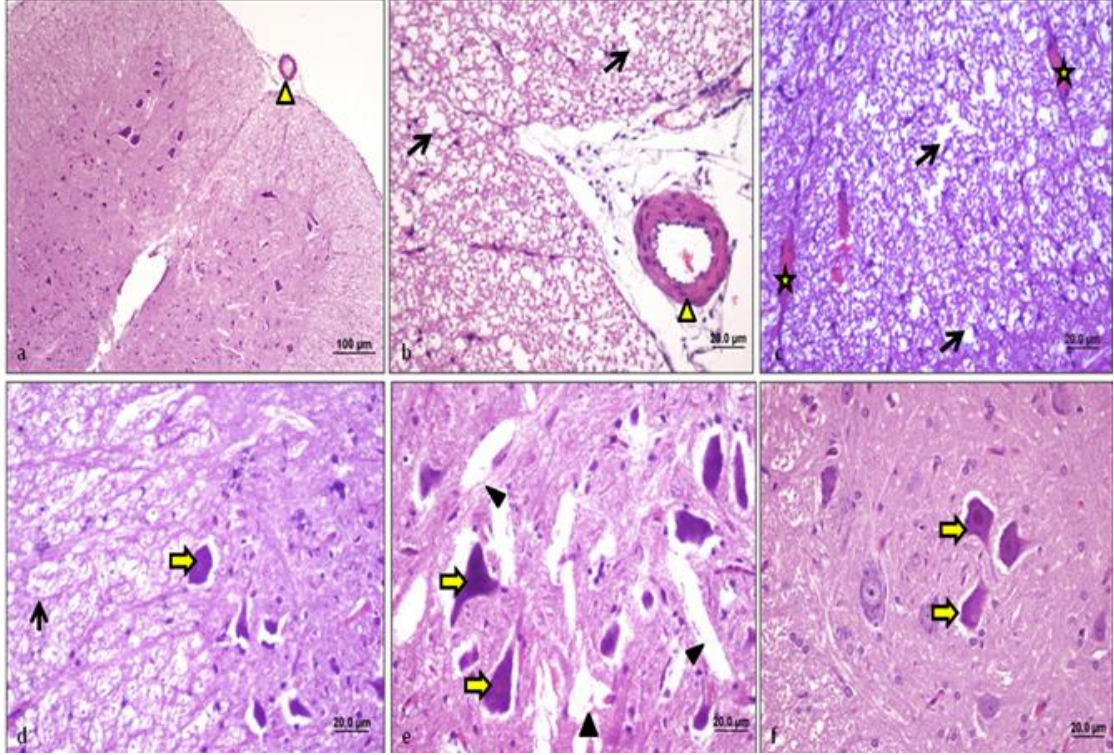
nükleusları seçilemeyen bazofilik boyanma ve nekrotik hücreler dikkat çekti.(Şekil 4.2)

Travma+tedavi+kefir grubuna, 4.gruba ait deney hayvanlarının medulla spinalisleri üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde ak maddede yer alan miyelinli lifler normale yakın gözlemlendi. Gri maddede yerleşen motor nöronlar nükleus ve sitoplazmik boyanma özellikleriyle beraber normal yapıda görüldü. Ayrıca medulla spinalisin merkezinde yer alan ve ependim hücreleri ile döşeli kanalis sentralis yapısı da normal görüldü. (Şekil 4.3)

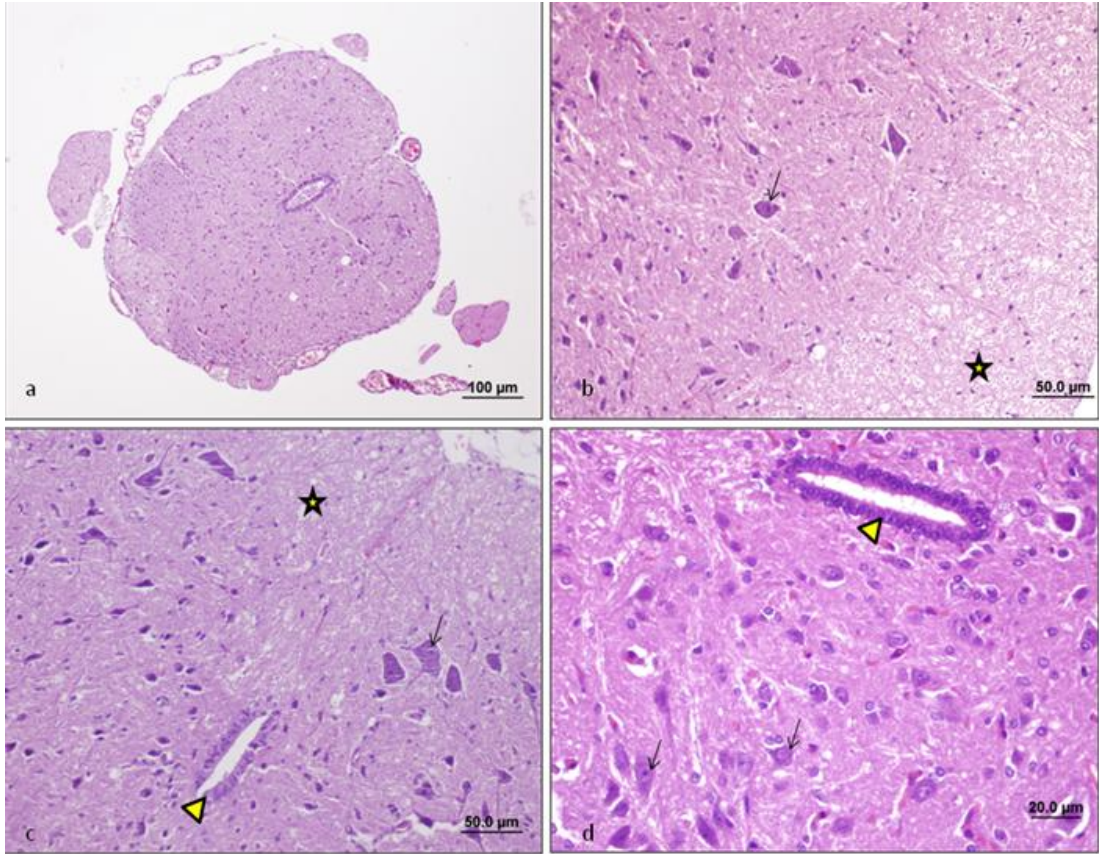
Travma+kefir grubuna, 5. gruba ait deney hayvanlarının medulla spinalisleri üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında medulla spinalis, ak maddede bulunan miyelinli lifleri ve gri maddede ökromatik nükleuslu motor nöronları ile birlikte oldukça düzgün yapıda görüldü. (Şekil 4.4)



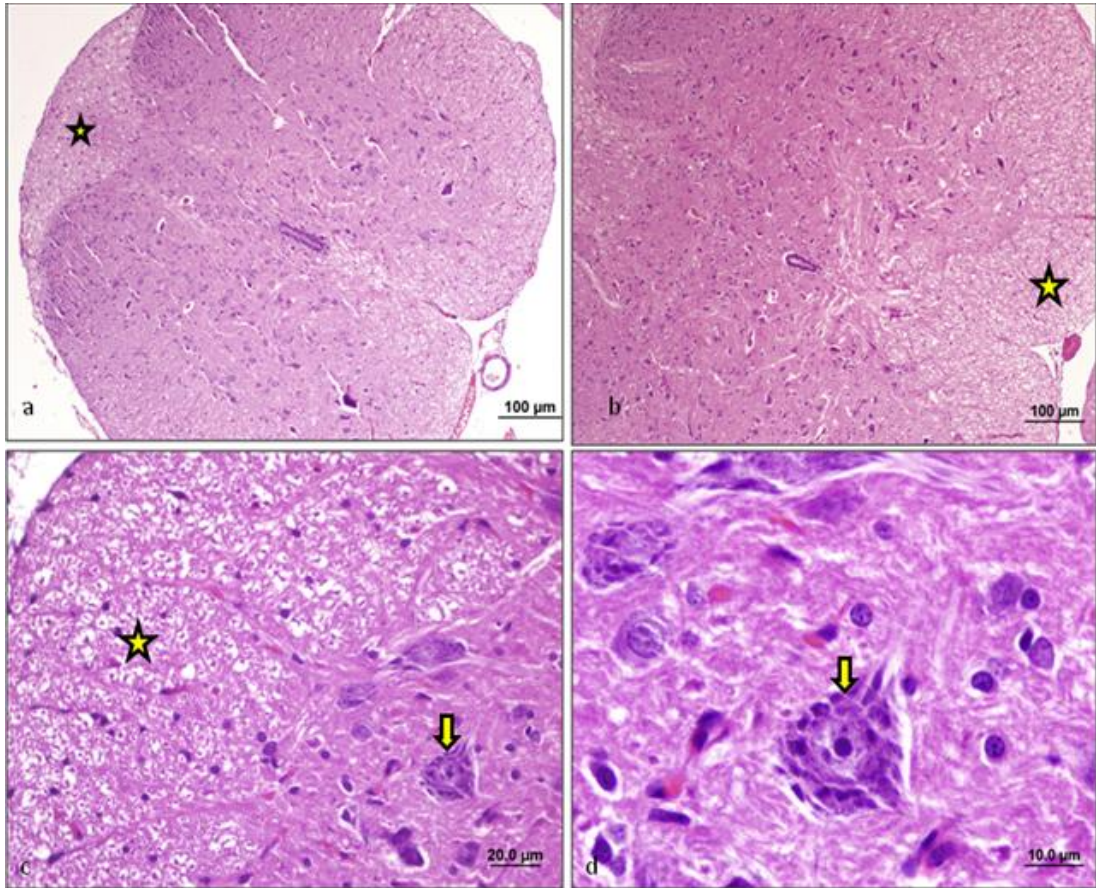
Şekil 4.1 Travma grubuna ait deney hayvanlarının medulla spinalisinde arter duvarında kalınlaşma (sarı ok başı) (a,b) (X10,40), ak maddede miyelin kılıflarda hasar ve vakuolizasyon (siyah ok) (b,c,d)(HE, X40), damar içi kongesyon (*) (c) (HEx40), gri maddedeki motor nöronlarda bazofilik boyanmış ve nekrotik hücreler (sarı ok) (d,e,f) (HE, X40) ve doku içi hasar (siyah ok başı)(e)(HE,X40) gözlenmektedir.



Şekil 4.2 Tedavi grubuna ait deney hayvanlarının medulla spinalisinde ak maddede gözlenen hemoraji (*) (a,b,d) (HE, X10,40), miyelin kılıflarda hasar ve vakuolizasyon (ok) (d)(HE, X40), gri maddedeki motor nöronlarda bazofilik boyanmış ve nekrotik hücreler (sarı ok) (b,c) (HE, X40) gözlenmektedir.



Şekil 4.3 Travma+tedavi+kefir grubuna ait deney hayvanlarında ak maddede normal görünümlü miyelinli lifler (*), gri maddede normal görünümlü motor nöronlar (ok) (a,b,c,d) ve ependim hücreleri ile döşeli kanalis sentralis yapılarıyla (ok başı) normal görünümlü medulla spinalis yapısı gözlenmektedir (HE, X10,20,40).



Şekil 4.4 Travma+ kefir grubuna ait deney hayvanlarında küçük ve büyük büyültmelerde ak maddede normal görünümlü miyelinli lifler (*) ve gri maddede ökromatik nükleuslu normal görünümlü motor nöronlar (ok) (c,d) gözlenmektedir (HE, X10,40,100).

Tüm grupların histopatolojik incelemesinde; tedavi grubunun sonuçlarında ak maddede hemaraji, miyelin kılıflarda hasar ve vakuolizasyon gözlenmesi, gri maddedeki motor nöronlarda nükleusları seçilemeyen bazofilik boyanma ve nekrotik hücreler dikkat çekici olmakla birlikte, bir hafta süreyle orogastrik yoldan kefir alan ratlarda ak maddede bulunan miyelinli lifleri ve gri maddede ökromatik nükleuslu motor nöronları ile birlikte oldukça düzgün yapıda görülmesi dikkat çekicidir.

5.TARTIŞMA

Akut omurilik yaralanması; toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel psikososyal ve ekonomik açıdan oluşturduğu hasarın büyüklüğü ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememiş olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi ile ilgili yapılan çalışmalarla büyük ilerlemeler kaydedilmesine ve ilerleyen farmakoterapi yöntemlerine rağmen şu ana kadar yüksek doz metilprednizolon dışında klinik olarak etkinliği kanıtlanmış başka bir farmakolojik ajan yoktur. Yüksek doz kortikosteroidler nörolojik yararları gösterilmiş olsa da ciddi yan etkilere sahiptir (124). Ciddi bir halk sağlığı sorunu olan akut omurilik yaralanmasının tedavisi ile ilgili deneysel çalışmalar devam etmektedir.

Fizyopatolojik olarak akut omurilik yaralanmasının birincil ve ikincil hasarlanma olarak iki basamaklı mekanizmaları ortaya atıldıktan bu yana; ikincil hasarlanma modeli üstünde durulmaktadır. Çünkü ikincil hasarlanma, akut omurilik yaralanması fizyopatolojisinde, morbidite ve mortalitenin esas kaynağıdır. Birincil hasarlanma koruyucu sağlık hizmetleri konusu olup, deneysel çalışmaların konusu ikincil hasarlanmadır. İkincil hasarlanmanın durdurulması amacıyla pek çok farmakoterapik ajan kullanılmıştır. Bunların başlıcaları kortikosteroidler (125,126,127), nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (128,129), eksitatuvar amino asit antagonistleri (130,131), opium antagonistleri (132), hipertonic ajanlar (60), kalsiyum kanal blokerleri (130), E vitamini (134,135), thyrotropin-releasing hormon (TRH) (104), selenyum (135) vb. Deneysel çalışmalarda kullanılan ajanlardan sadece metilprednisolon klinik kullanımda yer almıştır. Son klinik çalışmalardan GM-1 gangliozit ve tirizilatın gelecekte spinal kord yaralanması olan olgularda yüz güldürücü sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir (136).

Deneysel çalışmaların bir diğer konusu da insan omurilik travmasına yakın deneysel bir travma modelinin geliştirilmesidir. Geliştirilen hayvan omurilik travma modeli, insan omurilik travmasının biyomekanik özelliklerine benzer olmalı, travma sonrası omurilikte benzer morfolojik ve patolojik özellikleri gösterebilmeli ve deneysel tedavi protokolleri sonrasında gelişecek fonksiyonel iyileşme insanlarda görülebilecek iyileşmeye benzer özellikler gösterebilmelidir. İnsanlarda gerçekleşen akut omurilik travması daha çok akut kompresyon ve laserasyon travmalarıdır (137).

Dolayısı ile deneysel spinal kord travma modellerini oluşturmak için daha çok kompresyon tipi esas alınarak çeşitli travma modelleri geliştirilmeye çalışılmıştır (138). 1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modeli deneysel çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerdendir. 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 (11).

Öncelikli olarak akut omurilik yaralanmasında lokal etkenler ortaya çıkar. Daha sonrasında gelişen, azalmış sempatik tonus ve parasempatik myokardiyak etkiler sonucunda, sistemik olarak meydana gelen şok, bradikardi, hipotansiyon ve azalmış kardiyak output gelişir. Zaten lokal olarak mikrosirkülasyonun bozulmuş olan hasarlı bölgeye sistemik olarak da kan akımı bozulur. Bozulmuş olan membran transportu neticesinde kalsiyum ve diğer metabolitler nörotoksik dozlarda hücre içinde birikmeye başlar. Kalsiyum hücre içinde proteinaz, fosfataz ve fosfalipaz v.b enzimlerin aktifleşmesi sağlar ve hücre yıkımı hızlanmaya başlar. Fosfalipaz aktivasyonu sonucunda hücre membranında arışidonik asit yıkıma uğrar ve inflamatuvar sürecin başlamasını ve artmasını sağlayan mediatör ortaya çıkar.

Endojen koruyucu antioksidan sistemlerin yetersiz çalışması sonrasında, biyokimyasal olarak son derece kararsız oksijen radikalleri ortamda birikir ve lipid peroksidasyonuna artık başlamıştır. İkincil doku hasarında, lipid peroksidasyonunun ve bununla ilişkili olarak serbest oksijen radikallerinin çok önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (139,140). Lipid peroksidasyonu, postravmatik reperfüzyon hasarının en önemli nedenidir. Normal fizyolojide, hücre içine geri alınma mekanizmaları sayesinde nörotoksik olduğu halde nöronlarda bulunan glutamat ve aspartat, omurilik yaralanması sonrasında hızla yükselir. Bu yükseliş hücrenin apoptozise sürüklenme başlangıcı olan kalsiyumun hücre içinde artması sonucu getirir. Özellikle glutamat artışı NMDA reseptörlerinin aşırı uyarımına neden olarak yüksek Ca^{+2} girişine bağlı olaylar zincirini başlatır ve buna bağlı olarak mitokondriyal işlev kaybı, nükleer şişme ve nekrotik hücre ölümü görülür.

1970'li yıllarda opioid reseptörlerin santral sinir sisteminde bulunması ile deneysel çalışmalar bu konuya yönelmiştir. Akut omurilik yaralanması sonrası

endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, ikincil hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (73).

Omurilik yaralanması sonrasında fagositozdan sorumlu makrofajlarda lizozomal proteaz aktivasyonu söz konusudur. Deneysel çalışmalar ile bir dizi lizozomal proteazlar olan katepsinler arttığı gösterilmiştir.

Lizozomal proteazlar iskemik ve eksitotoksik nöronal hücre ölümünde önemli rol oynarlar. Lizozomal proteaz grubundan olan katepsin B, çapraz bağlara yakın bölgelerdeki bağları parçalayarak sarmal yapının stabilitesini bozar ve proteolize yardım eder. Literatürde katepsin B'nin akut spinal kord travmasında arttığını gösteren pek çok çalışma mevcuttur (77,78).

Malonildialdehid (MDA) lipid peroksidasyonun indirekt ancak en sık kullanılan göstergelerinden biridir. Değişik travma modellerinde MDA seviyeleri travmanın hemen ardından yükselmeye başlamakta, travmanın ilk saatleri içinde (1, 2 ve 4. saatler) en üst düzeye ulaşmakta ve giderek düşmektedir .

Hızlı bir şekilde devam eden deneysel çalışmalar ile akut omurilik yaralanmasının ikincil hasarlanma mekanizması ortaya konmaya çalışılmıştır. Çok çeşitli farmakolojik ajanın tedavisinde de denenmesine rağmen henüz ikincil hasarlanmayı durduracak ajan bulunamamıştır. Önemli bir halk sağlığı sorunu olarak akut omurilik yaralanmaları önemi korumaktadır.

Probiyotikler, çoğunlukla bakterilerden oluşan canlı mikroorganizmalar olup, günlük sağlıklı kişilerin kullanabileceği, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım olanağı olan besinlerdir. Üstündeki gerekli deneysel çalışmaların yapılmadığı bu besin grubu pek çok kaynaktan uzun yaşam ile ilişkilendirilmektedirler. Bu besin grubundan olan kefir, kan kolesterolünü düşürmesi, immun sistemi güçlendirmesi, laktoz intoleransını önler, antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olması, antioksidatif etki göstermesi, antitumör ve antitumor aktivite göstermesi gibi etkileri bilinmektedir. Kefirin farmakolojik olarak herhangi bir bileşene ortaya konmasa da insan sağlığı açısından yararlı etkileri aşikardır.

Çevikbaş ve arkadaşları kefir'in, dünyanın çok değişik bölgelerinde tüberküloz, kanser ve GIS patolojilerinde kullanıldığını belirlemişlerdir (121). Japon bilim adamları Shiomi ve arkadaşları 1982'de, kefirde izole ettikleri KGF-C'yi, (suda çözünür polisakkarit) oral olarak 0,05-2 mg/gün verildiğinde Erlik karsinoma

hücrelerinin (deneysel amaçla en yaygın olarak kullanılan asitik tümörler) gelişmesine % 40 - % 64 ve “ sarkoma-180 ” kanser hücrelerinin gelişmesini de % 20 - % 90 engellediğini bildirmişlerdir (119).

Biz çalışmamızda, kefirin koruyucu etkinliğini ortaya koymak için, 1 hafta süreyle 2*100 ml/100 gr kadar orogastrik yoldan kefir almış sıçanlara, klip kompresyon modeli ile akut omurilik yaralanması oluşturup, histolojik olarak ve dokuda katepsin B ve L, MDA değerlerine baktık. Kefir almış grubu, klinik olarak tedavide yer alan yüksek doz metilprednizolon tedavisi ile karşılaştırdık.

Bizim deneysel çalışmamızda ortaya konulan histopatolojik bulgulara bakıldığında; travma+tedavi+kefir ve travma+kefir grubunun travma sonrasında normale yakın histolojik yapıya sahip olduğu görülmektedir. Kefir almış hayvanlarda bu histopatolojik bulgular, kefirin, koruyucu etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Bizim çalışmamız da biyokimyasal veriler gözden geçirildiğinde; katepsin B değerleri sadece kefir almış grupta tedavi ve tedavi+kefir almış gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derece de yüksek bulundu. Bununla birlikte travma grubuna göre, tedavi ve tedavi+kefir almış gruplar yani yüksek doz metilprednizolon almış gruplar da katepsin B değerleri düşük bulundu. Bu değerleri ile, kefirin, akut omurilik yaralanmalarında katepsin B değerlerini anlamlı derece de düşürmediği düşünülebilir. Yüksek doz metilprednizolonun ise akut omurilik yaralanmalarında katepsin B değerini düşürdüğü söylenebilir.

Katepsin L değerleri gözden geçirildiğinde; travma grubuna göre tedavi, tedavi+kefir ve sadece kefir alan grupların arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. Bu değerler ile, yüksek doz metilprednizolonun ve kefirin akut omurilik yaralanmalarında katepsin L değerlerini anlamlı derece düşürmediği düşünülebilir.

MDA değerleri gözden geçirildiğinde; yüksek doz metilprednizolon almış gruplar yani tedavi ve tedavi+kefir almış gruplar ile sadece kefir almış grupların MDA değerleri, düşük bulunduğu görüldü. Yüksek doz metilprednizolonun ve kefirin akut omurilik yaralanmalarında MDA değerlerini düşürdüğü düşünülmekte. Bununla birlikte tedavi ve tedavi+kefir almış grubundan değerlerine göre sadece kefir almış grubun değerlerinin bu iki tedavi uygulanmış gruba göre daha fazla düşürdüğü dikkat çekmekte. Bu değerleri ile, kefirin, yüksek doz metilprednizolona

göre akut omurilik yaralanmalarında MDA değerlerini daha anlamlı düzeyde düşürdüğü düşünölmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Travma sonrası akut omurilik yaralanmalı hastaların yarısından fazlasının normal yaşantısına geri dönememiş olması, akut omurilik yaralanmalarının ciddi bir halk sağlığı sorunu olduğunu gösterir. Akut omurilik yaralanması geçiren hastaların yüksek morbidite ve mortalite oranlarının yanı sıra, tedavi ve bakım giderlerinin yüksek olması diğer ciddi önemli bir sağlık sorunudur. Son yıllarda artan deneysel çalışmalara rağmen ikincil hasarlanmanın engellenmesi söz konusu değildir. Tartışmalı olan yüksek doz metilprednizolon tedavisinin yanında etken bir tedavisi günümüz için söz konusu değildir. Deneysel olarak sık kullanılan klip kompresyon modeli ile travma oluşturulan sıçanlarda koruyucu olarak verilen kefirin nöroprotektif etkileri; omurilik dokusunda histopatolojik olarak ve omurilik dokusunda katepsin B ve L, MDA değerleri ölçümlerine göre değerlendirilmiş ve araştırılmıştır.

Sonuç olarak; incelenen omurilik dokularının histopatolojik değerlendirilmesinde kefir almış sıçanların normale yakın histopatolojiye sahip olması kefirin nöroprotektif etkisinin olduğunu düşündürmektedir. İncelenen katepsin B değerlerinde kefirin anlamlı bir düşme sağlamadığı söylenebilir. Katepsin L değerlerinde ise kefirin anlamlı bir düşme sağlamadığı söylenebilir. MDA değerlerinde ise kefirin anlamlı bir düşme sağladığı düşünülmektedir.

Kefirin sahip olduğu antioksidan özelliği başta olmak üzere diğer nöroprotektif özellikleri ile akut omurilik yaralanmalarında ikincil yaralanmayı kısmen de olsa engellediği söylenebilir. Ancak kefirin klinik kullanımı için daha fazla sayıda deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Hancı, M. Vertebromedullar Yaralanmalarının Tarihçesi. Murat Hancı, Önder Aydıngöz, editör. Medulla Spinalis Yaralanmaları. İstanbul: Logos Yayıncılık; 2000. S.1- 4.
2. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kimap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalınkılıç A, Ünal HI, Nas K, Orkun S, Tekeoğlu I. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. Spinal Cord. 2000 Nov; 38(11): 697- 701.
3. Uçankale M. SJA6017 Noroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. Nöroşirürji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. Taksim Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniği, İstanbul, 2004.
4. Anderson DK, Meaans ED, Waters TR, Green ES: Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. J Neurosurg 1982;56: 106-113.
5. Bozkurt M, Attar A. Omurilik yaralanmasında patofizyoloji. İç: Hancı M, Çağlı S, editör. Omurga ve Omurilik yaralanmaları. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbacılık Hizmetleri; 2007. s. 17-24.
6. Albertsone CD, Naderi S, Benzel EC: History of spine surgery. In: Benzel EC (Ed.):Spine Surgery Techniques, complication and avoidance, and management. Second edition. Elsevier Churcill Livingstone, 2005, Philadelphia, s. 1–21
7. Pare A. Oeuvres. Paris: 1958 p. 528-551
8. Hughes JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. Paraplegia 1988; 26:71-82. 40.
9. Elsberg CA. The Edwin Smith Surgical Papyrus and diagnostic treatment of injuries to the skull and spine . Ann Med. Hist. 1931; 3:271-279.
10. Goodrich JT. History of spine surgery in the ancient and medieval worlds. Neurosurg Focus. 2004; 16(1):1-13
11. Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the spine in ancient times. Spine, 28 (13): 1481-1484, 2003
12. Albertsone CD, Naderi S, Benzel EC: History of spine surgery. In: Benzel EC (Ed.):Spine Surgery Techniques, complication and avoidance, and management. Second edition. Elsevier Churcill Livingstone, 2005, Philadelphia, s. 1–21

13. İplikçioglu C: Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.Baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 2002, s: 459-465.
14. Naderi S, Zileli M, Özer A.F: Omurga Cerrahisinin Tarihi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer A.F, 2.baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir, 2002, s: 1-13
15. Zileli M, Gülmen V: Deneysel omurilik yaralanması, Omurilik ve Omurga Cerrahisi.Ed. Zileli M, Özer AF, 2. Baskı, İzmir. Saray Medikal yayıncılık, 2002, s: 951-956.
16. Chung Y.H. : Journal of neurotrauma, Number 2, Mary Ann Liebert , Inc, Publisher
17. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. Neurosurg. 1999 May; 44(5): 1027- 1040.
18. Benzel E.C, Ferrara L, Omurga ve omurilik yaralanmasının biyomekaniği spinal stabilite. Omurilik ve Omurga cerrahisi (Zileli M. ve Özer A.F ; Editörler), sayfa 797-811. 2002
19. Emr M A, Howley S P. Hudgins L A, Varmus H. Spinal cord injury : Emerging concept. National institute of neurological disorders and stroke. 2005 August 05.
20. Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi. Temel Nöroşirurji (Türk Nöroşirurji Derneği Yayınları) Sayfa 1144-1153. 2005
21. Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local systemic circulatory effects. Neurochirurgie 1991; 37:291 -302
22. Kaptanoğlu E,Tator CH. Strategies for neuroprotection after spinal cord injury. Omurilik ve omurga cerrahisi. Editörler:M.Zileli, F.Özer. Bölüm 63, sayfa 813-832, 2002
23. Blight AR, Zimper MP. Acute spinal cord injury: Pharmacotherapy and drug development perspectives. Current Opinion in Investigational Drugs 2001; 2:801-808.
24. Dumont R.H., Okonkwo D.O., Verma S., Hurlbert H.: Acute spinal cord injury. Part I: Pathophysiologic Mechanisms, Clin. Neuropharmacology; 24(5): 254-264, 2001.

25. Park J, Kim Ğ, Oh J, Lee K W. Activation of c-Jun- N- terminal Kinase antagonizes an anti-apoptotic action of Bcl-2 . The AMERICAN Society for Biochemistry and Molecular Biology VOL. 272, Number 27, 1997;pp. 16725-16728. July 4.
26. Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and Acute Spinal Cord Injury: A Reappraisal. 2004 NeuroRx. 2004 Jan;1(1):80-100.
27. Faden AI, Jacops TP. Effect of TRH analogs on neurologic recovery after experimental spinal trauma. Neurology 35, 1331–1334, 1985.
28. Kaptanoğlu E, Tuncel M, Palaoğlu S, Konan A, Demirpençe E, Kılınç K. Comparison effect of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. J Neurosurg (Spine 1) 93: 77–84, 2000.
29. Kaptanoglu E, Caner HH, Surucu SH. Akbiyik F. Effect of mexiletine on lipid peroxidation and early ultrastructural findings in experimental spinal cord injury. J Neurosurg (Spine 2) 91: 200-204, 1999.
30. Hall ED, McCall JM: A non-glucocorticoid steroid analog of methylprednisolone duplicates its high dose pharmacology in models of central nervous system trauma and neuronal membran damage. J Pherm Exp Therap; 242: 137–142, 1987.
31. Koyanagi I, Tator CH. Effect of a single huge dose of methylprednisolone on blood flow, evoked potentials, and histology after acute spinal cord injury in the rat. Neurol Res 19. 289–299, 1997.
32. Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. J Spinal Cord Med. 1996 Oct; 19(4): 206-214
33. Bullock R, Fujisawa H. The role of glutamate antagonist for the treatment of CNS injury. J Neurotrauma. 1992 May; 9 Suppl 2: 443-462.
34. 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. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1989 Jul-Aug; 74(4): 241-259.
35. Halls ED, Wolf DL, Braughler JM. Effects of a single large dose of methylprednisolone sodium succinate on experimental posttraumatic spinal

- cord ischemia dose response and time-action analysis. *J Neurosurg.* 1984 Jul; 61(1): 124-130.
36. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with special emphasis on vascular mechanisms, *J Neurosurg* 75. 15-26, 1991.
 37. Carlson G.D, Gorden C. Current developments in spinal cord injury research. *The Spine Journal* 2002 116–128.
 38. Senter HJ, Venes JL. Loss of autoregulation and posttraumatic ischemia following experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1979;50:198–206.
 39. Carlson G, Gorden C, Nakazowa S, Wada E, LaManna J. Perfusion limited recovery after spinal cord injury. *Spine* 2000;25(10):1218–26.
 40. Carlson G, Gorden C, Wada E, Nakazawa S, Biro C, LaManna J. Vascular re-perfusion and neural preservation after spinal cord injury. *J Neurotrauma*
 41. Braughler RW, Duncan LA. Interaction of lipid peroxidation and calcium in the pathogenesis of neuronal injury. *Cent Nerv Syst Trauma* 2: 269-283, 1985.
 42. Young W, Huang P, Kume K. Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the injury process: Editorler: Benzel EC, Tator CH. Bolum 4 , AANS,
 43. Li GL, Farooque M, Holtz A, Olsson Y. Apoptozis of oligodendrocytes occurs for long distances away from the primary injury after compression trauma for at spinal cord injury. *Acta Neuropathol.* 1999 Nov; 98(5): 473- 480.
 44. Faden AI, Chan PH, Longar S. Alterations in lipid metabolism, $\text{Na}^+ -\text{K}^+$ ATPase activity and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J Neurochem.* 1987 Jun; 48(6): 1809- 1816.
 45. Nashmi R, Fehlings MG. Rol of voltage gated K channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator* 14, 5-9, 2001.
 46. McCord J.M.: Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury, *The New England Journal of Medicine*; 312(3):159-163, 1985.
 47. Simpson P.J., Lucchesi B.R.: Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*; 110(1):13-30, 1987.
 48. Sinclair A.I, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hosp Med* 1990,43:334-344.

49. Cheeseman KH, Salter TF: An introduction to free radical biochemistry. *Brit. Med Bul.* 1993; 49:481-493
50. Troystman RJ. Oxygen radical mechanism of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1991; 71: 1185-1195.
51. Liao LM, Bergsneider M, Becker DP, Youmans JR. *Neurological Surgery*, 4. baskı, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997: 1549–1594
52. Barut Ş, Canbolat A, Bilge T ve ark. Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurgery Rev* 1993; 16: 53-59.
53. 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
54. Akkus, I.: *Antioksidan Savunma Sistemleri. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri.* Mimoza Yay. Konya. 42-61; 1995.
55. Maestro Del RF: An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492: 153-168.
56. Kour H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives. In: *Arvoma O.I, Halliwell B editörs. Free radicals and food additives.* New York; 1991.
57. Aleynik, I.S., Leo, A.M., Ma, Y., Aleynik, K.M. and Lieber, S.C.: Polyenyolphosphatidylcholine Prevents Carbon Tetrachloride- Induced Lipid Peroxidation while it Attenuates Liver Fibrosis. *J. Hepatol.* 1997; 27: 554-561.
58. Bruce, A.F. and Crapo, J.D.: *Biology of Disease. Free Radicals and Tissue Injury.* *Lab Invest.* 1982; 47(5): 412-426.
59. Köse, K. and Dogan, P.: Lipid Peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi.* 1992; 340-350.
60. Faden AI: Experimental neurobiology of central nervous system trauma. *Crit Rev Neurobiol* 7 (3-4): 175-86, 1993.
61. Hail ED, Braughler JM: Free radicals in CNS injury. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 71: 81 -105, 1993.
62. Hail ED: Lipid antioxidants in acute central nervous system injury. *Ann Emerg Med* 22 (6): 1022-7, 1993.
63. Faden AI, Salzman S: Pharmacological strategies in CNS trauma. *Trends Pharmacol Sci* 13 (1): 29-35, 1992.

64. Ikeda Y, Long DM: The molecular basis of brain injury and brain edema: The role of oxygen free radicals. *Neurosurgery* 27 (1): 1-11, 1990.
65. Uzan M. Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji, In Hancı M; Medulla spinalis yaralanmaları 2000; 152-161.
66. Olney JW, Sharpe LG: Brain lesions in an infant rhesus monkey treated with monosodium glutamate. *Science*. 1969 Oct 17;166(903):386
67. Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ. Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *Brain res* 1991;547-:344-348.
68. Faden AI, Lemke M, Simon RP, et al: N-methyl-D-aspartate antagonist MK801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: Behavioral, anatomic and neurochemical studies: *J Neurotrauma*1988; 5: 33-45.
69. Lu J, Ashwell K, Ken WS: Advances in secondary spinal cord injury: Role of Apoptosis . *Spine* volume 2000; 25: 1859-1866.
70. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacology*. 2001; 24 (5): 265- 279.
71. Faden AI. Opioid and nonopioid mechanisms may contribute to dynorphin's pathophysiological actions in spinal cord injury. *Ann Neurol* 1990;27:67-74.
72. Ogata T, Nakamura Y, Tsji K, et al. Steroid hormones protect spinal cord neurons from glutamate toxicity. *Neuroscience* 1993;55:445-449.
73. Bakshi R, Faden AI. Competitive and non-competitive NMDA antagonists limit dynorphin A-induced rat hindlimb paralysis. *Brain Res* 1990;507:1-5.
74. Greene KA, Marciano FF, Sonntag VKH. Pharmacological strategies in the treatment of spinal cord injuries: a critical review. *Crit Rev Neurosurg* 1994;4:254-64.
75. Schwab ME, Bartholdi D. Degenerative and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996;76:319-370.
76. Segal JL, Gonzales E, Yousefi S, Jamshidipour L, Brunnemann SR. Circulating levels of IL- 2R, ICAM- I, and IL- 6 in spinal cord injuries. *Arch Phys Med Rehabil*. 1997 Jan; 78(1): 44- 47.

77. Ellis RC, O'Steen WA, Hayes RL, Nick HS, Wang KK, Anderson DK. Cellular localization and enzymatic activity of cathepsin B after spinal cord injury in the rat. *Exp Neurol*. 2005 May;193(1):19-28.
78. Ellis RC, Earnhardt JN, Hayes RL, Wang KK, Anderson DK. Cathepsin B mRNA and protein expression following contusion spinal cord injury in rats. *J Neurochem*. 2004 Feb;88(3):689-97.
79. Stoka V, Turk V, Turk B. Lysosomal cysteine cathepsins: signaling pathways in apoptosis. *Biol Chem* 2007;388:555–560.
80. Ivanova S, Repnik U, Bojic L, Petelin A, Turk V, Turk B. Lysosomes in apoptosis. *Methods Enzymol* 2008;442:183–199
81. Sun L, Wu Z, Baba M, Peters C, Uchiyama Y, Nakanishi H. Cathepsin B-dependent motor neuron death after nerve injury in the adult mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;399:391–395.
82. Moon C, Lee TK, Kim H, et al. Immunohistochemical study of cathepsin D in the spinal cords of rats with clip compression injury. *J Vet Med Sci* 2008;70:937–941.
83. İskekel H, İskekel S, Güner G. Lizozomal proteolitik aktivitenin beyin dokusunda penumbral ve derin iskemi-reperfüzyonunda karşılaştırılması *Ege Tıp Dergisi* 1998;37(3-4): 163-6.
84. Seyfried D, Han Y, Zheng Z, Day N, Moin K, Rempel S, Sloane B, Chopp M. Cathepsin B and middle cerebral artery occlusion in the rat *J Neurosurg* 1997;87 (5):716-23.
85. Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998;56: 341-358.
86. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. GM-1 ganglioside in human spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992;9(2):S517–30.
87. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal cord injury—a randomized placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 1991;324(26):1829–38.
88. Bregman BS, Broude E, McAtee M, Kelley MS. Transplants and neurotrophic factors prevent atrophy of mature CNS neurons after spinal cord injury. *Exper Neurol* 1998;149(1):13–27.

89. Bregman BS, Diener PS, McAtee M, Dai HN, James C. Intervention strategies to enhance anatomical plasticity and recovery of function after spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997;72:257–75.
90. Bregman BS, McAtee M, Dai HN, Kuhn PL. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exper Neurol* 1997;148(2):475–94.
91. Diener PS, Bregman BS. Fetal spinal cord transplants support growth of supraspinal and segmental projections after cervical spinal cord hemisection in the neonatal rat. *J Neurosci* 1998;18(2):779–93.
92. De La Torre JC. Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 1981;6(4):315–35.
93. Lewin MG, Hansebout RR, Pappius HM. Chemical characteristics of spinal cord edema in cats: effects of steroids on potassium depletion. *J Neurosurg* 1974;40:65.
94. Nacimiento AC, Bartels M, Herrmann HD. Dexamethasone prevents loss of axonal conduction and reflex activity, and reduces spread of structural damage in acute spinal cord trauma. *Soc Neurosci Abstr* 1979;5:727.
95. Bracken MB. Treatment of acute spinal cord injury with methylprednisolone: results of a multicenter, randomized clinical trial. *J Neurotrauma* 8: 47-S50, 1991.
96. Marion DW. Head and spinal cord injury. *Neurol.Clin.* 1998; 16(2):485-502.
97. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, et al. Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1 year follow up. Results of the Third National Acute Spinal Cord Injury Study (NASCIS III). *J Neurosurg* 1998; 89: 699-706.
98. Tator CH. Pathophysiology and pathology of spinal cord injury. Wilkins RH, Rengachary SS editörs. *Neurosurgery*.2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 2847- 2859.
99. Young W. Spinal cord injury pathophysiology and therapy. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. New York: McGraw-Hill; 1996: 1079-1082.

100. Hayes KC, Potter PJ, Wolfe DL, et al. 4-Aminopyridinesensitive neurologic deficits in patients with spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1994; 11: 433-446.
101. Teng YD, Wrathall JR. Local blockade of sodium channels by tetrodotoxin ameliorates tissue loss and long term functional deficits resulting from experimental spinal cord injury. *J Neurosci* 1997 Jun; 17(11): 4359- 4366.
102. Schwartz G, Fehlings MG. Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with riluzole. *J Neurosurg.* 2001 Apr; 94(2 suppl): 245- 256.
103. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al. A randomised, controlled trial of methylprednisolon or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990; 322:1405-1411.
104. Faden AI, Jacobs TP. Effect of TRH analogs on neurologic recovery after experimental spinal trauma *Neurology* 1985; 35:1331-1335.
105. Puniak MA, Freeman GM, Agresta CA, et al. Comparison of a serotonin antagonist, opioid antagonist, and TRH analog for the acute treatment of experimental spinal trauma. *J Neurotrauma* 1991; 8:193-203.
106. Bracken MB, Holford TR. Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long tract neurological function in NASCIS-2. *J Neurosurg.* 1993 Oct; 79(4): 500- 507.
107. Faden AI. Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997; 72:377-386.
108. Kaptanoğlu E, Tator CH. Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. In: Zileli M, Özer F (eds):Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002: 813-832.
109. Greene K. Pharmacological management of spinal cord injury: Current status of drugs designed to augment functional recovery of the injured human spinal cord. *J Spinal Dis* 1995; 5:355-366.
110. Agrawal SK, Fehlings MG. Role of NMDA and non-NMDA ionotropic glutamate receptors in traumatic spinal cord axonal injury. *J Neurosci* 1997; 17:1055-1063.

111. Çolak A, Soy O, Uzun H, et al. Neuroprotective effects of GYKI 52466 on experimental spinal cord injury in rats. *J Neurosurg (Spine 3)* 2003; 98: 275-281.
112. Giulian D, Robertson C. Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol* 27: 33–42, 1990.
113. Tator CH. Experimental and clinical studies of the pathophysiology and management of acute spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 1996; 19:206-214.
114. Bergonzelli GE, Blum S, Brussow H, Corthesy-Theulaz I. Probiotics as a treatment strategy for gastrointestinal diseases? *Digestion* 2005;72(1):57-68,
115. Klupsch HJ. Produktverbesserung am beispiel Kefir. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 466-473, 1984.
116. Encyclopedia of fermented fresh milk products. Van Nostrand Reinhold, New York 2 Kurman J.A. and Kroger, M 1992. p.156–160)
117. Garotte GL, Abraham AG, De Antoni GL: Inhibitory power of kefir: The role of organic acids. *J Food Prot*, 63(3):364-369,2000
118. Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, Ts., frengova, G., Spasov, Z. : Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28 (1): 1-6, 2002.
119. Shiomi, M., Sasaki, K., Murofushi, M., Aibara, K.: Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 1982;35(2):75-80,
120. Güven A,Güven A,Kamiloğlu N N; Kefirin lipid peroksidasyonuna etkilerinin araştırılması; *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2004;10(2):165-169
121. Çevikbaş A, Yemni E, Ezzeden FW; Yardımcı T. Antitumoural, antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytother Res* 1994;8:78-82.
122. Otlas, S., Cagindi, O.: Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan J. Nutr.* 2003;2(2): 54-59,
123. Guven, A., Guven A. : Hiperkolesterolemi oluşturulmuş tavşanlarda kefirin total kolesterol, trigliserit, HDL-kolesterol, LDL- kolesterol ve lipit peroksidasyonu üzerine etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 11(2): 127-131. 2005

124. Kerimoğlu A, Paşaoğlu Ö, Kanbak G ve ark. Deneysel spinal kord yaralanmasında koenzim Q10'un etkinliği. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2007; 13:85-93.
125. Ross I.B., Tator C.H., Theriault E. : Effect of nimodipine or methyprdnizolone on recovers from acute experimental cord injury in rats. *Surg. Neurol.* 1993;40:461-470,
126. Arias M.J. : Treatment of experimental spinal cord injury with TRH, naloxane and dexamethazone. *Surg. Neurol.* 1987;28:335-338,
127. Hall E.D. : Lipid antioxidants n acute central nervous system injury. *Annals of Emerg. Med.* 1993;22:89-94,
128. Lands W.E.M. :Mechanisms ofaction of anti-inflammatory drogs. *Adv. Drug. Res.* 1985;14:147-164,
129. Siegal T. : Experimental neoplastic spinal cord compression: Effect of anti-inflammatory agent and glutamat receptor antagonist on vasculer permability. *Neurosurg.* 1990;26:967-970.
130. Siegal T., Siege T.Z., Shohomi E. : Experimental neoplastic spinal cord compression: Effect of ketamin and MK-801 on edema and prostglandin. *Neurosurg.* 1990;26:963-966.
131. Yum J.W., Faden A.I. : Compresion of the neuroprotective efect of the NmethylD-aspartate antagonist nalmefene in experimental spinal cord ischemia. *Arh. Neurol.* 1990;47:277-281.
132. Young W., Flam E.S., Demopoulus H.B. : Effect of naloxane on posttraumatik ischemia in experimental spinal contusion. *Neurosurg.* 1991;55:209-219.
133. Deng S.L., Yuan T., Liao W.H. : Effect spinal cord graft with nevre growth factor and nimodipine in secondary injury of spinal cord of adult rat.Xiu Fu Chang Jian Wai Ke Za Zhi. 2001;15(2):74-78.
134. Stocks J., Gutteridge J.m.C., Sharp R.Y., et al. : The inhibition of lipid autoxidation by human serum and its relation to serum proteins and S-tocopherol. *Clinical science and molculer medicine* 1974;47:223-233.
135. Izgi N., Bozboga M., Hamamcioglu M.K., et al. : The effect of selenium and S-tocopherol on the free radicals in on experimenta method of acute spinal cord injury. *Turkish Neurosurg.* 1990;1:119-123.

136. Gülmen V., Zileli M. : Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi: Omurilik ve omuğa cerrahisi, Zileli M., Öze A.F. (eds). Meta Basım,Izmir. pp 883-841, 2002
137. Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM. Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* 1993;59:75–89.
138. Anderson TE, Stokes BT. Experimental models for spinal cord injury research: physical and physiological considerations. *J Neurotrauma* 1992;9(Suppl 1):S135–42.
139. McCall JM, Braughler JM, Hall ED. Lipide peroxidation and the role of oxygen radicals in CNS injury. *Acta Anaesthesiol Belg* 1987;38:373-9.
140. Clausen F, Lundqvist H, Ekmark S, Lewen A, Ebendal T, Hillered L Oxygen free radicaldependent activation of extracellular signal-regulated kinase mediates apoptosis-like cell death after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2004;21:1168–82.

