

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA
RESVERATROL VE QUERCETİN'İN
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ulvi ÇİFTÇİ

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2010

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA
RESVERATROL VE QUERCETİN'İN
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ulvi ÇİFTÇİ

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Murat VURAL

ESKİŞEHİR

2010

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Ulvi ÇİFTÇİ'ye ait “ Deneysel Spinal Kord Travmasında Resveratrol ve Quercetin'in Etkinliğinin Araştırılması” başlıklı çalışma jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalında 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. Ali ARSLANTAŞ Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Üye	Yrd. 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. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi 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 COŐAN'a, Prof. Dr. Ramazan DURMAZ'a, Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ'a, tez danıőmanım Yrd. Doç. Dr. Murat VURAL'a tezimin biyokimyasal incelemelere katkıda bulunan Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Didem COŐAN'a, tezimin histopatolojik incelemelerine katkıda bulunan Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'ndan Yrd. Doç. Dr. Onur UYSAL'a teőekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Çiftçi, U. Deneysel Spinal Kord Travması Sonrası Resveratrol ve Quercetin'in Etkinliğinin Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2010.

Travmatik spinal kord yaralanmasında birincil hasarlanma travma anında olan hasarlanmadır. İkincil hasarlanma ise oluşan birincil hasarlanmanın başlattığı, saatler içerisinde gelişen, metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasarlardır. Spinal kord travmatik yaralanmalarının neden olduğu doku harabiyetinin patofizyolojisinde serbest oksijen radikalleri önemli bir role sahiptir. Çalışmamızda spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda polifenol yapıdaki antioksidanlar olan resveratrol ve quercetin tedavisi sonrası serum ve spinal kord doku örneklerinde total antioksidan kapasite düzeyi (TAOK) ve paraoksonaz (PON) aktivitesindeki değişiklikler ile histopatolojik değişiklikler incelendi. Deneysel spinal kord yaralanma modeli 6 grupta 42 sıçan üzerinde uygulandı. Travma grubunda total laminektomi yapıldıktan sonra anevrizma klibi ile spinal kord travması uygulandı. Travma+çözücü grubunda aynı yöntem kullanıldı ve DMSO; travma+resveratrol grubunda 100mg/kg resveratrol; travma+quercetin grubunda 200mg/kg quercetin; travma+kombine grubunda 100mg/kg resveratrol ile 200mg/kg quercetin tek doz i.p verildi. Tüm sıçanlar işlemden 48 saat sonra sakrifiye edildi. Resveratrol ve quercetin'in serum ve dokuda TAOK düzeyi ve PON enzim aktivitesine ve histopatolojik bulgulara olan etkisi araştırıldı. Sonuç olarak resveratrol, quercetin ve kombine tedavi verilen gruplarda TAOK düzeyi ve PON aktivitesi değerlerinde travma grubuna göre anlamlı bir artma saptandı. Resveratrol ve quercetin grupları arasında TAOK düzeyi ve PON aktivitesi açısından anlamlı bir farklılık yoktu. Çözücü grubunda TAOK düzeyi ile PON aktivitesi travma grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Histopatolojik incelemede ise sadece çözücü, resveratrol, quercetin ve kombine tedavi gruplarında PMNL infiltrasyonunun azaldığı görüldü. Çalışmamızda; Resveratrol ve Quercetin uygulamasının spinal kord travmasında birincil hasardan sonra gelişen ikincil hasardan spinal kord korumak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Spinal kord, travma, antioksidan, resveratrol, quercetin

ABSTRACT

Çiftçi, U. Efficacy Of Resveratrol And Quercetin After Experimental Spinal Cord Injury. Eskisehir Osmangazi University Medicine Faculty Neurosurgery Department Specialty Thesis. Eskisehir 2010. 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. Free oxygen radicals have an important role in pathophysiology of tissue damage in spinal cord traumatic injuries. In our study we analyzed changes in total antioxidant capacity and paraoxanase activity levels and histopathological changes after treatment with polyphenol antioxidants, resveratrol and quercetin. Experimental spinal cord injury model was applied to 42 rats in 6 groups. In trauma group, spinal cord trauma was applied with aneurysm clips to rats after total laminectomy. In trauma+solvent group, single intraperitoneal (i.p) DMSO injection after the same procedure. In trauma+resveratrol group i.p single dose 100 mg/kg resveratrol; in trauma+quercetin group i.p single dose 200 mg/kg quercetin; and in trauma+combined treatment group i.p single doses of 100 mg/kg resveratrol and 200 mg/kg quercetin was injected after the same procedure. All rats are sacrificed 48 hours after the procedure. Effects of resveratrol and quercetin on serum and tissue total antioxidant capacity and paraoxanase activity levels and on histopathological features are examined. Compared to trauma group, there was a significant increase in total antioxidant capacity and paraoxanase activity levels in resveratrol, quercetin and combined treatment groups. There was no significant difference between resveratrol and quercetin groups with regard to total antioxidant capacity and paraoxanase activity levels. Total antioxidant capacity and paraoxanase activity levels were significantly higher in solvent group than trauma group. In histopathological evaluation, only there was a decrease in PMNL infiltration in solvent, resveratrol, quercetin and combined treatment groups. In conclusion we found that resveratrol and quercetin can be used to protect spinal cord from secondary injury that results from primary injury

Key Words: spinal cord, trauma, antioxidant, resveratrol, quercetin

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. Spinal Kord Yaralanmasının Tarihçesi	3
2.2. Spinal Kord Yaralanmasının Patofizyolojisi	4
2.3. Primer Hasar	4
2.4. Sekonder Hasar	5
2.5. Spinal Kord Hasarının Patolojisi	21
2.6. Spinal Kord Yaralanmasında Modern Farmakoterapi Yaklaşımları	26
2.7. Resveratrol	34
2.8. Quercetin	35
2.9. DMSO	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Biyokimyasal Parametreler İçin Örneklerin Hazırlanması	40
3.2. Histopatolojik İnceleme İçin Örneklerin Hazırlanması	41
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	41
4. BULGULAR	44
4.1. Histopatolojik Bulgular	44
4.2. Biyokimyasal Bulgular	58
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	72

SİMGELER VE KISALTMALAR

AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-izoksazolpropiyonikasit
DMSO	Dimetilsülfoksit
EAA	Eksitatör aminoasit
GSHPx	Glutatyonperoksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HO ₂	Perhidroksi radikali
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
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
PON	Paraoksonaz
ROO ⁻	Peroksiradikali
ROT	Reaktif oksijen türevleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
TAOK	Total antioksidan kapasite
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Hücre içi ortamda antioksidan savunma	10
2.2. Resveratrol ve Quercetin'in biyokimyasal sentezi	37
3.1. Laminektomi sonrası spinal kord görünümü	42
3.2. Spinal korda klip uygulanması	42
3.3. Spinal korda klip uygulanmasının yandan görünümü	43
3.4. Klip sonrası hemorajik kontüzyonun görünümü	43
4.1. Kontrol grubunda normal görünüm	51
4.2. Travma grubu distal uç ak maddede histopatolojik bulgular	51
4.3. Travma grubu distal uç ak maddede histopatolojik bulgular	52
4.4. Travma grubu proksimal uç ak maddede histopatolojik bulgular	52
4.5. Travma+Çözücü grubu medial uç ak maddede histopatolojik bulgular	53
4.6. Travma+Çözücü grubu medial uç ak maddede histopatolojik bulgular	53
4.7. Travma+Resveratrol grubu medial uç ak/gri madde histopatolojik bulgular	54
4.8. Travma+Resveratrol grubu medial uç ak maddede histopatolojik bulgular	54
4.9. Travma+Quercetin grubu distal uç gri maddede histopatolojik bulgular	55
4.10. Travma+Quercetin grubu medial uç ak maddede histopatolojik bulgular	55
4.11. Travma+Quercetin grubu medial uç ak maddede histopatolojik bulgular	56
4.12. Kombine grubu proksimal uç gri maddede histopatolojik bulgular	56
4.13. Kombine grubu medial uç gri maddede histopatolojik bulgular	57
4.14. Kombine grubu medial uç ak maddede histopatolojik bulgular	57
4.15. Serum TAOK ortalama değerleri	59
4.16. Doku TAOK ortalama değerleri	59
4.17. Serum PON ortalama değerleri	60
4.18. Doku PON ortalama değerleri	61

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. Spinal kord yaralanması patofizyolojisindeki ikincil hasar mekanizmaları	6
2.2. Reaktif Oksijen Partikülleri	9
2.3. Artmış Serbest Radikallerin Zararları	11
2.4. Spinal kord hasarında akut fazda görülen patolojik değişiklikler	23
2.5. Spinal kord hasarlanmasında kronik fazdaki patolojik değişiklikler	26
4.1. Tüm Distal Uç (D) gruplarına ait histopatolojik bulgular	49
4.2. Tüm Proksimal Uç (P) gruplarına ait histopatolojik bulgular	49
4.3. Tüm Medial Uç (M) gruplarına ait histopatolojik bulgular	50
4.4. Tüm gruplara ait ortak histopatolojik bulgular	50
4.5. Tüm gruplarda biyokimyasal verilerin ortalama değerleri	58

1. GİRİŞ

Kuzey Amerika'da her yıl yaklaşık 10.000 yeni akut spinal kord yaralanma olgusu, İngiltere'de ise 2004 yılı verilerine göre; yıllık 700 yeni akut spinal kord yaralanma olgusu bildirilmektedir (1). Ülkemizde akut spinal kord yaralanmalarının insidansı yılda 500-600 yeni vaka olarak bildirilmekte ve prevalansın her yıl 12,7/1.000.000 olduğu tahmin edilmektedir (2, 3, 4). Hastaların %61'inin 16-30 yaşları arasında olması, problemin ciddiyetini daha da arttırmaktadır (2, 4, 5).

Hastaların %64-80'i erkektir ve 2/3'ü 2. ve 3. dekatlar arasındadır. Vakaların yarısı nörolojik açıdan komplet hasara sahiptir. Komplet hasarın %54'ü kuadripleji, %46'sı parapleji şeklindedir (2, 4, 6). Lezyon altında istemli motor ya da duyu fonksiyon korunmamıştır. Spinal kord travmalarının yaklaşık 2/3'ü servikal bölgededir (7).

Deneysel ve klinik çalışmalar spinal kord travması sonrası hasarın primer ve sekonder hasar olabileceğini göstermektedir. Sekonder yaralanmalar, primer travmayı takip eden ilk birkaç gün içinde hemodinamiğin bozulması, elektrolit dengesindeki bozukluklar ve ödem v.b. gibi nedenlerle oluşmaktadır (4, 8). Yaralanmadan sonra başlayan sekonder hasar kaskadının durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır. Akut spinal kord yaralanmasında sekonder hasardan korunma nöroproteksiyon (nöral koruma) olarak adlandırılmaktadır. Bu amaçla ilaç tedavileri, doku oksijenlenmesinin düzeltilmesi, spinal kord basısının kaldırılması, vertebranın stabilizasyonu gibi birçok medikal ve cerrahi yaklaşım denenmektedir (9).

Spinal kord yaralanmalarında en etkin tedavi, kaçınılmaz olan çarpma etkisiyle başlayan ikincil hasarın önlenmesidir. Spinal kord yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katekolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır (10).

Bu çalışmada deneysel spinal kord yaralanmasının fizyopatolojisi gözden geçirilmiş, yaralanmadan sonra gelişme gösteren ikincil hasarlanma sürecinde tedavi amaçlı verilen resveratrol'un ve quercetin'in lezyon üzerine etkisi araştırılmıştır.

Resveratrol, stilbenlerin alt grubu olup, üzüm ve kırmızı şarapta bulunan polifenolik bir bileşiktir. Antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik, sitoprotektif, antikanser ve kardiyoprotektif etkileri bulunmaktadır (11). Bioflavanoid sınıfına ait quercetin'in süperoksit, alkolsil, peroksil ve nitrik oksit gibi radikalleri temizleme, demir ve bakır şelasyonu, alfa-tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına ek olarak; vazodilatatör, immünstimulan, antiallerjik, antiviral etkileri de söz konusudur. Fosfolipaz – A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu ile antiinflamatuvar özellik gösterirler (12).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Yaralanmasının Tarihçesi

Edwin Smith papirüsleri omurga kırıklarının belirtildiği ilk belgedir. Yaklaşık 3.000 yıl önce yazılmış olan bu papirüste çeşitli vakalar sunulmakta ve spinal kord yaralanmalarının tedavisinin olmadığı ifade edilmektedir (5). Bu alanda, Hipokrat ve Galen'in dönemine gelinceye değin kayda değer bir gelişme söz konusu değildir. Hipokrat (M.Ö 460- 375) omurganın anatomisi ile ilgilenmiş, omurganın yapısını ve omurgaya yapışan tendonları tarif etmiş, spinöz çıkıntı kırıklarını, spinal dislokasyonu, skolyozu ve posttravmatik kifozu tanımlamıştır. Hipokrat ayrıca disloke olmuş omurgayı redükte etmek üzere, bir traksiyon cihazı tanımlamıştır (13). Aulus Cornelius Celsus (M.Ö 25- M.S 55) servikal travma sonrası akut solunum zorluğu ve ani ölüm olabileceğini bildirmiştir (14). Celsus alt servikal travmaların paraparezi ve idrar inkontinansına yol açabileceğini bildirerek, bu olgularda immobilizasyon ve eksternal stabilizasyondan söz etmiştir (15). Sonraki yıllarda Bergama'lı bir cerrah olan Galen (M.S 130-201) bu konuya eğilmiştir. Hayvanlar ve insanların anatomisi üzerine çalışan Galen kas- iskelet sistemi ile sinir sistemi üzerinde çalışmıştır. Skolyoz, lordoz ve kifozu tanımlamış ve bunları düzeltmeye çalışmıştır. Deneysel olarak spinal kord zedelendiği zaman, zedelenen düzeyin altında paralizisi ve duyu kaybı olduğunu göstermiştir (16). Orta çağın ünlü hekimi Aegina'lı Paulus (M.S 625-690) spinal kordu komprese eden bir omurga kırığı vakasına laminektomi yaptığı bildirilmiştir (17, 18). Roland 1210'da yazdığı Chirurgica isimli yapıtında gövde, pelvis ile boyun arasındaki bantlarla spinal travmalarda traksiyon önermiştir (18, 19). Fransız Ambroise Pare (1510-1590) spinal dislokasyonların üzerinde durmuş, palpasyon ve krepitasyon hissederek teşhis koyduktan sonra dislokasyonları traksiyon ile tedavi etmiştir (20). Louis 1762'de lomber bölgeye giren ve paraplejiye yol açan metal fragmanı çıkarmış, komplikasyonsuz geçen operasyon sonrası tam iyileşme bildirmiştir. Mathijsen 1852'de servikal dislokasyonda fiksasyonu tanımlamıştır. Allen'in 1911 yılında deneysel spinal kord travması modelini geliştirmesi ile konuya ilgi artmış ve çalışmalar hızlanmıştır. Taylor 1929'da halter traksiyonu, Crutchfield ise 1933'te iskelet traksiyonunu tarif etmişlerdir (19, 21, 22).

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde spinal kord çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile kliplenmekte ve bu sayede değişik miktarlarda travma oluşturulabilmektedir. Bu model de klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir. Bu modelin avantajı spinal kordun tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası spinal kord yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (23).

2.2. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi

Spinal kord yaralanmalarına bağlı gelişen spinal kord hasarı, ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmekte olup, önemli oranda iş, güç ve ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Spinal kord hasarının fizyopatolojik süreçlerini daha iyi anlamak, tedavisinde yeni seçenekler geliştirebilmemize katkı sağlar. Yapılan deneysel çalışmalar, yaralanma sonrası oluşan spinal kord hasarının karmaşık olduğunu; birincil hasar ve ikincil hasar olarak iki aşamada geliştiğini ortaya koymuştur (24- 29).

Spinal kord travmasının oluş şekline ve şiddetine bağlı olarak dokulara uygulanan mekanik kuvvet; doku bütünlüğünü bozar, aksonları hasarlar, kan damarlarını yaralar, ödeme neden olarak hücre membranını parçalar. Travma esnasında ortaya çıkan bu duruma primer hasarlanma denir. Primer hasardan sonraki saatler ve günler içerisinde gelişen, bir dizi fizyopatolojik sürece bağlı olarak ortaya çıkan spinal kord yaralanmasına da sekonder hasarlanma denir (30, 31).

2.3. Primer Hasar

Spinal kord yaralanması ile sonuçlanan travma, spinal kordun kendisini veya etrafındaki vertebral kolonu etkileyebilir. Sonuçtaki hasarın boyutu, çeşitli biyomekanik faktörlere dayanır (10). Travma anında olan primer yaralanmaya tıbben müdahale edebilme şansı yoktur. Spinal korda yönelmiş fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyon ile ilişkili distraksiyonel kuvvetlerin tümü, nöral yapıların ve/veya bunlara ait vasküler yapıların gerilip yırtılmasına neden olabilir. Her bir yapının hasarı klinik defisit veya defisitlere yol açar. Diğer olası mekanik bası nedenleri, kemik fragmanlar, ligamanlar ve spinal kanal içindeki hematomdur (31). Yaralanmanın yaygınlığı ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli

boyutlarına da dayanmaktadır. Geniş kanallar mekanik strese karşı tampon sağlayabilse de, dar (stenotik) kanallarda böyle bir rezerv yoktur. Konus medullaris ile ilişkisine göre yaralanmanın anatomik yerleşimi de kısmen prognostik öneme sahip gibi görünmektedir. Kauda ekuina yaralanmaları, spinal kordun kendisine göre daha iyi bir iyileşme prognozuna sahiptir, zira alt motor nöronlar travmaya daha dirençlidirler (10).

2.4. Sekonder Hasar

Spinal kord yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, spinal kordu yaralanmış hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya atılmıştır (32). Spinal kord travmalarının seyri ve yaralanma sonrasında oluşan patolojik bulgular sadece primer yaralanmaya ait değildir, devamında ortaya çıkan fizyopatolojik mekanizmalar sonucunda oluşan yaralanmalar, sekonder yaralanmayı oluşturur (33). Sekonder patolojik olaylar daha çok iskemiye kapsayan ciddi hasarlanmalara neden olur (4, 34, 35). Bunlar eksitotoksisite, hücre içi nöronal iyonize kalsiyum (Ca^{+2}) artışı, serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyon artışıdır. Spinal kord hasarı sonrası ortaya çıkan iskemi direkt olarak sekonder fizyopatolojik sürece katılır (4, 34, 35, 36).

Spinal kord yaralanması sonrasında, spinal kord da hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Ducker bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (37). Nemecek bu ciddi nekrozu "otodestruksiyon" olarak tanımlamıştır (38). Spinal kord yaralanmasında rol oynayan birçok fizyopatolojik mekanizma tanımlanmıştır (Tablo 2.1). Spinal kord yaralanması, spinal kordda yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji değildir. Beyindeki inen yolların nöronları spinal korddaki lokal yaralanmadan (aksotomi) etkilenerek atrofi, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergilerler. Spinal kord yaralanmasında tıbbi tedavi yöntemleri tamamıyla sekonder hasarın gelişimini önlemeye yöneliktir.

Tablo 2.1. Spinal kord yaralanması patofizyolojisindeki ikincil hasar mekanizmaları.

<p>Sistemik Etkiler (Nörojenik Şok) Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi Kan basıncında kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon Periferik dirençte azalma Kalp debisinde azalma</p> <p>Spinal kord Mikrodolaşımında Lokal Vasküler Hasar Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma Hemoraji: özellikle gri cevherde Mikrodolaşımda kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm</p> <p>Biyokimyasal Değişiklikler Serbest radikal üretimi Lipid peroksidasyon Eksitotoksisite: glutamat Nörotransmitter birikimi Endojen opioidler Katekolaminler: noradrenalin, dopamin Araşidonik asit salınımı Eikozanoid üretimi Prostaglandinler Sitokinler</p> <p>Elektrolit Kaymaları İntrasellüler kalsiyumda artış İntrasellüler potasyumda artış İntrasellüler sodyumda artış</p> <p>İnflamatuvar Cevap Akson yıkımı Miyelin artıklarının uzaklaştırılması Sitokinlerin salınımı Glial hücre aktivasyonu Oligodendrositlerde sitotoksik etkiler Wallerian dejenerasyon</p> <p>Ödem Apoptozis Enerji Metabolizmasında Kayıp Azalmış ATP üretimi</p>

2.4.1 Vasküler Değişiklikler

Akut spinal kord yaralanması sistemik ve yerel vasküler değişikliklere neden olur. Mikrosirkülasyon ve perfüzyon bozulur. İskemi hemorajik bölgeye yakın yerlerde görülür. Birçok araştırmacı spinal kord yaralanmasının küçük damarlarda

ani mekanik bir hasar yaptığını bunun da sekonder hasara yol açtığını saptamıştır (26, 27, 39, 40).

Akut spinal kord yaralanması yaralanma şiddeti ve yaralanmanın seviyesi ile orantılı olarak birçok kardiyovasküler ve hemodinamik etki yapar. Birçok çalışma posttravmatik hipotansiyon ve nörojenik şok gelişimini göstermiştir. Travmayı takiben sistolik arteriyel basınçta hafif ve kısa süreli bir artışı takiben, ortalama arter basıncında ve kardiyak outputta kalıcı bir düşüş olur. Hipertansif fazda plazma noradrenalin ve adrenalin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Posttravmatik hipotansiyon ve azalmış kardiyak output, sempatik tonus azalmasının etkilerindedir (36).

Tator ve arkadaşlarının klip kompresyon modeline göre yaptıkları spinal kord yaralanmasında, hem yaralanma bölgesinde hem de sefalik ve kaudal komşu bölgelerde arterioller, kapiller ve venüllerde kanlanma durur. İskemik bölge, gri cevherde ve buradaki hemorajiye komşu beyaz cevherde belirgindir. Gri cevheri geçerek beyaz cevhere ulaşan arteriollerdeki vazospazm ve tromboz ile sekonder hasar artar (36). Beyaz cevher perfüzyonu travmadan sonraki 5. dakikada hızla azalır, 15. dakikadan sonra normale dönmeye başlar. Gri cevherde ise travmadan sonraki ilk 5 dakika içinde birçok hemorajik alan belirir. Perfüzyon travmadan saatler sonra bile yoktur. Lezyon bölgesinde, özellikle gri cevherde, spinal kord kan akımının ileri derecede azalması iskemi gelişmesi ile sonuçlanır (41). İskemiye bağlı olarak spinal kord kan akımı ölçümlerinde ciddi azalma saptanmıştır. Bu azalma gri cevherde daha fazla olur. Beyaz cevherde hipoperfüzyona neden olur, vasküler otoregülasyon bozulur, doku oksijenizasyonu azalır ve spinal kordda metabolik artıklar birikir. Akut spinal kord hasarında sempatik tonus azalmakta ve nörojenik şok gelişmektedir. Ödem hipoperfüzyona sekonder olarak gelişmektedir. Sistemik hipotansiyon spinal kord kan akımında belirgin düşme yapar. Sistemik kan basıncını 160 mm Hg üzerine çıkarmak bile bozulan otoregülasyon nedeniyle hasar bölgesindeki spinal kord kan akımını arttırmaz, sadece komşu bölgelerde hiperemi yaratır. Bunu tansiyon ve kardiyak debide düşme izler (26, 42).

Posttravmatik iskeminin kesin nedeni halen anlaşılamamıştır. Yaralanmayı oluşturan mekanik travma, vazoaaktif aminlerin salınımı, hemoraji, trombozis, platelet agregasyonu, endotel hasarı ve şişme vazospazmı tetikleyebilir (10). Posttravmatik

spinal kord kan akımını arttırmak için pek çok ajan denenmiştir. Santral sinir sistemi (SSS)'nde hücre içine kalsiyum girişinin hücre ölümünde son basamaklardan birinin olduğunun gösterilmesi, kalsiyum kanal blokörlerinin serebral vazospazmda kullanılmasını gündeme getirmiştir. Bir kalsiyum kanal blokörü olan nimodipin de spinal kord yaralanma modellerinde denenmiştir. Kan transfüzyonu ve dopamin, adrenalin ve nimodipin, dekstran ve nimodipin'in spinal kord yaralanmasından sonra kan akımını arttırdığı ve nörolojik iyileşmeye neden olduğu deneysel hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (36).

2.4.2. Serbest Radikallerin Oluşumu

Serbest radikaller dış yörüngelerinde fazladan (çiftlenmemiş) bir elektron bulunduran kuvvetli reaktif moleküllerdir. Biyolojik dokularda serbest radikallerin en sık kaynağı moleküler oksijen radikalleridir. Hücre yaşamı için serbest radikal oluşumunun önlenmesi önemli bir hayati adımdır. Çünkü normal hücresel solunum işlemlerinde devamlı olarak potansiyel oksijen toksik metabolitleri oluşturulur (43).

İnsan vücudunda en yaygın bulunan serbest radikaller oksijen kaynaklı olanlardır. Fakat pek çok serbest radikalın varlığı da gösterilmiştir. Tanımlama olarak günümüzde serbest oksijen radikalleri (SOR) yerine daha kapsamlı olarak, reaktif oksijen türevleri (ROT) tanımı kullanılmaktadır. Serbest radikaller protein yapılarla, nükleik asitler ve DNA'yla, hücrenin enerji kaynağı olan karbonhidratlarla reaksiyona girerek, orijinal yapıyı bozarlar. İskemik nöronal hasarın gelişmesinde poliansatüre membran lipidlerinin serbest radikallerle peroksidasyonu önemli bir mekanizmadır. Sonuç; fonksiyonu kaybolmuş ve antijenitesi değişmiş hücre membranı ve hücre yapısındaki yıkımdır. İskemi sırasında artan hücre içi Ca^{+2} 'un fosfolipaz- A2 enzimini aktive ettiği ve karboksigenaz ve lipogenazların etkisiyle prostaglandinler ve lökotrienler oluşurken ortaya çıkan SOR'nin oluşumunda major rol oynadıkları gösterilmiştir. İskeminin neden olduğu hasarın önemli bir kısmının reperfüzyon sırasında, post-iskemik dönemde olduğu düşünülmektedir. Esas hasarın, hipoksi döneminde değil dokunun tekrar moleküler oksijenle karşılaştığı dönemde olduğu kabul edilmektedir (44,45).

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. Mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit

radikali oluşur. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksiti hidrojen peroksite, katalaz enzimi de hidrojen peroksiti su ve oksijen (O₂)'e dönüştürür (46). Organizmada pek çok reaktif oksijen partikülü oluşabilir (Tablo 2. 2).

Diğer hücrel toksik oksidan kaynakları; peroksizomlar, mikrozoimler, çekirdek ve hücre membranına bağlı enzimler (siklooksijenaz, lipoksijenaz) ve çözülebilen enzimlerdir. Bu kaynaklar belirli aralıklarla ciddi sellüler oksidan stres oluşumuna katkıda bulunurlar (43).

Tablo 2.2. Reaktif Oksijen Partikülleri.

1 - Radikaller:
Süperoksit radikal (O ₂ ^{·-})
Hidroksil radikal (OH [·])
Alkolsil radikal (LO [·])
Peroksil radikal (LOO [·])
2 - Radikal olmayanlar:
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)
Lipid hidroperoksit (LOOH)
Hipoklorik asit (HOCl)
3 - Singlet oksijen

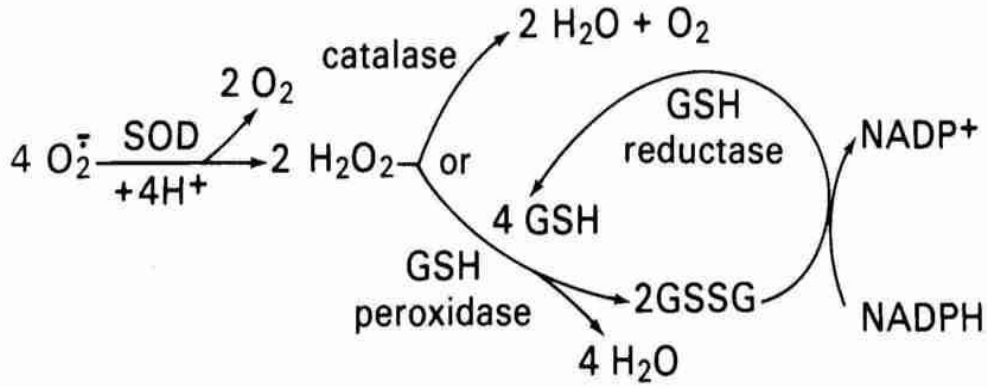
Transisyonel metal iyonlarından olan demir ve bakır, oksidatif doku hasarı üzerinde majör rol oynarlar. Bunlar; sitotoksik aldehytleri oluşturan lipid peroksidasyonu ve H₂O₂ ve O₂'den OH[·] oluşturan Haber-Weiss kimyasal reaksiyonunda etkili olurlar (43).

İnsanda belli başlı hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) enzimleridir. SOD'ın yapısında bakır, çinko ve manganez; GSHPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobulin, seruloplazmin, albumin, bilirubin, Beta - karoten ve α-1 antitripsin sorumludur (47).

Süperoksit dismutaz süperoksiti H_2O_2 'e çevirir. Bu serbest radikaller lipitlerle, proteinlerle ve nükleik asitlerle reaksiyona girerler ve daha çok serbest radikal açığa çıkaran lipid peroksidleri yaparlar (28).

GSHPx ve CAT enzimleri toksik hidroksil radikalini oluşturmadan, hidrojen peroksiti direkt olarak suya çevirir. Katalaz birçok dokuda peroksizomlarda bulunan ve demir içeren bir enzimdir. GSHPx selenyum içeren, sitozol ve mitokondride bulunan bir enzimdir.

Süperoksit dismutaz süperoksit radikalini, katalaz ve glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksiti metabolize ederler. Katalaz, SOD, GSHPx oksidatif stresle başa çıkacak antioksidan defans mekanizmalarıdır. Hücrel substratları okside edebilecek O_2 ve H_2O_2 'yi elimine ederler. Bunlar serbest radikal konsantrasyonlarını azaltarak serbest radikal zincir reaksiyonlarını önlerler. Bu antioksidanlar, çeşitli organlarda özel spesifik subsellüler lokalizasyonlarda bulunurlar. Bu enzimlerin aktif oluşu daha zararlı olan hidroksil radikali oluşumunun engellendiğini gösterir. Antioksidan enzimlerin hücre düzeyini etkileyen en önemli faktör serbest radikallerin ve/veya oksidatif yıkımın düzeyidir (48). Hücre içi ortamda antioksidan savunmada rol alan enzimler SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktazdır (Şekil 2. 1).



Şekil 2.1. Hücre içi ortamda antioksidan savunma.

Serbest radikaller hücrede DNA, nükleus gibi organeller de yeni radikal oluşumuna ve birçok reaksiyona neden olarak zarar verir (Tablo 2. 3). Katekolaminleri etkileyerek homeostazisi bozabilir. Membranı geçerek

karbonhidratlarda depolimerizasyon, proteinlerde denatürasyon, enzimlerde inaktivasyon, lipitlerde peroksidasyon ve DNA'da mutasyon oluşturabilirler (49, 50).

Tablo 2.3. Artmış Serbest Radikallerin Zararları.

- Hücre organelleri ve membranındaki lipid ve protein yapısını bozarlar,
- Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirirler,
- DNA'yı tahrip ederler,
- Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar,
- Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipooksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive ederler,
- Hücresinin potasyum kaybını arttırırlar,
- Trombosit agregasyonunu arttırırlar,
- Dokulara fagosit toplanmasını kolaylaştırırlar,
- Hücre dışındaki kollajen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar,

Travma sonrası dokuda antioksidan mekanizmalar hızla azalır. Spinal kord hasarında kanamadan sonra hemoglobin, ferritin yada transferrinden demir açığa çıkar. Demirin katalizlediği membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu neticesinde membran parçalanır ve hücre ölür. Serbest oksijen radikallerine bağlı olarak endotel hasarı oluşur ve kan spinal kord bariyeri bozulur. Bunun sonucunda spinal kord hasarı olan bölgede zararlı maddelerin birikimi olur. Santral sinir sisteminde SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına yatkındır (10).

Ulusal akut spinal kord yaralanmaları çalışması (NASCIS)'nın klinik sonuçları spinal kord yaralanmasından sonra 8 saat içinde kuvvetli antioksidan etkili metilprednizolon (MP) uygulanmasının kronik nörolojik düzelmeyi önemli derecede artırdığını göstermektedir (51). Ancak, insanda daha selektif ve daha etkin antioksidan bileşiklerle ilgili çalışmalar halen sürdürülmektedir.

2.4.3. Lipid Peroksidasyonu

Serbest yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır (52). Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehit grubundan malondialdehittir.

Organizmada lipid peroksidasyonu üç basamakta gerçekleşir; başlangıç basamağı (initiation), ilerleme basamağı (propagation), sonlanma basamağı (termination). Hidroksil radikalleri hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin metil grubundaki bir hidrojen iyonunu çıkarır ve organik asit serbest radikallerini (serbest lipid radikalleri) oluşturur (53). Bunlar da oksijen (O₂) ile reaksiyona girerek lipid peroksi radikallerine dönüşür. Lipid peroksi radikallerinin, doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girmesi sonucu da lipid hidroperoksitler (lipid peroksit) açığa çıkmaktadır. Lipid peroksidasyonu ve açığa çıkan lipid peroksidasyon ürünleri hücre membranlarındaki doymamış yağ asidi disülfid ve protein tiol bağlarının yapısının bozarak hücre membran akışkanlığında kayba neden olmaktadır (53). Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan malondialdehit hücre membranının deformasyonuna, iyon geçişinin ve enzimatik fonksiyonların bozulmasına neden olacaktır.

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan fonksiyonel hasarlar şunlardır: yapısal hasarın derecesine göre, plazma membranında akışkanlığın azalması, membran geçirgenliğinin değişmesi, membran potansiyeli azalması, membrana bağlı enzimlerde (Örn: Na⁺-K⁺-ATPaz) aktivite azalması. Lizozomal ve mitokondriyal membranları ilgilendiren ileri derecede lipid peroksidasyonu ile organel içeriğinin (mitokondriyal matriks enzimleri, lizozomal enzimler gibi) hücre içine salınması. Normal koşullarda lizozomlar içinde güvenli bir şekilde tutulan lizozomal proteolitik enzimlerin sitoplazmaya salınmaları ile hücre içi proteolizin hızlanması ve doku hasarının şiddetlenmesi (54).

Paolin ve ark. (55) yaptıkları bir çalışmada, serbest radikallerin aşırı üretiminin yol açtığı lipit peroksidasyonunun, insanlarda posttravmatik nöronal hasarın oluşmasında çok önemli bir rol oynadığını belirlemiştir.

İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan paraoksonaz (PON) gen ailesinin PON- 1, PON- 2 ve PON- 3 şeklinde 3 üyesi vardır. PON- 1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılan ferdidir. PON- 1, hem paraoksonaz hem de arilesteraz aktivitesine sahip, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır. Başlıca karaciğerde sentezlenip dolaşıma salınan serum PON- 1 enzimi, organofosfatlar, arilesterler ve laktonlar dahil birçok substrat üzerine hidrolitik etkiye sahip bir proteindir (56).

Paraoksonaz'ın, primer fizyolojik rolü hala tam olarak bilinmemesine rağmen, son çalışmalarda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol ile ilişkili olduğu ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterolün oksidatif modifikasyonuna karşı koruyucu bir rol oynayarak lipit peroksidasyonunu engellediği, antioksidan ve antiinflamatuvar özellik gösterdiği belirtilmektedir (57, 58, 59). PON-1'in, hücre membranları ve lipoproteinler üzerine serbest radikallerin yol açtığı lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan etki gösterdiği gözlenmiştir (60). Oksidatif hasarda artış gösteren hastalıkların etkilediği hastalarda HDL'nin peroksidasyona daha yatkın oluşu, azalmış PON-1 aktivitesi ile ilişkili bulunmuştur (61).

Paraoksonaz, LDL kolesterolü bakır ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyona karşı koruyarak antioksidan etki gösterdiği belirtilmektedir (62). Arter duvarında LDL'nin oksidasyonu ateroskleroz lezyon gelişiminde önemli bir basamak olup PON- 1, bu okside LDL'deki aktif lipitleri yıkarak, arter duvar hücrelerindeki inflamatuvar cevabı önlemektedir (63).

Serum PON aktivitesinin, özellikle de aterosklerozla ilişkisini değerlendiren birçok çalışma yayınlanmıştır. Myokard enfarktüsü, diyabet ve kronik renal yetmezlikte PON aktivitesinin azaldığı ifade edilmiştir (62, 64, 65).

Rael ve ark yaptığı çalışmada, 39 multitravmalı hastada plazma oksidasyon redüksiyon potansiyeli, PON ve arilesteraz aktiviteleri ölçülmüş ve sağlıklı 10 kişinin plazma değerleriyle karşılaştırılmış. PON ve arilesteraz aktiviteleri, multitravmalı hastalarda anlamlı düzeyde daha düşük olduğu görülmüş ve travmanın şiddetini ve

tedavinin potansiyel etkinliğini değerlendirmede faydalı olabileceği belirtilmiştir (66).

2.4.4. Eksitatör Aminoasitler

İskemi, endojen eksitatör aminoasit nörotransmitterlere bağımlılığı nedeni ile eksitotoksisite diye tanımlanan sekonder patogenetik mekanizmalar kaskadını başlatır. Spinal kord hasarı sonrası eksitatör aminoasitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir (67). Glutamatın toksik özelliklerini açıklamak amacı ile glutamat; N- metil- D- aspartat (NMDA), α - amino- 3- hidroksi- 5- metil- izoksazolpropiyonik asit (AMPA) ve kainat (KA) gibi glutamat reseptör uyarıcıları santral sinir sistemine enjekte edilmiş ve glutamatın eksitotoksik olduğu, bunun reseptör blokörleri ve serbest radikal tutucular ile önlendiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar bize glutamat toksisitesinde serbest radikallerin de olaya katıldığını göstermiştir. Glutamat ve aspartat salıverilmesinin spinal kord yaralanmasının şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (68, 69). Spinal kord travmasını ve iskemisini takiben mikrodializ yöntemi ile yapılan çalışmalar ekstrasellüler alandaki glutamat ve aspartat miktarında belirgin bir artışı göstermiştir (70, 71). Glutamat reseptörlerinin uyarılmaları ile Na^+ 'un hücre içine toplanması sitotoksik ödeme ve hücre içi Ca^{++} konsantrasyonu da artarak hücre yıkımına neden olur. İntrasellüler Ca^{++} daha sonra kalsiyuma bağlı proteazları aktive ederek daha fazla hasara yol açar. Postsinaptik reseptörlerden NMDA glutamatın nörotoksik etkilerini uyarır (26, 27, 72- 75).

Selektif NMDA reseptör antagonistlerinin geliştirilmesiyle, sitotoksik olayların büyük ölçüde NMDA reseptör kompleksi tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (76). Deneysel hayvan çalışmalarının birçoğu spinal kord yaralanması sonrasında hem kompetitif hem de non- kompetitif NMDA reseptör antagonistlerinin nörolojik iyileşmeyi arttırdığını göstermiştir (77, 78). Spinal kord yaralanmasında glutamat antagonistleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. NMDA reseptör antagonisti olan 3- propil- 1- fosfonik asit ve dizocilopine ile yapılan çalışmalar travmatik ve iskemik spinal kord hasarında histolojik ve klinik iyileşmeye neden olduklarını göstermiştir (79).

Son dönemdeki deneysel çalışmalar ile spinal kord travmasını takiben NMDA dışı reseptör antagonistlerinin de etkin olduğu gösterilmiştir (80, 81). Eksitotoksisitenin oluşmasında AMPA reseptörlerinin de rol aldığı gösterilmiştir

(82). Güçlü AMPA/KA reseptör antagonisti olan 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoylbenzo(F)quinoxaline deneysel çalışmalarda travmatik spinal kord hasarını takiben kontüzyone lezyon boyutlarını azalttığı ve klinik iyileşmeyi arttırdığı gösterildi (81). Bu ilaçların sistemik yan etkileri olması nedeniyle özellikle lokal uygulamalardaki etkinlikleri kullanımlarını gündeme getireceği için önem taşımaktadır.

2.4.5. Kalsiyum Ve Diğer Elektrolitler İle İlişkili Sekonder Hasar

Santral sinir sisteminde yaralanmayı takiben nöronal dejenerasyonun patogeneğinde kalsiyuma karşı oluşan membran geçirgenliğindeki değişiklikler önemli yer tutar. Spinal kord hasarında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetmezliği ve bunun neticesinde Na^+ - Ca^{++} değiştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, bu büyük gradient farkı ile hücre içine Ca^{++} iyon girişi olur. Ca^{++} iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktifleştirerek hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Fosfolipazlar hücre membranlarının yıkılmasını sağlayarak araşidonik asit gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz araşidonik asidi prostaglandinler ve lökotrienlere dönüştürür. Fosfatazlar nitrik oksit sentetaz gibi diğer enzimleri aktifler, ayrıca Ca^{++} iyon kanalları ve diğer iyon kanallarının çalışmasını düzenler (83). Özellikle Ca^{++} iyonunun nükleaz stimülasyonu DNA yapımını bozarak, mekanizması halen tam ortaya konmamış olan programlanmış hücre ölümü diye adlandırılan apoptozise neden olur. Ayrıca hücre içi proteaz aktivasyonu, hücredeki fonksiyonel protein yapıları yıkarken, ATP'az, SOD ve diğer enzimleri haraplar (84- 86).

Kalsiyum kanal blokörleri sekonder yaralanmayı azaltmak amacıyla deneysel spinal kord çalışmalarında denenmiştir. Bu ajanların spinal kord kan akımını düzelttiğini ve iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğini gösteren birçok deneysel hayvan çalışması vardır (42, 86). Kalsiyum kanal blokörlerinin faydalı etkilerinin, eksitotoksiteden ziyade, yaralanma sonucunda oluşan vazospazma uğrayan mikrovasküler yapılar üzerinden olabileceği düşünülmektedir (29).

Yaralanmadan sonraki ilk 30 dakika içinde birincil nöronal hasar başlar. Elektrolit konsantrasyonundaki değişiklikler lezyon düzeyinde iletimin durmasına yol açar. Hücre içinde sodyum, hücre dışında ise potasyum konsantrasyonunun artmasının aksonal iletimi durdurduğu gösterilmiştir. Ekstrasellüler alanda potasyum

seviyesinin artması nöronların depolarize olmasına yol açar. Bu da nöronal iletimi etkiler ki bu durum spinal şokun altında yatan en önemli sebebidir (87). Miyelin kaybı aksonal uyarılabilirliği azaltır. Bazı ilaçlar ise demiyelinize aksonların uyarılabilirliğini artırır. Bunlardan en iyi bilineni 4-aminopiridin'dir. Aksonlardaki voltaj duyarlı potasyum kanallarını bloke eder. Aksonlardaki sinyallerin amplitüd ve süresini artırır. 4-aminopiridin, yan etkilerinden dolayı uzun süreli kullanılamaz, kısa süreli tedavide yan etkileri tolere edilebilir, iyileşme hızı ve oranını artırır (88).

Spinal kord hasarı sonucunda beyaz cevherde oluşan anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur. Sodyum kanallarından hücre içine Na^+ akar. İntrasellüler Na^+ konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, Na^+ - Ca^{++} değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine zararlı miktarda Ca^{++} girişine neden olur. Başlangıç travması sonrası hücre içi Na^+ miktarında ciddi bir artış söz konusudur. Bu nedenle sodyum kanal blokajının sekonder hasarın şiddetlenmesinin engellenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir (87).

2.4.6. Opiat Reseptörleri

Akut spinal kord travması sonrası endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, sekonder hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (87). Endojen opioidler, opioid reseptörler aracılığı ile olan mekanizmalar ile spinal kord yaralanmalarının ikincil patolojik hasara katkıda bulunurlar. Deneysel hayvan çalışmaları sonrasında endojen opioid peptidlerinin lokal olarak önemli miktarlarda salındığını göstermiştir. Dinorfin mikrosirkülasyondaki kan akımını azaltır ve ikincil hasarın artmasına katkıda bulunur. Opiat reseptörlerini aktive etmeyen bazı dinorfin fragmanlarının nörolojik fonksiyonu bozması, öte taraftan kappa selektif opioid reseptör antagonistlerinin spinal kord yaralanmasında nöroprotektif olduklarının bulunması bu mekanizmanın oldukça karmaşık olduğunu göstermektedir (29, 83).

Opiatlar SSS'de monoamin ve serotonerjik nörotransmitter seviyelerini hızla değiştirirler. İntratekal uygulanan dinorfinin hasar verici etkisini NMDA reseptör blokörlerinin önlemesi ile opioidlerin eksitotoksik aminoasit salıverilmesini artırdığını ve zararlı etkilerini EAA üzerinden yaptığı gösterilmiştir (89). Yapılan deneysel hayvan çalışmalarında opioid reseptör antagonistlerinin yararlı etkileri gösterilmiştir.

2.4.7. İnflamasyon Cevabı

İnflamasyon, spinal kord hasarı sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Spinal kord hasarı ile başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin birikimi ve biyokimyasal değişiklikler, inflamasyonun santral sinir sistemi üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. İnflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. İnflamasyon yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, hümorale ve hücresele yanıtları içerir. İnflamasyon, organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (90).

Akut inflamasyon özellikle hemoraji bölgesindedir. Bu bölgedeki fagositoz, travma sonrası nöronlardan kemotaktik faktörlerin salgılandığını göstermektedir. Potansiyel kemotaktik faktörler; serbest radikallerle reaksiyon sonucu oluşan oksijenize yağ asitlerinin lipooksijenizasyonu sonucunda araşidonik asitten oluşan lökotrienlerdir. Travmatize spinal kordda oluşan akut inflamasyon travmanın membran lipazlarını aktive etmesine bağlıdır. Bu lipazlar membran fosfolipidlerini hidrolize ederler ve araşidonik asit ve diğer yağ asitlerini serbestleştirerek siklooksijenaz ve lipooksijenaz sistemlerinin substratlarını oluştururlar. Travma sonrası araşidonik asit 20 kat artar. Doku prostaglandinleri travma sonrası 5.dakikada artmaya başlar. ProstaglandinE₂ ve ProstaglandinF_{2alfa} 10 kat artar. 30. dakika sonrası ProstaglandinF_{2alfa} 24 kat artmış olarak bulunmuştur. Tromboksan pretravmatik düzeyine göre 10 kat artar. Prostaglandin ise travma sonrası 30. dakikaya kadar değişmez. Lökotrienler de artmaktadır. Bütün bu sonuçlar travmatize spinal kordda siklooksijenizasyon ve lipooksijenizasyon yollarının çalışarak ödem, iskemi ve inflamasyonda etken olduklarını göstermektedir (9).

Yaralanmayı takiben lezyonun içine aktive astrositler ve mikroglial hücreler göç ederler. T hücreleri makrofaj aktivasyonu için ve hücresele immün cevabı oluşturmak için şarttır. Makrofajlar ve nötrofiller doku harabiyeti ve lezyonun büyümesinde rol alırlar. Makrofaj ve mikroglia, sitokinlerin salıverilmesiyle sekonder patolojik ve inflamatuvar yanıta rol alırlar. Sitokinler inflamatuvar yanıtı ek sitokinlerin, kemokinlerin, nitrik oksidin, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin ekspresyonunu indükleyerek SSS inflamatuvar cevabını hızlandırırırlar (91). Sitokinler,

aktive edilen inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan çözülebilir proteinlerdir. Sitokinler hücreler arasında iki yönlü olarak ilişki kurarak inflamatuvar olayın devamlılığını sağlar. Sitokinlerin bir kısmı antiinflamatuvar iken bir diğer kısmı da proinflamatuvar özelliklere sahiptir. Spinal kord travmalarında IL- 1, IL-2, IL-6 ve Tümör nekroz faktör (TNF) seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (92).

2.4.8. Apoptoz

Apoptozis spinal kord hasarında önemli rol oynar ve glutamerjik ekstrasitoksiste, serbest radikal hasarı, sitokinler ve inflamatuvar yaralanma tarafından tetiklenir (93). Başlangıç yaralanmasından sonra spinal korda uygulanan travma ani fiziksel yaralanmaya neden olur. Günlerce aylarca süren doku yaralanması bu olayı izler. Sonuç olarak hücre nekroza veya apoptozise giderek son bulur (94, 95).

Apoptozis hücresel intihar mekanizmasının aktifleşmesiyle meydana gelen bir yoldur. Sitoplazmik kondansasyon, endonükleaz aktivitesi, kromatin kondansasyonu ve DNA fragmentasyonunu takiben görülen fagositozla ortaya çıkan bir hücre ölüm şeklidir (96- 98).

Spinal kord hasarında apoptozis önemli rol oynar. Spinal kord hasarı sonrası görülen hücre içi Ca^{++} artışı posttravmatik hücre ölümü için önemlidir (99). DNA ve proteinlerin bozulması apoptoziste kalsiyuma bağlıdır (100).

Apoptozis birçok gen yoluyla düzenlenir, bazı genler gelişimini çok iyi korunmuştur. Apoptotik hücre ölümü sistein proteaz ve caspase ailesi tarafından düzenlenir (100- 103). Caspase-3'ün nöronal gelişim ve yaralanmada etkili olduğu ayrıca nükleer DNA parçalanmasına neden olduğu in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir (104, 105). Yapılan deneysel çalışmalar da iskemi ve travmatik beyin yaralanması sonucunda nöronal hücre ölümüne caspase- 3 aktivitesi katkıda bulunur (98, 100, 103). Apoptozun başlatılması için üç prototip sinyal yolu tanımlanmıştır: Birinci yolda ölüm reseptörleri pro-caspase-8'i ve muhtemelen diğer başlatıcı caspase-2'yi aktifler. Spinal kord hasarı sonrası oligodendrositlerde görülen apoptotik dejenerasyon ölüm reseptörleri fas ve p75 ile bağlantılıdır. Bu reseptörler, tümör nekroz faktör reseptör gen ailesinin üyeleridir. Bunların apoptotik hücre ölümünü başlatan caspase kaskadını aktive ettiği biliniyor. İkinci yol mitokondri tarafından kontrol edilir ve mitokondride yerleşmiş apoptoz proteaz aktive edici faktör-1 ve caspase-9'u içerir. Bir kez sitokrom- c tarafından aktive edildiğinde apoptoz proteaz

aktive edici faktör-1 ko- faktör nükleotid trifosfatlarla birlikte pro-caspase-9'a bağlanır ve aktifler. Böylece caspase-8 ve caspase-9 ölüm reseptörleri ve mitokondri için en önemli caspase'lardır (10).

Yapılan bilimsel çalışmalar caspase 8, caspase 9 ve caspase 3'un deneysel spinal kord yaralanmalarında oluşan apoptozisteki rollerini açıklar (4, 106, 107). Dış sinyallerle meydana gelen apoptoziste caspase kaskadı Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α)'nın tümör nekroz faktöre bağlanması ile başlar. TNF reseptör aracılı domain aracılığı ile ilerler ve trimerized ölüm indükleyici sinyal kompleksi oluşur. Bu da başlatıcı caspase'lardan procaspase 8 veya procaspase 10'a bağlanır. Caspase 8, travmatik beyin yaralanması sonrası görülen apoptoziste caspase 3 aktivasyonuna neden olur. Nöronal apoptoziste dış sinyallere bağlı caspase kaskadında caspase 8'e bağlı olarak bcl-2 ailesinden bid salınımı uyarılır. O da mitokondri aracılı sitokrom c salıverilmesini başlatır (4, 107).

Apoptozisin dış ve iç sinyallere bağlı olmak üzere iki yolu mevcuttur. Caspase 3 aktivasyonu apoptozisin son fazıdır. Spinal kord yaralanmasını takiben nöronlar ve glial hücreler apoptozise giderler (103, 107, 108).

2.4.9. İmmunolojik Sekonder Hasar

Santral sinir sistemine normalde immün hücrelerin girişi nadirdir. Ancak hastalık veya travmaya bağlı hasar oluştuğunda SSS'ne girerler (109).

Yaralanmadan sonra, spinal korda ilk giren hücreler nötrofillerdir. Bunlar yaralanmadan sonraki ilk 12 saatte spinal korda girerler. Yaralanmadan 3 gün sonra T hücreleri onun ardından makrofaj ve monositler giriş yapar. Normalde spinal kordda yer alan ve immün fonksiyonu olan mikroglialar, travmadan sonra aktifleşir (109). Bu hücreler sitokinler, serbest radikaller gibi dokuya hasar veren maddeler salarlar (109).

İmmunolojik aktivasyonun, santral sinir sistemi hasarından sonra ilerleyici doku hasarına ve/veya nöronal rejenerasyonun inhibisyonun öncülük ettiği tahmin edilmektedir. Hasarlı spinal kordun içindeki immün hücrelerin fonksiyonel önemi tartışmalıdır (110). Makrofaj ve mikroglialar bir yandan nöronal rejenerasyonun integral parçaları olarak düşünülürken, diğer bir grup ise bu hücrelerin TNF ve Nitrik oksit (NO) sentezini arttırarak oligodendrositlizisi, nöronal ölüm ve demiyenilizasyonda rol oynadıkları düşüncesini savunmaktadır (111).

Aksonların demyelinizasyonunu lökosit infiltrasyonunun şiddetlendirdiği ve bunun özellikle ilk 24 saat içerisinde başlayıp, birkaç gün içerisinde pik yaptığı düşünülmektedir. Gri ve beyaz cevherdeki kavitasyonlar bu patolojik sürecin sonunda belirgin hale gelmektedir. Daha sonra ise Wallerian dejenerasyon ve skar oluşumu meydana gelmektedir. Skar oluşumu astrosit ve diğer glial hücreler tarafından yönlendirilmektedir (5). İmmün hücrelerin hasarlı dokuya gelişi birçok protein tarafından etkilenmektedir. İntrasellüler adezyon molekülü bu mediyatörlerden biridir. İntrasellüler adezyon molekülü dokuya nötrofil infiltrasyonunu başlatarak immün cevabı kötüleştirir. Akut spinal kord hasarı sonrası sekonder hasardaki rolü çok iyi aydınlatılamamıştır. İntrasellüler adezyon molekülüne karşı oluşan spesifik monoklonal antikörlerin ciddi derecede myeloperoksidaz supresyonu yaptıkları, spinal kord ödemi azalttıkları ve spinal kord kan akımını arttırdıkları gösterilmiştir (112).

2.4.10. Nötrofil Kaynaklı Hücresel Hasar

Nötrofiller iskemik dokuda, serbest radikaller de dahil olmak üzere diğer bazı kemoatraktanların etkisi ile göç ederler, aşağıdaki mekanizmalar ile reperfüzyonda doku hasarının ilerlemesine yol açmaktadırlar. Salgıladıkları proteazlar (elastaz, jelatinaz vb.) ile endotel hücre parçalanmasına neden olurlar. Reperfüzyon döneminin en önemli mikrovasküler patolojisi olan kan akışının geri dönmemesi fenomenine, aktive olmuş nötrofillerin yol açtığı ve nötrofillerin kapillerlerdeki agregasyonları ile kan akımının geri dönmesine engel olan kapiller tıkaçları oluşturduğu bildirilmiştir (60). Salgıladıkları vazokonstriktör ajanlar ve trombosit aktive edici faktör ile daha büyük damarlarda da (arterioller, prekapiller damarlar) daralmaya neden olmaktadır. Bir araşidonik asit metaboliti olan lökotrien-B4 salgılayarak, süperoksid anyon radikali üretimine ve nötrofillerin kemotaksisine neden olmaktadır. Böylece bir geri beslenme mekanizması ile toplanmış olan nötrofillerden salgılanan kemotaktik faktörler yeniden serbest radikal üretimine ve nötrofil infiltrasyonuna neden olmaktadır (113). Hartmann ve ark. (114) serebral iskemi üzerine yaptığı çalışmada, nötrofillerce üretilen süperoksid anyon radikalininin, eritrositlerin agregasyonunu da hızlandırdığını ve bu etkinin nötrofil agregasyonu ile birlikte kapiller tıkanmayı daha arttırıcı olabileceğini savunmuşlardır.

2.4.11. Sekonder Hasarda Araşidonik Asit Metabolizmasının Rolü

Travmanın direkt etkisi ile ya da kalsiyumun anormal hareketi, membran fosfolipidlerinden, fosfolipaz aktivitesi ile araşidonik asit salıverilmesini artırmakta, o da siklooksijenaz tarafından hızla metabolize edilerek, prostanoidler ve prostasiklin haline dönüştürülmektedir. Prostaglandin A2 güçlü bir vazokonstriktör maddedir. Tromboksan benzeri prostanoidler, trombositlerin endotele yapışmasını artırırken, intravasküler trombosit agregasyonuna, mikrovasküler tromboembolilere ve vazokonstriksiyona neden olur. Prostrasiklin ise tam tersi etki göstermektedir. Ancak yapımı siklooksijenaz yolunun ürünlerinden olan serbest radikaller tarafından selektif olarak engellenmektedir. Bu yüzden ortamda vazospazm ve iskemi daha da ilerleyebilmektedir (44, 115).

2.5. Spinal Kord Hasarının Patolojisi

Akut spinal kord hasarında meydana gelen patolojik değişiklikler hakkındaki bilgiler az sayıdaki klinik çalışmalardan daha ziyade yapılan deneysel çalışmalara dayanmaktadır. Burada dikkati çeken özellik deneysel ve klinik çalışmalardaki patolojik değişikliklerin benzerlik göstermesidir (116). Spinal kord yaralanmalarında nöropatolojik bulgular yaralanmayı oluşturan etkenin şiddetine, süresine ve yaralanmadan sonra geçen zamana bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (117). Spinal kordda travmayı takiben başlayan ikincil hasar süreci akut, subakut ve geç faz olarak sınıflanabilir.

2.5.1. Akut Faz

Akut faz; travma sırasında başlar ve ilk birkaç güne yayılır. Histolojik görüntü ödem, belirgin aksonal şişmeyle birlikte uzun traktların bozulması, kanama ve enfarkt odaklarının kombinasyonu şeklindedir. Kan akımı azalır, iskemik nekroz oluşur (118).

Travmayı takiben yaklaşık 4. saatte erken döneme ait morfolojik değişiklikler görülmeye başlar. 8. ile 24. saatler arasında hemodinamik bozukluk ve nekroz, ışık mikroskobu ile incelenebilir düzeyde oluşmuştur. Spinal kordda hasar, beyaz cevhere oranla daha sıklıkla gri cevherde görülür. İlk belirtiler gri cevherde peteşiyal kanamalar, beyaz cevherde ise ödemdir (4, 6, 117).

Travma erken dönemde, özellikle gri cevherdeki küçük damarlarda yırtılmalara neden olarak kanamalar oluşmaktadır. Kanama genellikle kapiller, arterioller veya venüllerden kaynaklanır, ancak kesinlikle anterior spinal arter gibi arterlerden olmaz. Kanama 2 saat boyunca sürebilir. Gri cevher, periferdeki beyaz cevherden daha çok etkilenir. Çünkü gri cevherin vaskülaritesi beyaz cevherden daha fazladır. Böylece patolojik süreç gri cevherden başlayıp beyaz cevhere yayılmaktadır (116, 119). Başlangıçta beyaz cevherde kanlanma azalmakta ancak daha sonra vasküler tonusun kazanılması ile spinal kordda hiperemi oluşabilmektedir. Kordda, büyük bir hemorajik boşluk yaratan santral hematomyeli oluşması nadirdir. Uzak hemorajiler görülebilir. Bunun venöz kökenli olduğu bulunmuştur (116, 120).

Travma sonrası eritrosit ve lökositler damar dışına çıkarlar. Peteşiyal kanamalar eritrositlerin ekstrasvaze olmasıyla oluşur ve kanın diğer şekilli elemanlarından öncelikle polimorfonükleer lökositler (PMNL)'ler travma sonrası ortama hakimdir. Daha sonra ise lenfosit ve makrofaj hakimiyeti oluşur (120). Spinal kord parankimine ait travmatik değişiklikler olarak nöronlarda akson ve myelin kılıfının şişmesi ve bütünlüğünün kaybı gözlenir (37).

Travma sonrası ilk 15 dakikada gri cevherde peteşiyal kanamalar, beyaz cevherde ödem, 2. saatte gri madde hemorajisinde artma, 4. saatte akson silindirlerinde ödem, 12-24. saatte santral hemorajik zonlarda santral hemorajik nekroz hakim olur. Yapılan deneysel çalışmalarda travmadan 24 saat sonra kan akımında azalma ya da hiç olmama sonucu gelişen infarkt 24 saat sonra alınan histolojik kesitlerde görülmüştür. Bu durum post-travmatik infarkt olarak değerlendirilmektedir. 6. günde otodestruksiyon ile ciddi nekroz görülür. Vasküler değişiklikleri takiben akson dejenerasyonu, nekroz ve kavitasyon görülür.

Yaralanmadan 2 saat sonra mikroglia ve polimorfonükleer lökositler gibi inflamatuvar hücrelerin invazyonu başlar, 4. saatte miyelin kılıfları yırtılır ve aksonlar dejenere olur, 6. saatte vazojenik ödem gelişir. Spinal kord hasarı sonrası 2-3. günlerde ödem en üst düzeydedir 7. günde ödem gerilemeye başlar. Ödem spinal kord hasarını takiben progresif olarak gelişir. Ödemin kendisinin mi hasar verdiği, yoksa iskemi veya glutamat toksitesi gibi başka bir mekanizmayı mı harekete geçirdiği bilinmemektedir. Nöron içine sodyum girişi sitotoksik ödem oluşturur. Ödem, olduğu sahadan rostral ve kaudale ilerleyebilir. Ödemin nedeni:

transveziküler transportta artma, endotelial hücre entegrasyonunda bozulma, endotelial hücrelerin pinositik aktivite artışıdır (116, 121).

Tablo 2.4. Spinal Kord Hasarında Akut Fazda Görülen Patolojik Değişiklikler.

- Santral Hemoraji (özellikle gri cevherin kapillerleri , venülleri ve arteriollerinden kaynaklanır)
- Hematomyeli
- Uzak kanamalar- özellikle venöz
- Santral hemorajik nekroz
- Post travmatik infarkt
- Subaraknoid kanama
- Subdural veya ekstradural kanamalar(nadir)
- Ödem: lokal veya yaygın
- Aksonal hasarlanma; transeksiyon, aksolemma yırtılması, şişme, dev aksonların oluşumu, granüler kayıp (kromatolizis) , organellerin toplanması
- Myelin kılıf hasarı; rüptür, veziküler hasarlanma (vakuolizasyon) , periaksonal boşluklar
- İnflamasyon; makrofaj, mikroglia

2.5.2. Subakut Faz

5. günden sonra akut döneme ait değişiklikler yavaşça durulmaya başlar. Subakut dönem 5. gün ile 3 ay arasındaki dönemi kapsar (122). Subakut fazdaki patolojik değişiklikler akut ve kronik dönem değişikliklerinden farklıdır. Bu dönemde ödem büyük oranda azalmıştır. Küçük boyuttaki kanamalar geri emilmiştir. Büyük alanları işgal eden kanamalar ise organizasyonla giderilmeye çalışılır. Bu nedenle mevcut damarlarda rekanalizasyon izlenir. Vasküler yapıların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır. Subakut dönemde lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu, akut dönemdeki PMNL infiltrasyonunun yerini almıştır. Ortamda

çoğunluğu oluşturan hücreler ise lipit yüklü ölen nöron ve parçalanmış myelin fagositleri ya da kanamayı fagositleri etmiş hemosiderin yüklü makrofajlardır. Hem glial hücrelerin hem de genç myofibroblastların üremeye başlamasıyla onarım dokusu gelişir. Genç myofibroblastlar zamanla kollajen üreten olgun fibrositlere dönüşür ve ortamda nedbe dokusu meydana gelir. Ayrıca sinir sisteminin onarımından sorumlu astrositik ağırlıklı gliozisde izlenir (123). Yaralanmaya cevap olarak astrositler hipertrofi ve proliferasyon gösterirler. Astrositlerde glial fibriller asidik protein ile boyanan ara filamanlar ile yaralanmamış omuriliğe göre daha büyük ve fazla proses görülür. Reaktif astrositler birinci haftada lezyon yanında birikmeye başlar. Astrositik cevap 14. günde en fazla iken, 28. güne kadar görülebilir (10).

Travmadan etkilenen nöron hücrelerinin aksonlarında kesi olduğunda aksonun distal kısmında inisi ve çıkıcı Wallerian dejenerasyon meydana gelir. Wallerian dejenerasyon, parçalanmış akson ve myelinin makrofajlar tarafından fagositleri edilerek ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Wallerian dejenerasyon, hasarın proksimalindeki motor traktuslarda ve distalde ise sensoryal traktuslarda daha belirgindir. Myelin parçalandıktan sonra bolca serbest lipit meydana gelir. Bu nedenle fagositoz yapmış makrofajlar vakuollü görünüme sahiptir. Wallerian dejenerasyon santral sinir sisteminde periferik sinir sistemine oranla çok daha yavaş seyreder (4, 6, 117, 124).

Santral hemorajik nekroz oluşmuşsa, onarım boru şeklinde kistik boşluk olarak gerçekleşir. Aksonal bağlantısı kesilmiş nöronda "santral kromatolizis" olarak adlandırılan sitoplazmanın belirgin homojenizasyona uğradığı ve şiştiği, çekirdeğin ise kenara itildiği değişiklikler görülür. Spinal kord travmanın başında şişmiş olarak izlenmektedir fakat onarım sonuna doğru incelmeye ve atrofik görünüm almıştır. Deneysel çalışmalarda rejenerasyonun üç yıla kadar yavaş hızla devam ettiği gösterilmiştir (117, 125).

2.5.3. Kronik Dönem

Kronik dönem; spinal kord travmalarında travmayı takip eden 3-9 ay arasında izlenen otopsi bulgularıyla ve deneysel çalışmalarla gösterilmiş değişikliklerdir (122).

Spinal kord hasarı olan bölgede spinal kord üzerindeki dura mater ve araknoidal membran kalınlaşmıştır (86). Mikroskopik olarak fibrozisin geliştiği ve meningial hücrelerin proliferere olduğu görülür. Adheziv araknoidit tabloya daima eşlik eder. Akut fazda hakim olan PMNL'ler kronik fazda yerlerini makrofajlara bırakırlar. Makrofajlarda oluşan debris fagosite eder. Spinal kord hasarının olduğu yerde küçük ve büyük kaviteler gelişir. Bu kaviteler birleşerek büyük ebatlara ulaşırlar ve santral kanalla ilişkili hale gelerek santral kavitasyonu oluştururlar. Bu oluşan santral kavitasyon rostrale ve kaudale uzayarak posttravmatik siringomyeli sendromuna yol açarlar. Kronik evrede nekroz sınırlarının keskinleşmesiyle infarkt alanı daha net seçilebilir ve daha kolay tanınır. Travma alanının uzağında lokalize olan nekrotik sahalar, travma bölgesiyle uyumlu olmayan nörolojik defisitlerin izahına yardımcı olurlar (122, 126, 127). Post-travmatik siringomyeli ve kistik myelomalazi gelişiminin etyolojisinde araknoidit önemli bir oynamaktadır. İntramedüller fibrozis veya skar gelişimi çok geniş bir sahada olabilir. Spinal kord içindeki, kollajen ile oluşan skar veya kordun dura ya da araknoide yapışıklığı, sıklıkla dura laserasyonunun bir sekolidir. İntramedüller skar oluşumu dura laserasyonunun olmadığı durumlarda genelde minimal düzeydedir. Aksonal dejenerasyonu içeren Wallerian dejenerasyon ve demyelinizasyon, dorsal kolon gibi afferent yolda ve spinotalamik trakt gibi lezyonun rostralinde görülebilir. Bu durum aynı zamanda, lateral kortikospinal trakt gibi efferent yolda ve lezyonun kaudalinde görülebilir. Kronik fazda spinal kord içindeki değişiklikler sadece spinal kord hasarı olan sahada atrofi olmayıp, lezyonun rostral ve kaudaline doğrudan uzanan bir atrofidir.

Kronik fazda ayrıca bir rejenerasyon değişikliği olur. Bu yöndeki en büyük değişiklik Schwann hücrelerinde, periferik aksonlarda ve periferik myelindedir. Dorsal ve ventral köklerde büyüme izlenir. Schwann hücre proliferasyonu bazen çok ileri boyutlarda olur ve intramedüller nöroma oluşur. Bu tür proliferasyon, hasarın bulunduğu bölgede sınırlı kalır ve sağlam sinir dokusu içine ilerlemez. Küçük damarlarda proliferasyon görülebilir (128).

Tablo 2.5. Spinal kord hasarlanmasında kronik fazdaki patolojik değişiklikler.

- Santral kavitasyon
- Aksonların subpial rimlerinin kalıcı olması
- Post-travmatik infarkt (hasarlı bölgede veya uzağında)
- Post-travmatik siringomyeli
- Kistik myelomalazi
- Demyelinizan ve diskomplet nekrotizan alanlar
- İnflamasyon- makrofaj
- Wallerian dejenerasyon
- Skar ve gliozis
- Araknoidit
- Atrofi
- Rejeneratif proses; aksonlarda, Schwann hücrelerinde, ependim hücrelerinde proliferasyon

2.6. Spinal Kord Yaralanmasında Modern Farmakoterapi Yaklaşımları

Spinal kord yaralanmalarında tedavinin amacı sekonder yaralanmayı azaltarak nöron kaybını ve buna bağlı gelişen nörolojik fonksiyon kaybını en aza indirmektir. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki; travma sonrası lezyon seviyesini geçerek, distalde fizyolojik bağlantılarını sürdüren %5-10 kortikal nöron, hastaya istemli hareketlerinin korunmasında önemli bir avantaj sağlamaktadır (129). Yapılan çalışmalar akut spinal kord yaralanmasının patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgiye sahip olmayı sağlamasına rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunamamış olması nedeniyle, özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir.

Spinal kord travması sonrasında oluşan nörojenik şok tablosu sonucu, sempatik tonus kaybına bağlı olarak, vasküler tonusta azalma ve kanın periferde göllenmesi ile birlikte hipotansiyon, bradikardi ve soğuk ekstremitelerden oluşan triad tablosu ile karşımıza ile çıkabilirler (130). Bu aşamada etkili tedavi, iskemik hasarın artmasına neden olabilecek sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyondan korunmaya yönelik

olmalıdır (87, 130). İnvaziv hemodinamik monitorizasyon ile vazopressör destek ve sıvı tedavisinin özenle uygulanması, tedavi sürecinin ilk basamağını oluşturmaktadır (87).

Spinal kord yaralanmasının fizyopatolojisinde ve farmakoterapisindeki son gelişmelere bağlı olarak deneysel spinal kord yaralanmalarında, nöroprotektif etkili çok sayıda madde denenmektedir. Bu ilaçlardan sadece metilprednizolonun, kontrollü, çok merkezli ve geniş klinik çalışmalarda, insanlarda fonksiyonel iyileşmeyi artırdığı gösterilmiştir (41).

2.6.1. Kortikosteroidler

Nöral doku yaralanmalarında üzerinde en çok çalışılan farmakolojik ajanlardan biri kortikosteroidlerdir. Kortikosteroidlerin doku şişmesini ve inflamasyonu azaltarak sekonder yaralanmayı azaltabileceği, ayrıca membran stabilize edici etkisi ile normal homeostazisi sağlayabileceği düşünülmüş ve bu amaçla neredeyse tüm kortikosteroid alt grupları spinal kord travmalarında geniş olarak çalışılmıştır. Deneysel spinal kord travmalarında, yüksek konsantrasyonlarda kullanılan MP'un sekonder hasarı azaltmaya yönelik olarak beklenenden daha fazla yarar sağladığı saptanmıştır (131, 132). MP'un bu etkilerini araştırmaya yönelik çalışmaların sonucunda, spinal kord hasarında kullanılan yüksek dozdaki steroidin klasik reseptör aracılı steroid etkisinden başka doğrudan antioksidan etki göstererek lipid peroksidasyona karşı dokuları koruduğu ortaya çıkmıştır (133).

İnsanlarda metilprednizolon'un ilk büyük klinik çalışması 1979'da başlamış, 1984'te NASCIS tarafından yapılmış ve yayınlanmıştır. Bu çalışmada akut spinal kord hasarlı hastalara MP 10 gün boyunca 100 mg bolus ve takiben 100 mg/gün MP bölünmüş 4 eşit dozda veya 1000 mg bolus, takiben 1000 mg/gün MP bölünmüş 4 eşit dozda verilmiştir. Nörolojik değerlendirmeler, travmadan sonra yapılmış, 6 hafta, 6 ay ve 1 yıl sonra, motor ve duysal iyileşme açısından yüksek ve düşük doz MP ile belirgin farklılık göstermemiştir (134, 135).

İkinci ulusal akut spinal kord yaralanması çalışması (NASCIS2), 1985 ve 1988 yılları arasında yapılmıştır. Sonuçları 1990 ve 1992 yıllarında yayınlanan bu çalışmada MP intravenöz olarak 30 mg/kg yükleme dozunda verilmiş ve takiben 23 saat boyunca 5,4 mg/kg/saat dozunda devamlı infüzyon şeklinde uygulanmıştır. Aynı çalışmada etkinliği araştırılan diğer farmakolojik ajan ise hayvan deneylerinde

başarılı sonuçlar veren Naloksan'dır. Naloksan 5,4 mg/kg yükleme dozunu takiben 4,5 mg/kg/saat olacak şekilde 23 saat boyunca intravenöz infüzyon şeklinde verilmiş, her iki farmakolojik ajan birbirlerine, kontrol ve plasebo gruplarına karşı istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ilk 8 saat içerisinde MP tedavisi başlanılan hastalarda ilk 6 aylık süre sonunda nörolojik olarak iyileşmenin daha iyi olduğu görülmüştür Naloksan veya geç MP uygulaması hiçbir olumlu etki göstermemiştir (136).

Üçüncü ulusal akut spinal kord yaralanması çalışması (NASCIS3), MP'un 24 saat veya 48 saatlik uygulamasının, 21- aminosteroid trilazad mesylate ile etkinliğinin karşılaştırması için planlanmıştır. Akut spinal kord yaralanması olup, yaralanmanın ilk 3 saatinde MP alan hastaların 24 saat süre ile idame tedavisi almaları gerekirken, travmadan sonraki 3 ile 8 saatte geçilmiş steroid tedavisi alan hastaların 48 saat idame tedavisi almaları gerektiği gösterilmiştir. Trilazad, MP'a göre daha güçlü bir lipid peroksidasyon önleyici olmasına ve minimal glukokortikoid aktivitesi olmasına rağmen, NASCIS3, bu 21 - aminosteroidin klinik kullanımı için mantıklı bir açıklama getirmemiştir (137).

Yüksek doz MP tedavisi alan hastalarda daha fazla yara yeri ve ameliyat bölgesi enfeksiyonu bulunmuştur. Yine yapılan klinik serilerde gastrointestinal kanama oranının arttığı bildirilmekle birlikte tüm bu yan etkilerin plasebo gruplarından farklı olmadığı da bildirilmiştir (137). Yüksek doz MP'un nörolojik iyileşmeyi artırdığı bildirilmesine rağmen, uzun süreli kullanımlarında makrofajların antijen sunumunu ve immün hücre aktivitesini azaltarak nöronal iyileşmeyi zayıflatabildiği de bildirilmiştir (115).

2.6.2. Kalsiyum Kanal Blokörleri

Hücre içinde kalsiyum birikimi, toksik nöronal hücre ölümünün son ortak yoludur. Kalsiyumun doğrudan nörotoksik etkisinden başka vasküler düz kas hücreleri üzerinde de kasılmaya yol açarak vazospazma neden olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu şekilde kalsiyum hem doğrudan hücreyi etkileyerek hücre ölümüne yol açmakta, hem de kan akımını bozup enerji metabolizmasını etkileyerek diğer hücrelerde sekonder yaralanmaya neden olmaktadır (87). Nimodipin gibi kalsiyum kanal blokörleri İntrasellüler kalsiyum seviyelerini düşürmek amacıyla kullanılmıştır. Bu konu ile ilgili olarak Tator ve ark. (116)

yaptığı çalışma sonucunda nimodipin'in spinal kord hasarında olumlu bir değişikliğe yol açmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada, travma sonrası intrasellüler ortamda kalsiyum seviyelerinin aşırı derecelerde yükselmesinin voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından çok, diğer mekanizmalarla olduğu ileri sürülmüştür.

2.6.3. Sodyum Kanal Blokörleri

Spinal kord hasarını takiben kısa süre içerisinde İntrasellüler ortamda sodyum birikimi olur. Lokal anestezipler, antiepileptikler ve antiaritmik ilaçlar kullanılarak yapılan in-vitro çalışmalarda sodyum kanal blokajının intrasellüler sodyum miktarlarını azaltarak nöron koruyucu etkide bulunduğu gösterilmiştir (138, 139). Spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlarda spinal kord yaralanmasını takiben lokal uygulanan güçlü bir sodyum kanal blokörü ve aynı zamanda son derece toksik bir madde olan Tetrodotoksin'in uzun dönemli hücre koruması sağladığı ve nörolojik iyileşmeye olumlu etkisi olduğu bulunmuştur (87, 140).

Sıçanlarda spinal kord hasarında sodyum kanallarının blokajı önemli ölçüde nöroproteksiyon sağlayabilir. Schwartz ve Fehlings (141) bir sodyum kanal blokörü olan Riluzol'un, klinik ve nöroanatomik iyileşmeyi önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir. Bu ve yapılan diğer çalışmalarda sodyum kanal blokörleri in vivo ve in vitro olarak kullanılmış, genel olarak hücre koruyucu etki saptanmış, bir kısım çalışmada ise ek olarak nörolojik iyileşme üzerinde de olumlu etkileri olduğu bulunmuştur. Akut spinal kord yaralanmasında sodyum kanal blokörlerinin bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilmesi için daha çok laboratuvar ve klinik çalışmaya gereksinim vardır.

2.6.4. Opioid Reseptör Antagonistleri

Akut spinal kord hasarını takiben endojen opioid seviyelerinde artış görülmesi ve bu durumun opioid reseptörlerini aktive ederek sekonder hasarlanmayı artırdığı saptandıktan sonra opioid antagonizması üzerine etkili olan farmakolojik ajanlar araştırılmaya başlanmıştır. Bunlardan nalokson nonspesifik bir opioid reseptör antagonistidir. Erken dönemlerde yapılmış olan deneysel çalışmalarda nalokson'un spinal kord travmalı sıçanların, spinal kord kan akımını artırarak nörolojik iyilik sağlamasına karşın NASCIS-2 çalışmasında plaseboya göre daha etkili olmadığı görülmüştür (136). NASCIS-2 çalışmasının daha ayrıntılı

incelemesinde tam olamayan spinal kord kesilerinde nalokson kullanımının plaseboya göre anlamlı derecede nörolojik düzelme sağladığı gösterilmiştir (142).

2.6.5. Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH) ve TRH Analogları

Tirotropin salıverici hormon (TRH)'un hipofiz üzerinden tiroid stimüle edici hormon (TSH) salgılamasından başka görevleri de vardır. TRH'un antagonize ettiği faktörler: endojen opiatlar, trombosit aktive edici faktör, lökotrienler ve eksitatör aminoasitler olduğu düşünülmektedir. Faden ve ark. (143) TRH spinal kord kan akımının artmasında ve nörolojik fonksiyonu düzeltmede etkili olduğunu gösteren çalışmaları vardır.

TRH'un çok kısa yarı ömrü olması nedeniyle daha stabil analogları geliştirilmiştir. TRH'un spinal kord yaralanmasındaki spesifik etkisi iyi bilinmemekte ise de spinal refleksleri potansiyelize ettiği ve kolinerjik nöronlar üzerinde trofik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle TRH, yaralanmanın gelişmesini önlemekten çok iyileşme fazında daha etkili olabileceği belirtilmiştir (28).

2.6.6. Gangliozidler

Gangliozidler; SSS hücrelerinin membranlarının dış yaprağında yüksek konsantrasyonda bulunan kompleks asidik glikopeptidlerdir (87). Monosialotetraheksosilgangliozid SSS'de nöronların aksonlarında, myelin kılıflarında ve beyaz cevher içerisindeki glial hücrelerde bulunur (144). Monosialotetraheksosilgangliozid'in deneysel çalışmalarda sinir rejenerasyonu ve nörit gelişimini hızlandırdığı, retrograt ve anterograt dejenerasyonu engellediği, eksitatör aminoasit salıverilmesini yavaşlattığı ve postiskemik nöronal hasardan sorumlu olduğu düşünülen protein kinaz-C salıverilmesini düzenlediği gösterilmiştir (145).

Birçok beyin hasarından sonra bu ajanların yaralanan dokunun sekonder yaralanmasını azaltarak fonksiyonel iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Bu faydalı sonuçlar çalışmaları spinal kord hasarını da içeren başka SSS yaralanma çeşitlerine kaydırmıştır. Majör motor defisiti olan (3/5 veya daha az) hastalarda, prospektif randomize plasebo kontrollü çift kör bir Maryland Monosialotetraheksosilgangliozid çalışmasında belirgin faydaları gösterilmiştir. İyileşme alt ekstremitelerle sınırlı

kalmıştır. Bu da yaralanma alanını geçen aksonların fonksiyonlarının düzeldiğini fakat yaralanma seviyesinde gri maddeye bir etkisinin olmadığını göstermiştir (30).

2.6.7. Antioksidanlar

Streoidlerle yapılan deneysel çalışmalarda asıl faydalı etkiyi steroidlerin antioksidan özelliklerinin sağladığının görülmesi üzerine diğer antioksidanlar üzerinde çalışılmaya başlanmıştır. Yüksek doz MP'un antioksidan etkilerinin önemi anlaşıldıktan sonra steroidin istenmeyen yan etkilerinden kurtulmak amacıyla geliştirilmiş trilazad mesilat, glukokortikoid reseptörlerini aktive etmeksizin antioksidan etki gösteren, sentetik olarak elde edilmiş bir steroid analogu antioksidandır. 21- aminosteroidlerden olan trilazad mesilat başlıca üç yolla etki etmektedir. Bunlar: vitamin E analogu gibi etki ederek lipid peroksit radikal yok edici etkisi, endojen vitamin E etkisini kolaylaştırıcı etkisi, membran stabilize edici etkisi. Deneysel olarak kedi spinal kord yaralanma modelinde kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır (87). Üzerinde geniş ve iyi düzenlenmiş laboratuvar çalışmaları yapılmış olan antioksidanlar siklosporin-A, EPC-K1 adı verilen vitamin E ve C'nin fosfat diester bileşiği ve melatoninidir (146, 147). Sıçanlarda oluşturulan ağırlık düşürme modelindeki spinal kord travmalarında sayılan son üç farmakolojik ajan kullanılmış ve lipid peroksidasyonunu azaltarak iyileşme başarısını artırmışlardır. Ayrıca melatoninin elektromikroskopik incelemelerde hücrelerde lipid peroksidasyonun yıkıcı etkilerini azalttığı gösterilmiştir (147). Fakat en büyük sorunlardan biri hangi farmakolojik ajan kullanılırsa kullanılsın, antioksidan etkisini ortaya çıkarmak için kullanılan dozlarda ilacın arzu edilmeyen diğer etkilerinin de olaya karışmasıdır. Trilazad mesilat antioksidanlar içerisinde laboratuvar deneylerinde başarı kazanmış olup, spinal kord yaralanmalı hastalar üzerinde klinik araştırmalarda kullanılmış olup, NASCIS 3 araştırmalarında araştırmanın bir bacağı olarak kullanılmıştır (137). Elde edilen sonuçlar NASCIS 3 protokolünde plasebo karşılaştırması olmadığından, doğrudan MP'un 24 saatlik kullanımının sonuçları ile karşılaştırılmış ve 1.yılın sonunda arada anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Fakat daha sonra NASCIS 3 çalışmasına ters sonuçlar elde edilen çalışmalar olduğundan ve trilazad mesilat'ın da plaseboya karşı yapılmış bir klinik çalışması olmadığından klinik araştırması eksik kalmıştır. Bu nedenle trilazad mesilat ile yapılmış, iyi planlanmış kanıt derecesi 1 olan bir çalışmaya gereksinim vardır (87).

2.6.8. NMDA ve AMPA-Kainat Reseptör Antagonistleri

Eksitator aminoasitler hücre içine kalsiyum iyonunun girişini başlatırlar. Kalsiyumun hücre içine girişi hücre ölümüne kadar giden bir reaksiyon zincirini başlatır. Dizocilpine ve Gacyclidine, NMDA reseptör antagonistleridir. Deneysel çalışmalar da bu reseptörlerin hücre içine kalsiyum girişini önleyerek nörolojik fonksiyonlarda belirgin düzelme yaptığı saptanmıştır. En önemli eksitator nörotransmitter glutamattır. Glutamat metabotropik ve iyonotropik reseptörler aracılığıyla etkisini gösterir. Bu reseptörler NMDA, AMPA ve kainat (KA) reseptörleridir. GYKI 52466 AMPA reseptör antagonisti olup deneysel çalışmalar da akut spinal kord yaralanmalarından sonra önemli terapötik nöroprotektif etkili olduğu bildirilmiştir (30, 148, 149).

Yeni NMDA reseptör blokörü olan Dexanabinol'un faz 1 klinik çalışmalarda iyi tolere edildiği ortaya konulmuş, spinal kord hasarlı hastalar üzerinde faz 2 çalışmaları yapılmaktadır (75). Dekstrometorfan da deneysel spinal kord hasarında benzer etkileri göstermiştir (30). NMDA reseptör antagonisti Gacyclidine'in faz III çalışmaları hala devam etmektedir (30).

2.6.9. Caspase ve Kalpain İnhibitörleri

Spinal kord hasarını takiben doku hasarı ve nörolojik fonksiyon bozukluğuna nekrotik ve apoptotik hücre ölümüne katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Akut SSS yaralanmasını takiben caspase'ların apoptozun önemli mediyatörleri olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışma da caspase 1 ve caspase 3' ün her ikisinin spinal kord hasarının hücre ölümünde yer aldığı ve caspase inhibisyonun doku hasarını azaltarak spinal kord hasarını takiben iyileşmede etkili olduğu bulunmuştur (150). Travmatize spinal kordlu deneklerde caspase aktivitesi 17 kat artırılarak normal travmatize edilmiş sıçanlarla karşılaştırılmış ayrıca spinal kord hasarında caspase 1 ve caspase 3 aktivasyonu geniş bir caspase inhibitörü olan N-benzyloxycarbonyl- Val-Ala-Asp-fluoromethylketone ile inhibe edilerek western blot yöntemi ile çalışılmış. Tedavi edilen sıçanlarda belirgin motor fonksiyon düzelmesi ve lezyonun küçüldüğü gösterilmiş. Caspase 1 ve 3' ün spinal kord hasarını takiben nöronlarda aktive olduğu ve caspase inhibisyonunun posttravmatik lezyon boyutunu küçülttüğü ve motor performansı artırdığı ilk defa gösterilmiştir (150).

Son zamanlarda ilginin giderek arttığı bir başka enzim grubu da Kalpain'dir. Kalpainler onarılamayacak derecede hasar görmüş hücrelerin hücre iskeletinin parçalanmasından sorumludur. Ayrıca kalpainlerin hücre iskeletinin şekillendirilmesinde ve subletal aksonal membran hasarlanmalarında onarımı kolaylaştırma gibi ek görevleri de vardır. Kalpainler, nekroz ve apoptoz gibi hücre ölümü ile sonuçlanan olaylarda caspase'lerle da ortak görevler yüklenebilirler. Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda sıçan spinal kord travma modellerinde kalpain inhibitörlerinin apoptozu yavaşlattığı veya durdurduğu, DNA fragmentasyon analizleri ile gösterilmiştir (129, 151).

2.6.10. Araşidonik Asit Metabolizmasının Modülasyonu

Spinal kord hasarından sonra arşidonik asidin tromboksanlar, lökotrienler ve prostaglandinlere dönüşmesiyle kan akımında azalmaya ve trombosit agregasyonuna neden olduğu, bu durumun iskemiye yol açtığı bilinmektedir. Prostaglandinler ve indometazin gibi siklooksijenaz inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda bunların trombosit agregasyonunu engellediği ve vazodilatör etki ile mikrosirkülasyonu düzelttiği görülmüştür (87). Deneysel hayvan çalışmalarında spinal kord hasarını takiben siklooksijenaz-2 mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir ve bu durumun selektif siklooksijenaz-2 inhibitörleri ile geri döndürülerek nöron koruyucu ve klinik iyileşmeyi artırıcı etkiler elde edilmesi, arşidonik asit metabolizmasının düzenlenmesini sağlayan farmakolojik ajanlara olan ilgiyi artırmıştır (152).

Hallenbeck ve ark. yaptığı bir çalışma da prostaglandin I₂'nin bulunduğu kombine tedavinin travma sonrası nörolojik fonksiyonlarda plaseboya göre anlamlı iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Siklooksijenaz inhibitörleri, tromboksan sentetaz inhibitörleri ve prostaglandin I₂ ile yapılan kombine tedavinin sıçan spinal kord yaralanmasında nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir (29, 87).

2.6.11. İnflamatuar / İmmün Cevapların Baskılanması

Vücutta herhangi bir doku yaralanması polimorfonükleer lökositleri ve makrofajları içeren inflammatuar reaksiyonu başlatmaktadır. İnflamatuar reaksiyon, doku iyileşmesini sağlamaktadır. SSS, kendine ait immünsupressif mekanizmalar aracılığı ile kendisini immün hücrelerin potansiyel zararlı etkilerinden korumaktadır.

MP ve Platelet aktive edici faktör antagonistleri de inflamatuvar cevabı kısmen azaltarak ya da tamamen inhibe ederek etki göstermektedirler. Klorakin ve kolşisin kullanımının, spinal kordda iskemi sonrası inflamatuvar değişiklikleri ve doku hasarını azalttığı deneysel hayvan çalışmalarında bildirilmiştir (153).

2.7. Resveratrol

Polifenoller; flavonoidler, antosiyaninler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenleri kapsayan bir antioksidan ailesidir. Resveratrol (3,4',5 trihydroxystilbene) stilbenlerin alt grubu olup üzüm, şarap, yer fıstığı ve yaban mersininde bulunan polifenolik bir bileşiktir (154). Resveratrol cis ve trans izomer şekillerde bulunur. Ayrıca cis ve trans şeklinde glikozid olarak trans ve cis-piceid şeklinde glukoz molekülüne bağlanarak da oluşur. Resveratrol yağ, dimetil sülfoksit (DMSO) ve alkolde çözünen bileşiktir (155).

Resveratrol bitkilerde fenil alaninden birkaç basamakta sentezlenir. Fenilalaninden fenilalanin amonyaliyaz enzimi ile deaminasyonla cinnamic asit oluşur. Bu bileşik cinnamate 4-hidroksilaz ile 4-coumaric asite dönüşür. 4 - coumarat ile Co-A esteri oluşur. Bu ester CoA ligaz'dır. 4-coumaryl Co-A ile 3 malonyl Co-A stilben sentaz enzimi ile resveratrole dönüşür (Şekil 2. 2) (156).

Fransa'da kırmızı şarap tüketimi ile kardiyovasküler hastalık sıklığı arasında ters orantı saptanmıştır bu tabloya "Fransız Paradoksu" adı verilmiştir. Bu konu ile ilgili yapılan araştırmalar bu paradoksa kırmızı şarap içinde bolca bulunan resveratrolün neden olduğu bulunmuş (157).

Resveratrol; bakır şelasyonu ve serbest oksijen radikalleri fagositozuyla LDL oksidasyonunu azaltır, trombosit agregasyonunu inhibe eder ve trombüs oluşumunu ve ateroskleroza önler, bu nedenle kardiyovasküler hastalıkları önleyici ve tedavi edici bir ajandır (158, 159). Resveratrol; araşidonik asit metabolizmasını etkileyerek antiinflamatuvar ve antianflaktik etki oluşturur, antibakteriyel, antikanser ve antimutasyon etkiler sergiler ve protein kinaz aktivitelerini inhibe eder, bu da resveratrol'ün inflamatuvar ve travmatik reaksiyonların fizyopatolojik süreçlerini etkileyebileceği gösterilmiştir (160, 161).

Resveratrol'ün antioksidan etkisi üç farklı mekanizma ile açıklanmaktadır;

1- Koenzim Q ile yarışarak ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltarak.

2- Mitokondride oluşan süperoksit radikalini yakalayarak.

3- Fenton reaksiyonu ürünleri ile indüklenen lipid peroksidasyonunu inhibe ederek (162).

Resveratrol araşidonik asit metabolizmasını etkileyerek antiinflamatuvar etki gösterir. Ayrıca resveratrol ile yapılan deneysel çalışmalarda resveratrol verilen gruplarda proadezif moleküllerde reperfüzyon esnasında önemli bir azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda NO blokörü olan N-nitro-L-arjinin metil esterinin, resveratrol'un yararlı etkilerini tamamen giderdiği gözlenmiştir. Bu sonuçlar resveratrolün antiinflamatuvar etkisini NO'e bağlı mekanizma aracılığı ile gerçekleştirdiğini desteklemektedir (163).

Sun ve ark. (164) doku hasarı ve hücre ölümünün hücre canlılığı kaybı ve LDH aktivitesi artışıyla birlikte bir serbest radikal aracılı olay olduğunu ve Resveratrol'un LDH artışı ve lipid peroksidasyonu üzerine koruyucu bir etkisi olduğunu göstermiştir.

Hung ve ark. (165) bir resveratrol analogu olan astringinin'in karotid kanda NO arttırmak ve laktat dehidrogenaz düzeyini düşürmek yoluyla myokardiyal iskemi ve infarktı önlediğini göstermiştir.

Sun ve ark. (166) Resveratrol'un kronik etanol uygulamasına bağlı nöronal hasardan beyni koruduğunu bildirmiş ve resveratrol'un nörodejeneratif olayları azaltmada kullanılabileceğini öne sürmüştür. Ayrıca in vitro deneylerde de resveratrol'un DNA'yı oksidatif hasardan koruyarak hücre proliferasyonu, farklılaşması ve fonksiyonunun normal olmasını sağladığı bildirilmiştir (167).

Mizutani ve ark. (168) resveratrol'un oksidatif strese bağlı DNA hasarını azalttıklarını gösterdiler.

Ray ve ark. (169) Resveratrol'un peroksil radikal temizleyici aktivitesi ve malonildialdehit içeriğini azaltmak için lipid peroksidasyonunu azaltarak kardiyoprotektif etkiler sergilediğini görmüşler.

2.8. Quercetin

Quercetin (3, 30, 40, 5, 7- pentahidroksiflavon) fitoöstrojenler olarak bilinen bir bitki kökenli nonsteroidal bileşikler grubuna ait bir flavonoiddir (170). Quercetin bitkilerde fenilalaninden birkaç basamakta sentezlenir (Şekil 2. 2). Quercetin birçok meyvede, sebzelerde, yeşil çayda ve kırmızı şarapta bulunur. Günde ortalama 30

mg/gün quercetin tüketilir. Diyet ile alınan quercetin'in yalnız %30-50'si absorbe olur, geri kalanı gastrointestinal sistemden direkt olarak atılır. Quercetin'in günlük önerilen dozu 400-1200 mg/gün'dür. Quercetin'in antihistaminik, antitümöral, antiinflamatuvar, antiviral, immünmodülatör ve antioksidan özellikleri vardır (171). Çeşitli çalışmalar da serbest radikal temizleyici ve metal şelate edici özelliklerine bağlı olarak sağlığı olumlu yönde etkilediğinden bahsedilmiştir (172- 174).

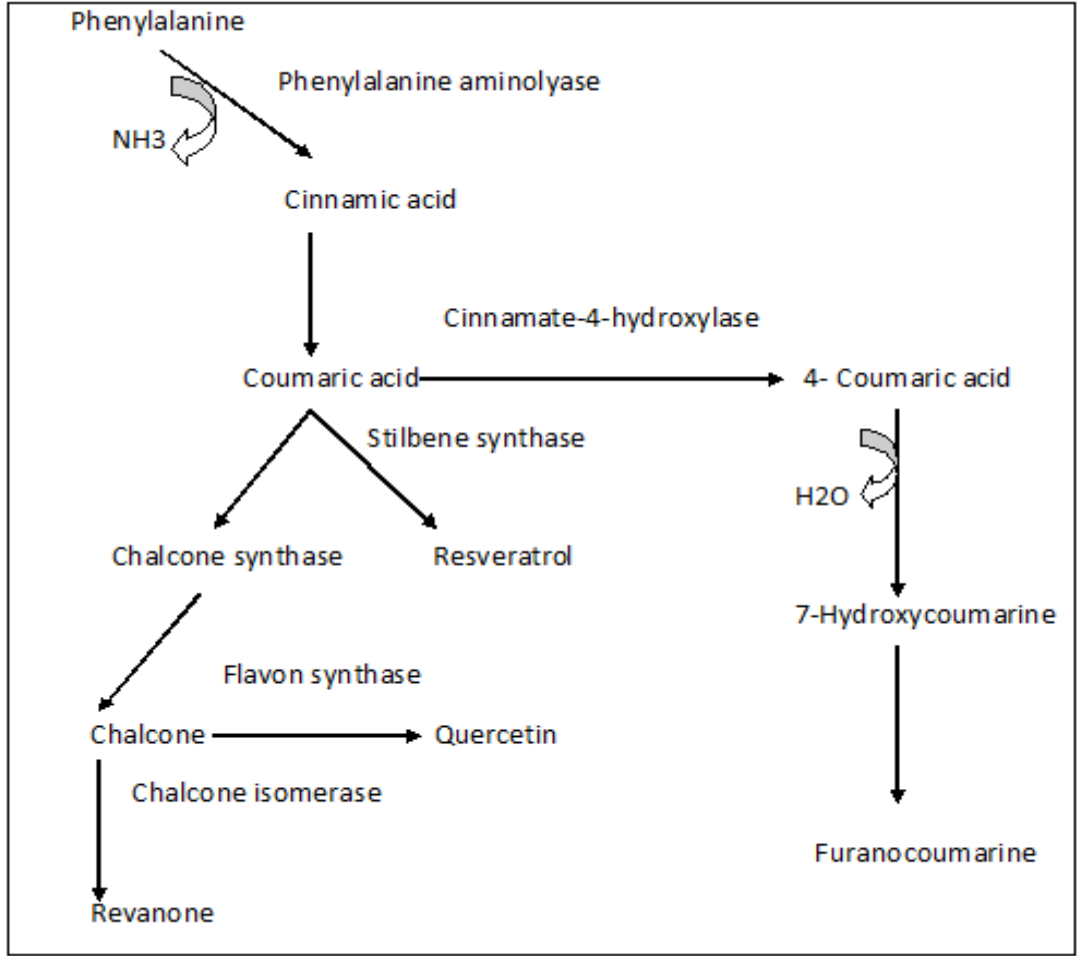
Bu bileşiklerin antioksidan özellik göstermelerinin nedeni, serbest radikalleri toplayıcı özellik göstermeleridir. Bileşikler bu etkiyi gösterirken, serbest radikallere hidrojen vererek radikaller ve diradikaller oluşur. Bu radikaller vücudumuzda bulunan eser metallere şelat halka oluşturarak hidrojenlerin kolay ayrılmasını sağlarlar. Ayrılan hidrojenler, serbest radikallere bağlanarak onları yok edici özellik gösterirler (175). Ayrıca quercetin ksantin oksidazı ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder (176). Antioksidan etkisinin diğer göstergeleri, quercetin LDL kolesterolün oksidasyonunu inhibe eder, muhtemelen LDL oksidasyonunu kendisi engeller, E vitaminini LDL'de oksitlenmekten koruyarak veya okside E vitamininin rejenerasyonu olur (177).

Quercetin'in antiinflamatuvar etkisi kendi antioksidan etkisinden dolayı ve lipooksijenaz, siklooksijenaz enzimlerini inhibe ederek daha sonra oluşan lökotrienleri ve prostaglandinleride içeren inflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek gösterir(178,179).

Schültke ve ark. (180) yaptığı çalışmada spinal kord hasarı oluşturulan hayvan modelinde quercetin'in motor fonksiyonlardaki iyileşmenin tedavi süreciyle olan korelasyonu incelenmiştir. Quercetin'in hasar oluşan alandaki doku bağlantılarını koruduğu tedavinin başarısının uygulama sıklığına ve tedavi dozuna bağlı gösterilmiştir. Başka bir çalışma da spinal kord hasarı sonrası quercetin'in lipid peroksidasyonunu azalttığı fakat fonksiyonel iyileşmeyi düzeltmediği saptanmıştır (181).

Epidemiyolojik çalışmalarda quercetin'in nöronal korunmada yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (182).

Quercetin'in antioksidan etkisi ve serbest radikalleri ortadan kaldırması beyindeki nöroprotektif etkisinde önemli bir faydasıdır, nöroprotektif etkisi yaşa bağlı demans ve Alzheimer hastalığını da kapsar (183- 185).



Şekil 2. 2. Resveratrol ve Quercetin'in biyokimyasal sentezi.

2.9. Dimetilsülfoksit (DMSO)

Dimetilsülfoksit; suda çözünmeyen bileşikler için sıklıkla kullanılan bir çözücüdür. Bunun yanı sıra interstisyel sistit, amiloidoz ve romatizmal hastalıklarda terapötik bir ajan olarak da kullanılmaktadır. Dimetilsülfoksit'in memeli hücrelerinde hücre siklusu, farklılaşması, apoptozisi, inflamasyon ve lipid metabolizması gibi bazı hücrel olayları etkilediği bildirilmiştir (186).

Dimetilsülfoksit'in SSS travmalarında ve klinik tedavide birkaç biyolojik etkisi vardır; örneğin serbest radikalleri temizler, güçlü diüretiktir, kalsiyum iyonlarına karşı antagonistik etki gösterir, platelet deagregatörüdür ve hücre membranını stabilize eder (187). Dimetilsülfoksit iskemik ve hipoksik SSS dokusuna oksijen taşınmasını kolaylaştırır (188, 189).

Dimetilsülfoksit deneysel spinal kord hasarında kullanılmış ama geniş insan popülasyonlarında çalışılmamıştır (190). Deneysel hayvan çalışmalarında ki sonuçlar göstermiştir ki şiddetli spinal kord hasarından sonra 2 saat içinde intravenöz DMSO verilirse paralizi belki önlenebilir (191, 192). Diğer çalışmalarda spinal kord travması sonrasında DMSO'nun aksonları ve myelin kılıflarını korurken inflamasyonu azalttığı doku kavitasyonunu azalttığı ve spinal kord kan akımını arttırdığı gösterilmiştir (193- 196).

Chiueh CC. ve ark. (197) yaptığı çalışmada kafa travmasında DMSO ile serbest radikal oluşumunun baskılandığı gösterilmiştir.

Zileli ve ark. (198) yaptığı çalışma da deneysel spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlarda metilprednizolon, DMSO ve nalokson'un etkileri araştırılmış. Dimetilsülfoksit'in spinal kord hasarını azalttığı klinik ve somatosensoryel uyarılmış potansiyel yoluyla gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezinde (TICAM) yapılmıştır. Bu çalışmada, 42 adet erişkin, yaklaşık 250-300 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 19.8.2009 tarih ve 130 karar numarasıyla onay alındıktan sonra yapılmıştır.

Araştırma yeterli hava sirkülasyonu ve çevre ısısının sağlandığı odalarda yapıldı. Hasar yapıldıktan sonra tüm deneklere ayrı ve kolay beslenmelerini sağlayan kafeslerde bakım uygulandı.

Deneklerin uyutulması işleminde, intramuskuler 10 mg/kg Ksilazin (Rompun, Bayer İlaç San, İstanbul) ile sedasyon yapıp, intramuskuler 50 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç San, İstanbul) verilip genel anestezi sağlandı. Rahat bir cerrahi girişim sağlamak amaçlı özel deney tespit tahtalarında uygun pozisyon verilerek cerrahi işlemler yapıldı.

Bu deneysel çalışma 6 grupta toplam 42 sıçan üzerinde, cerrahi kesi sıçanın sırt kısmında, tıraş yapıldıktan sonra, aseptik şartlar sağlanarak yapıldı.

Çalışmada Rivlin ve Tator'un klip kompresyon modeli uygulandı. Sıçanın en çıkıntılı olarak göze çarpan torakal 2'nin (T2) spinöz çıkıntısı cerrahi işaret noktası olarak kabul edildi T3-T6 seviyesinde traş yapıldı, lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandı. Bu seviye de orta hat cilt insizyonu ile cilt, cilt- altı geçildi. Fasya açılarak, paravertebral adaleler subperiostal sıyrıldı. T4- T5 laminektomi yapıldı (Şekil 3. 1). Spinal kord açığa çıkarıldı ve ekstradural kapanma basıncı 50 gram olan anevrizma klibi (Yaşargil, FE 619K, Aesculap AG, Almanya) yerleştirilerek spinal kord travması oluşturuldu (Şekil 3. 2, Şekil 3. 3). Travma yapılan grupta klip bir dakika tutuldu ve klip tutucusu ile hemen kaldırıldı. Travma uygulanan tüm sıçanlar travmadan sonra paraplejik oldu.

1. Grup (Kontrol); 7 sıçan alındı. T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Travma ve medikal tedavi uygulanmadı, TAOK (Total antioksidan kapasite) ve PON değerleri tayini ayrıca histopatolojik değerlendirme için 2 gün sonra kan ve spinal kord doku örnekleri alındı.

2. Grup (Travma); 7 sıçana T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klibi ile 1 dakika süreli kompresyon uygulandı. Laminektomi ve spinal kord travmasının TAOK ve PON değerine, histopatolojik değişikliklere etkisini araştırmak amaçlı 2 gün sonra kan ve spinal kord doku örnekleri alındı.

3. Grup (Travma+ Çözücü); 7 sıçana T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klibi ile 1 dakika süreli kompresyon uygulandı. Spinal kord travmasından 1 saat sonra 0,3 ml DMSO intraperitoneal (İ.P) verildi. DMSO'nun laminektomi ve spinal kord travmasının TAOK ve PON değerine ve histopatolojik değişikliklere etkisini araştırmak amaçlı 2 gün sonra kan ve spinal kord doku örnekleri alındı.

4. Grup (Travma+ Resveratrol); 7 sıçana T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klibi ile 1 dakika süreli kompresyon uygulandı. Spinal kord travmasından 1 saat sonra DMSO içinde çözünülen 100 mg/ kg Resveratrol (Sigma Chemicals, St Louis, MO, USA) i.p verildi. Resveratrol'ün laminektomi ve spinal kord travmasının TAOK ve PON değerine, histopatolojik değişikliklere etkisini araştırmak amaçlı 2 gün sonra kan ve spinal kord doku örnekleri alındı.

5. Grup (Travma+ Quercetin); 7 sıçana T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klibi ile 1 dakika süreli kompresyon uygulandı. Spinal kord travmasından 1 saat sonra DMSO içinde çözünülen 200 mg/ kg Quercetin (Sigma Chemicals, St Louis, MO, USA) i.p verildi. Quercetin'in laminektomi ve spinal kord travmasının TAOK ve PON değerine ve histopatolojik değişikliklere etkisini araştırmak amaçlı 2 gün sonra kan ve spinal kord doku örnekleri alındı.

6. Grup (Travma+ Kombine); 7 sıçana T4 ve T5 laminektomi yapıldı. Yaşargil anevrizma klibi ile 1 dakika süreli kompresyon uygulandı. Spinal kord travmasından 1 saat sonra DMSO içinde 200 mg/ kg Quercetin ve 100 mg/ kg Resveratrol i.p olarak verildi. Kombine tedavinin laminektomi ve spinal kord travmasının TAOK ve PON değerine ve histopatolojik değişikliklere etkisini araştırmak amaçlı 2 gün sonra kan ve spinal kord doku örnekleri alındı.

3.1. Biyokimyasal Parametreler İçin Örneklerin Hazırlanması

Total antioksidan düzeyi ve paraoksonaz aktivitesini belirlemek üzere, genel anestezi altında hayvanlardan deneyin 2. günü sıçanın genel anestezi altında toraksı açılarak direkt kalbine 5 ml. enjektör ile girilerek yaklaşık 3 ml. kan alındı. Kanlar

heparinli tüpe alındı. Heparinli tüpler 10 dakika 1000 rpm'de santrifüj edilerek bekletilmeden üstte bulunan plazma kısmı ölçümlerde kullanılmak üzere alındı ve -80°C'de biyokimyasal ölçümler için saklandı. Deneyin 2. günü sıçanların kanı alındıktan sonra sıçanın spinal kordu, gözlenen hemorajik kontüzyon çizgisinin yaklaşık 0,5 cm distalinden kesildi. Distal kısmın en proksimal 1 cm'lik bölümü çıkarılarak sıvı nitrojende dondurulan dokular, eşit büyüklükte kesilerek içerisinde 1 ml 1xfosfat tampon çözeltisi bulunan tüplere alınarak ultrasonik parçalayıcıda homojenize edildi. Hazırlanan homojenat 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan süpernatant kısmı ölçümlerde kullanıldı. Dokular sıvı nitrojende dondurularak çalışılincaya kadar -80°C saklandı.

Onbeş günlük çalışma sonunda biriktirilen plazma ve doku homojenatları oda ısısında eritilmiş, total antioksidan düzeyi kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, TÜRKİYE) ve paraoksonaz aktivite kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, TÜRKİYE) ile mikroeliza yöntemi ile çalışılmıştır.

3.2. Histopatolojik İncelemeler İçin Örneklerin Hazırlanması

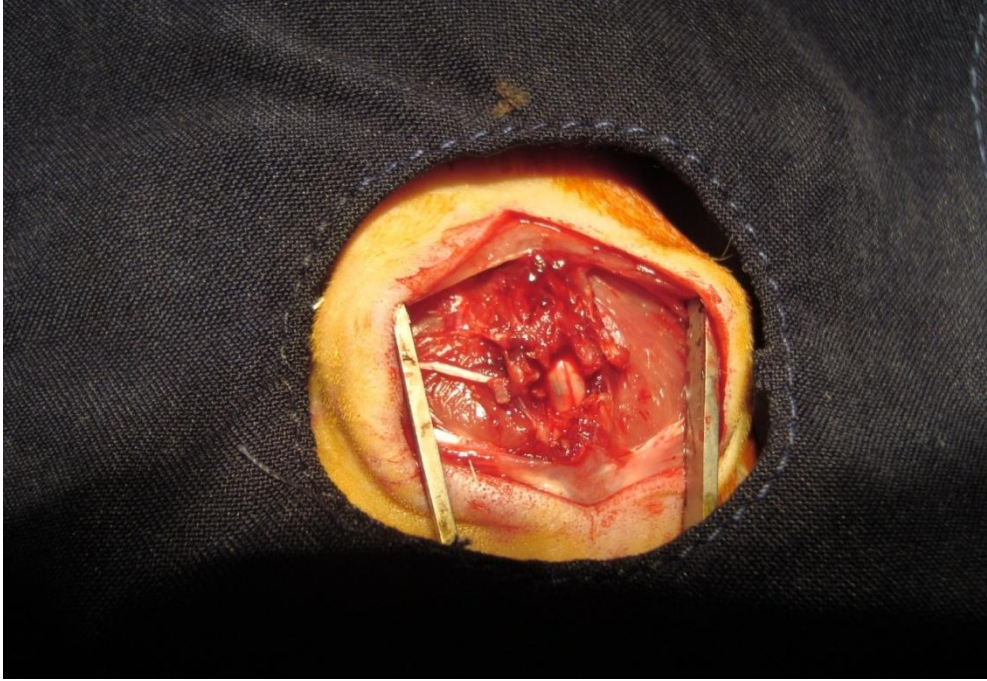
Işık mikroskopi değerlendirilmesi için kontrol ve deney gruplarına ait gri ve beyaz cevheri içerecek şekilde spinal korddan travma bölgesini içine alacak şekilde yaklaşık 15mm uzunluğunda örneklerin elde edilmesinden sonra klibin uygulandığı kısım medial, klibin uygulandığı kısma 4 mm uzaklıktaki uçlar proksimal ve distal olarak işaretlendi. Belirlenen 3 bölgeden alınan dokular, 3 ayrı kasette histolojik takibe alındı. Doku örnekleri nötral formoldeki fiksasyonunun ardından, dehidratasyon işleminden geçirildikten sonra, parafin bloklara gömüldü. Mikrotomda 4 µm kalınlığında seri kesitleri alınıp, Hematoksilin ve Eosin ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Spinal kord hasarı histopatolojik olarak sırasıyla; negatif (0), hafif (1), orta (2), şiddetli (3) ve çok şiddetli (4) olarak derecelendirildi. Histopatolojik derecelendirme yapılırken dokular; hemoraji, ödem, nekroz, aksonal şişme, kromatolizis, PMNL infiltrasyonu, mikroglia/makrofaj/mononükleer lökosit (MNL) infiltrasyonu açısından değerlendirildi.

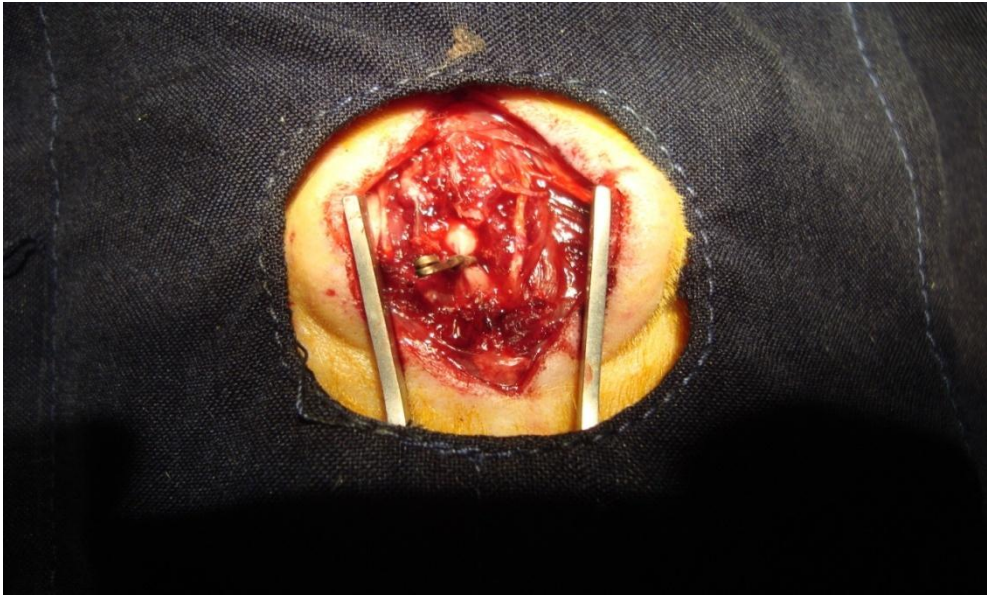
3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm veri analizleri SPSS 15.0 paket programı ile yapılmıştır. Sürekli nicel

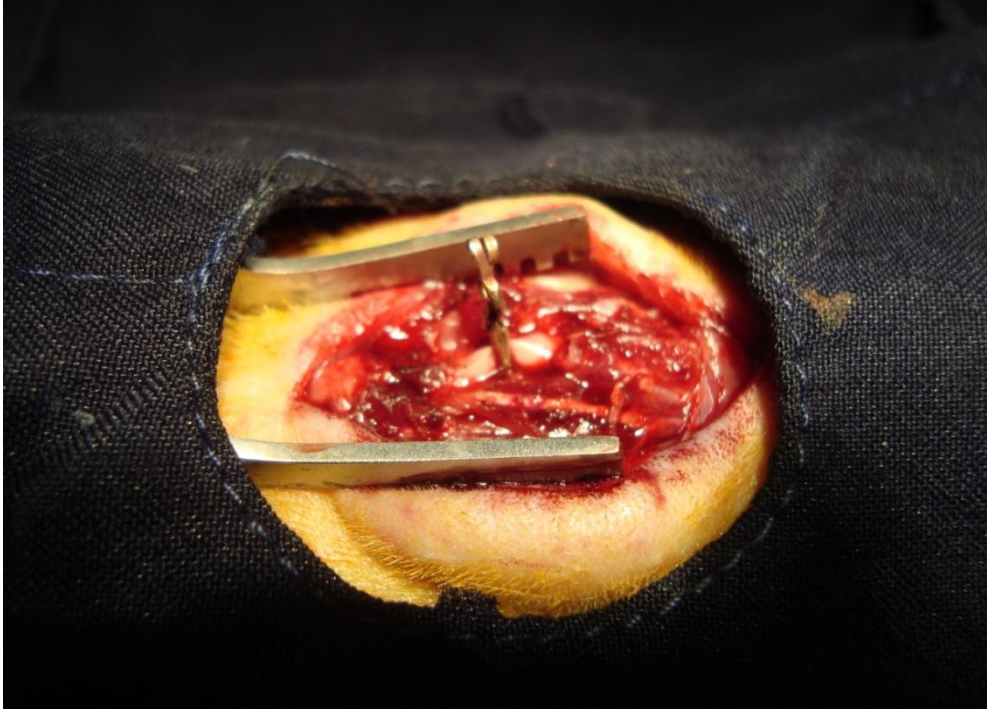
veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n ve oran olarak ifade edilmiştir. Bağımsız gruplardan oluşup normal dağılım gösteren sürekli veri grupları, One-Way ANOVA ile analiz edilmiştir. $P < 0.05$ olasılık değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.



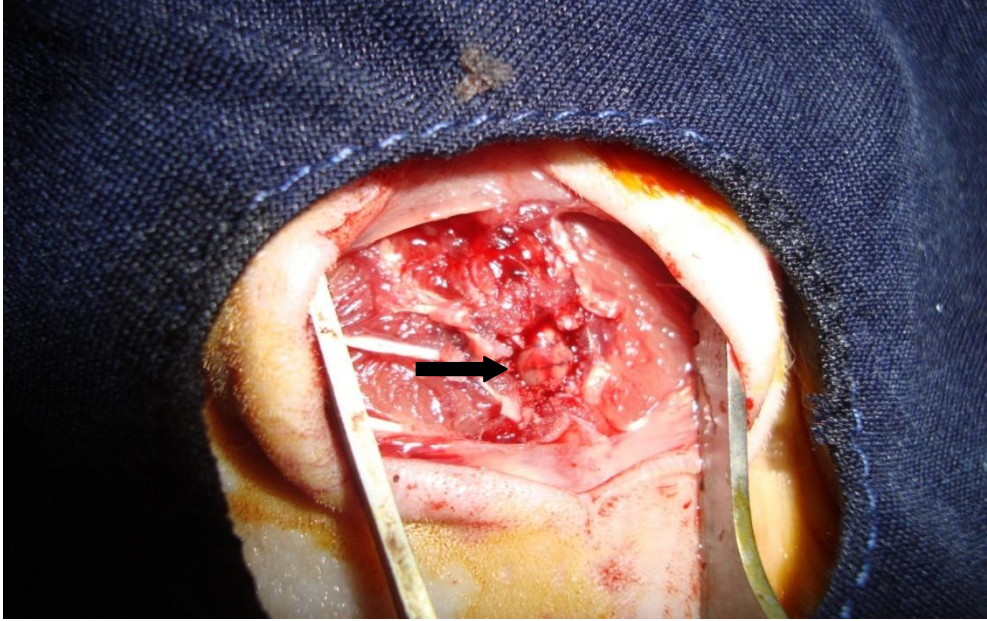
Şekil 3.1. Laminektomi sonrası spinal kord görünümü.



Şekil 3.2. Spinal korda klip uygulanması.



Şekil 3.3. Spinal korda klip uygulanmasının yandan görünümü.



Şekil 3.4. Klip uygulandıktan sonraki hemorajik kontüzyonun görünümü (siyah ok).

4. BULGULAR

4.1. Histopatolojik Bulgular

Çalışmada histopatolojik bulgular distal, proksimal ve medial uçta olmak üzere; ak ve gri maddede hemoraji, ödem, nekroz, mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu, ak maddede, gri maddede, damar duvarında ve subaraknoid aralıkta PMNL infiltrasyonu, ak maddede aksonal şişme ve gri maddede motor nöronlarda kromatolizis açısından değerlendirildi.

- 1- Kontrol grubu: Kontrol grubuna ait bulgulardaki histolojik görünüm normaldi (Şekil 4.1).
- 2- Travma grubu: Hemoraji; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak maddede orta (2) derecede, gri maddede hafif (1) derecede gözlenen hemoraji, medial uçta ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede gözlendi. Hemoraji; travma grubunda genel olarak ak ve gri maddede orta (2) derecede idi. Ödem; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak maddede orta (2) derecede, gri maddede hafif (1) derecede gözlenen ödem, medial uçta ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede gözlendi. Ödem; travma grubunda genel olarak ak ve gri maddede orta (2) derecede idi. Nekroz; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede, proksimal uçta ak ve gri maddede orta (2) derecede gözlenen nekroz, medial uçta ak maddede çok şiddetli (4), gri maddede şiddetli (3) derecede gözlendi. Nekroz; travma grubunda genel olarak ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede idi (Şekil 4.2). Aksonal şişme; distal ve medial uçta şiddetli (3), proksimal uçta orta (2) derecede gözlendi. Aksonal şişme; travma grubunda genel olarak şiddetli (3) derecede idi (Şekil 4.3). Kromatolizis; distal uçta hafif (1), proksimal uçta orta (2), medial uçta ise şiddetli (3) derecede gözlendi. Kromatolizis; travma grubunda genel olarak orta (2) derecede idi. PMNL infiltrasyonu; ak madde, gri madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ayrı ayrı incelendi. Ak maddede yapılan incelemelerde; distal ve proksimal uçta hafif (1) derecede gözlenen PMNL infiltrasyonu, medial uçta şiddetli (3) derecede idi. Gri maddede distal uçta PMNL infiltrasyonu gözlenmezken, proksimal ve medial uçta hafif (1) derecede infiltrasyon vardı. Damar duvarında yapılan incelemelerde; distal ve proksimal uçlarda hafif (1) derecede, medial uçta

ise şiddetli (3) derecede infiltrasyona rastlandı. Subaraknoid aralıkta distal ve proksimal uçta hafif (1), medial uçta ise ęok şiddetli (4) derecede PMNL infiltrasyonu izlendi. PMNL infiltrasyonu; travma grubunda genel olarak gri maddede hafif (1), ak madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta orta (2) derecede idi (Şekil 4.4). Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Travma grubunda ak ve gri maddede mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonuna rastlanmadı.

- 3- Travma+ęözücü grubu: Hemoraji; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede gözlenen hemoraji, proksimal uçta ak ve gri maddede hafif (1) derecede idi. Medial uçta ise ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede gözlendi. Hemoraji; travma+ęözücü grubunda genel olarak ak ve gri maddede orta (2) derecede idi. Ödem; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak maddede orta (2) derecede, gri maddede hafif (1) derecede gözlenen ödem, medial uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede gözlendi. Ödem; travma+ęözücü grubunda genel olarak ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede idi. Nekroz; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak ve gri maddede orta (2) derecede gözlenen nekroz, medial uçta ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede gözlendi. Nekroz; travma+ęözücü grubunda genel olarak ak ve gri maddede orta (2) derecede idi (Şekil 4.5). Aksonal şişme; distal ve medial uçta şiddetli (3), proksimal uçta hafif (1) derecede gözlendi. Aksonal şişme; travma+ęözücü grubunda genel olarak orta (2) derecede idi. Kromatolizis; distal uçta orta (2), proksimal uçta hafif (1), medial uçta ise şiddetli (3) derecede gözlendi. Kromatolizis; travma+ęözücü grubunda genel olarak orta (2) derecede idi. PMNL infiltrasyonu; ak madde, gri madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ayrı ayrı incelendi. Ak ve gri maddede yapılan incelemelerde; distal, proksimal ve medial uçta PMNL infiltrasyonu gözlenmedi. Damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ise; sadece medial uçta orta (2) derecede infiltrasyona rastlandı. PMNL infiltrasyonu; travma+ęözücü grubunda genel olarak ak ve gri maddede negatif (0), damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ise hafif (1) derecede idi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Travma+ęözücü grubunda ak maddede distal, proksimal ve medial uçta orta (2)

derecede infiltrasyon vardı. Gri maddede ise; distal ve medial uçta orta (2), proksimal uçta hafif (1) derecede infiltrasyon izlendi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu travma+çözücü grubunda genel olarak orta (2) derecede idi (Şekil 4.6).

- 4- Travma+resveratrol grubu: Hemoraji; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak maddede hafif (1), gri maddede negatif (0) derecede gözlenen hemoraji, proksimal uçta ak ve gri maddede hafif (1) derecede idi. Medial uçta ise ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede gözlendi. Hemoraji; travma+resveratrol grubunda genel olarak ak ve gri maddede hafif (1) derecede idi. Ödem; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede gözlenen ödem, proksimal ve medial uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede gözlendi. Ödem; travma+resveratrol grubunda genel olarak ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede idi (Şekil 4.7). Nekroz; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak ve gri maddede orta (2) derecede gözlenen nekroz, proksimal uçta ak maddede orta (2), gri maddede şiddetli (3) derecede, medial uçta ise ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede gözlendi. Nekroz; travma+resveratrol grubunda genel olarak ak maddede orta (2), gri maddede şiddetli (3) derecede idi. Aksonal şişme; distal, proksimal ve medial uçta şiddetli (3) derecede gözlendi. Aksonal şişme; travma+resveratrol grubunda genel olarak şiddetli (3) derecede idi (Şekil 4.8). Kromatolizis; distal, proksimal ve medial uçta şiddetli (3) derecede gözlendi. Kromatolizis; travma+resveratrol grubunda genel olarak şiddetli (3) derecede idi. PMNL infiltrasyonu; ak madde, gri madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta PMNL infiltrasyonuna rastlanmadı. Medial uçta ise ak madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta hafif (1) derecede gözlendi. PMNL infiltrasyonu; travma+resveratrol grubunda genel olarak negatif (0) derecede idi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Travma+resveratrol grubunda distal uçta ak maddede hafif (1), gri maddede negatif (0) derecede infiltrasyon izlendi. Proksimal uçta ak ve gri maddede hafif (1) derecede infiltrasyon vardı. Medial uçta ise ak maddede orta (2), gri maddede

hafif (1) derecede gözlemlendi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu travma+resveratrol grubunda genel olarak hafif (1) derecede idi.

- 5- Travma+quercetin grubu: Hemoraji; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede gözlenen hemoraji, medial uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede gözlemlendi. Hemoraji; travma+quercetin grubunda genel olarak ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede idi. Ödem; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede hafif (1) derecede gözlenen ödem, medial uçta ak maddede çok şiddetli (4), gri maddede şiddetli (3) derecede gözlemlendi. Ödem; travma+quercetin grubunda genel olarak ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede idi. Nekroz; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak ve gri maddede orta (2) derecede gözlenen nekroz, proksimal uçta ak ve gri maddede şiddetli (3), medial uçta ak maddede çok şiddetli (4), gri maddede şiddetli (3) derecede gözlemlendi. Nekroz; travma+quercetin grubunda genel olarak ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede idi. Aksonal şişme; distal ve proksimal uçta şiddetli (3), medial uçta çok şiddetli (4) derecede gözlemlendi. Aksonal şişme; travma+quercetin grubunda genel olarak şiddetli (3) derecede idi. Kromatolizis; distal uçta orta (2), proksimal ve medial uçta şiddetli (3) derecede gözlemlendi. Kromatolizis; travma+quercetin grubunda genel olarak şiddetli (3) derecede idi (Şekil 4.9). PMNL infiltrasyonu; ak madde, gri madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ayrı ayrı incelendi. Yapılan incelemelerde; distal ve proksimal uçta PMNL infiltrasyonu gözlenmedi. Medial uçta ise sadece ak madde ve subaraknoid aralıkta hafif (1) derecede infiltrasyona rastlandı. PMNL infiltrasyonu; travma+quercetin grubunda genel olarak negatif (0) derecede idi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Travma+quercetin grubunda distal ve proksimal uçta ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede infiltrasyon vardı. Medial uçta ise ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede infiltrasyon izlendi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu travma+quercetin grubunda genel olarak orta (2) derecede idi (Şekil 4.10-4.11).
- 6- Travma+quercetin+resveratrol (kombine) grubu: Hemoraji; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal uçta ak maddede hafif (1), gri maddede negatif (0)

derecede gözlenen hemoraji, proksimal uçta ak ve gri maddede hafif (1) derecede idi. Medial uçta ise ak maddede şiddetli (3), gri maddede hafif (1) derecede gözlemlendi. Hemoraji; kombine tedavi grubunda genel olarak ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede idi. Ödem; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede gözlenen ödem, medial uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede gözlemlendi. Ödem; kombine tedavi grubunda genel olarak ak maddede şiddetli (3), gri maddede hafif (1) derecede idi. Nekroz; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Distal ve proksimal uçta ak ve gri maddede orta (2) derecede gözlenen nekroz, medial uçta ise ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede gözlemlendi. Nekroz; kombine tedavi grubunda genel olarak ak ve gri maddede orta (2) derecede idi (Şekil 4.12). Aksonal şişme; distal, proksimal ve medial uçta şiddetli (3) derecede gözlemlendi. Aksonal şişme; travma+quercetin+resveratrol (kombine) grubunda genel olarak şiddetli (3) derecede idi. Kromatolizis; distal, proksimal ve medial uçta orta (2) derecede gözlemlendi. Kromatolizis; kombine tedavi grubunda genel olarak orta (2) derecede idi (Şekil 4.13). PMNL infiltrasyonu; ak madde, gri madde, damar duvarı ve subaraknoid aralıkta ayrı ayrı incelendi. Distal,proksimal ve medial uçta PMNL infiltrasyonuna rastlanmadı. PMNL infiltrasyonu; travma+quercetin+resveratrol (kombine) grubunda genel olarak negatif (0) derecede idi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu; ak ve gri maddede ayrı ayrı incelendi. Kombine tedavi grubunda distal uçta ak maddede orta (2), gri maddede hafif (1) derecede infiltrasyon izlendi. Proksimal uçta ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede infiltrasyon vardı. Medial uçta ise ak ve gri maddede şiddetli (3) derecede gözlemlendi. Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu kombine tedavi grubunda genel olarak ak maddede şiddetli (3), gri maddede orta (2) derecede idi (Şekil 4.14).

Distal, proksimal ve medial uç gruplarına ait tüm histopatolojik bulgulara bakıldığında dikkat çekici ortak bulgunun; PMNL infiltrasyonunun, Kontrol ve Travma grupları ile karşılaştırıldığında; Travma+Çözücü, Travma+Quercetin, Travma+Resveratrol ve kombine tedavi gruplarında daha çok tamamen yok olma eğiliminde olduğu, Mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonunun ise; Kontrol ve

Travma gruplarına göre, Travma+Çözücü, Travma+Quercetin, Travma+Resveratrol ve kombine tedavi gruplarında ise arttığı gözlenmiştir. Diğer bulgular açısından incelendiğinde; gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.1-4)

Tablo 4.1. Tüm distal uç (d) gruplarına ait histopatolojik bulgular.

	Hemoraji		Ödem		Nekroz		PMNL İnfiltrasyonu				Mikroglia, Makrofaj, MNL İnfiltrasyonu		Aksonal Şişme	Kromatolizis
	A	G	A	G	A	G	A	G	D.Dv	SA	A	G		
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	2	1	2	1	3	2	1	0	1	1	0	0	3	1
TÇ	2	1	2	1	2	2	0	0	0	0	2	2	3	2
TR	1	0	2	1	2	2	0	0	0	0	1	0	3	3
TQ	2	1	3	1	2	2	0	0	0	0	2	1	3	2
TK	1	0	3	1	2	2	0	0	0	0	2	1	3	2

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

A: ak madde; G: gri madde, D.Dv: damar duvarı; SA: subaraknoid aralık

(NEGATİF:0, HAFİF:1, ORTA:2, ŞİDDETLİ:3, ÇOK ŞİDDETLİ:4)

Tablo 4.2. Tüm proksimal uç (p) gruplarına ait histopatolojik bulgular.

	Hemoraji		Ödem		Nekroz		PMNL İnfiltrasyonu				Mikroglia, Makrofaj, MNL İnfiltrasyonu		Aksonal Şişme	Kromatolizis
	A	G	A	G	A	G	A	G	D.Dv	SA	A	G		
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	0	0	2	2
TÇ	1	1	2	1	2	2	0	0	0	0	2	1	1	1
TR	1	1	3	2	2	3	0	0	0	0	1	1	3	3
TQ	2	1	3	1	3	3	0	0	0	0	2	1	3	3
TK	1	1	3	1	2	2	0	0	0	0	3	2	3	2

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

A: ak madde; G: gri madde, D.Dv: damar duvarı; SA: subaraknoid aralık

(NEGATİF:0, HAFİF:1, ORTA:2, ŞİDDETLİ:3, ÇOK ŞİDDETLİ:4)

Tablo 4.3. Tüm medial uç (m) gruplarına ait histopatolojik bulgular.

	Hemoraji		Ödem		Nekroz		PMNL İnfiltrasyonu				Mikroglia, Makrofaj, MNL İnfiltrasyonu		Aksonal Şişme	Kromatolizis
	A	G	A	G	A	G	A	G	D.Dv	SA	A	G		
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	3	3	3	3	4	3	3	1	3	4	0	0	3	3
TÇ	3	3	3	2	3	3	0	0	2	2	2	2	3	3
TR	2	1	3	2	3	3	1	0	1	1	2	1	3	3
TQ	3	2	4	3	4	3	1	0	0	1	3	3	4	3
TK	3	1	3	2	3	2	0	0	0	0	3	3	3	2

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

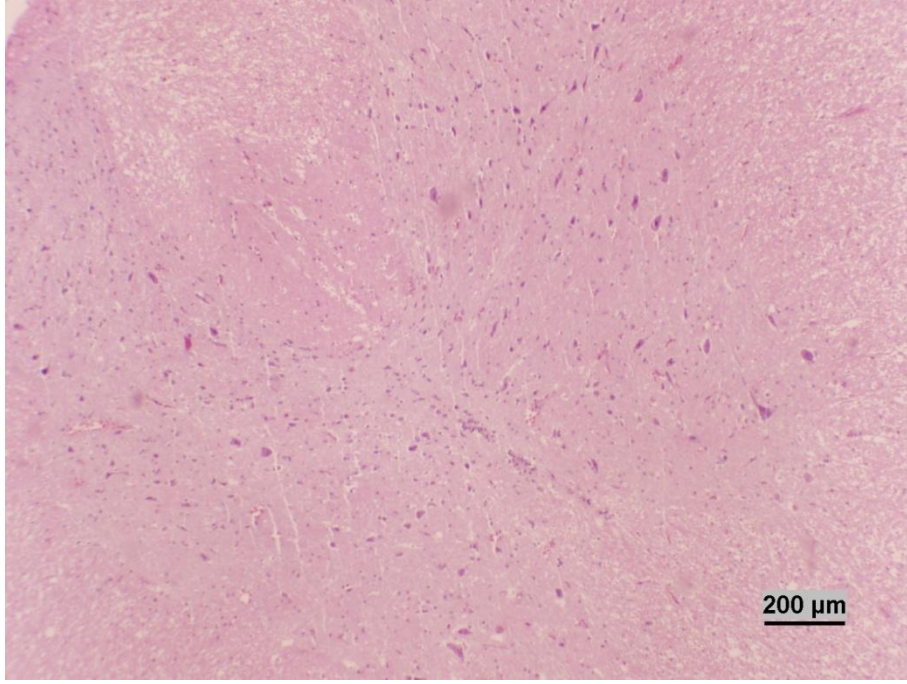
A: ak madde; G: gri madde, D.Dv: damar duvarı; SA: subaraknoid aralık
(NEGATİF:0, HAFİF:1, ORTA:2, ŞİDDETLİ:3, ÇOK ŞİDDETLİ:4)

Tablo 4.4. Tüm gruplara ait ortak histopatolojik bulgular.

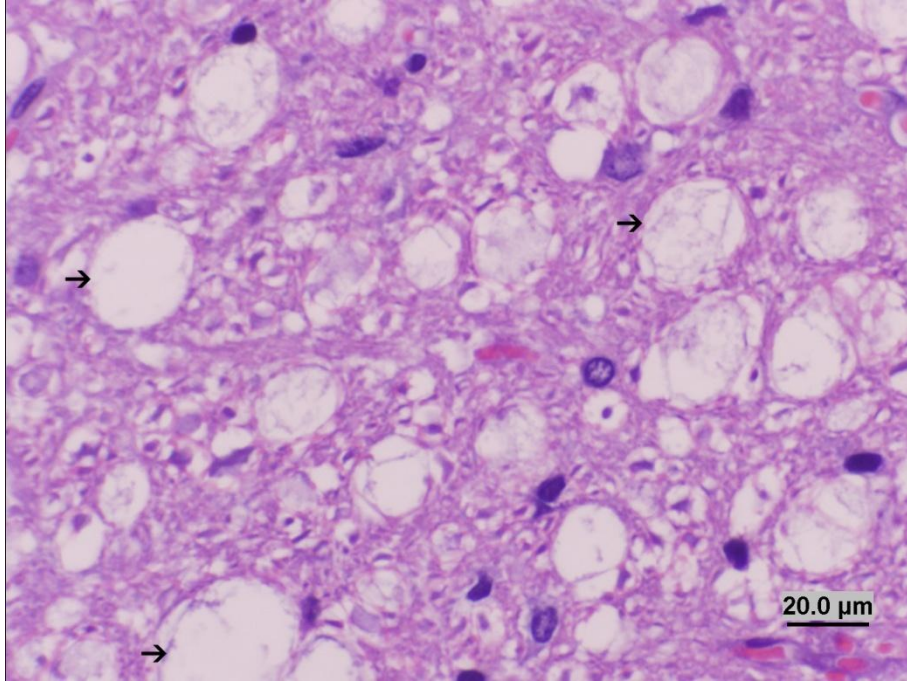
	Hemoraji		Ödem		Nekroz		PMNL İnfiltrasyonu				Mikroglia, Makrofaj, MNL İnfiltrasyonu		Aksonal Şişme	Kromatolizis
	A	G	A	G	A	G	A	G	D.Dv	SA	A	G		
K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	2	2	2	2	3	2	2	1	2	2	0	0	3	2
TÇ	2	2	2	1	2	2	0	0	1	1	2	2	2	2
TR	1	1	3	2	2	3	0	0	0	0	1	1	3	3
TQ	2	1	3	2	3	3	0	0	0	0	2	2	3	3
TK	2	1	3	1	2	2	0	0	0	0	3	2	2	2

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

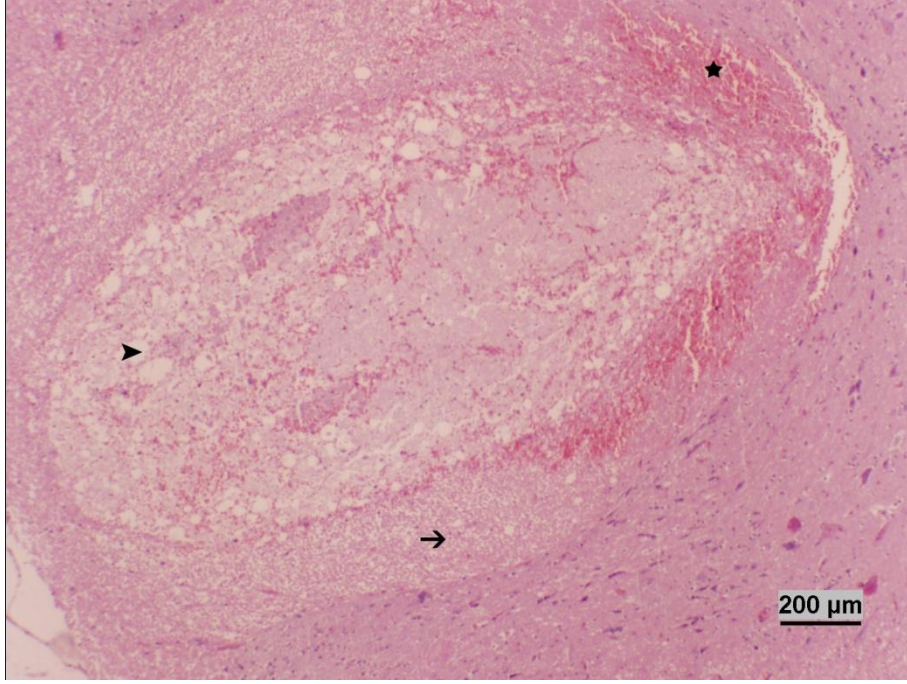
A: ak madde; G: gri madde, D.Dv: damar duvarı; SA: subaraknoid aralık
(NEGATİF:0, HAFİF:1, ORTA:2, ŞİDDETLİ:3, ÇOK ŞİDDETLİ:4)



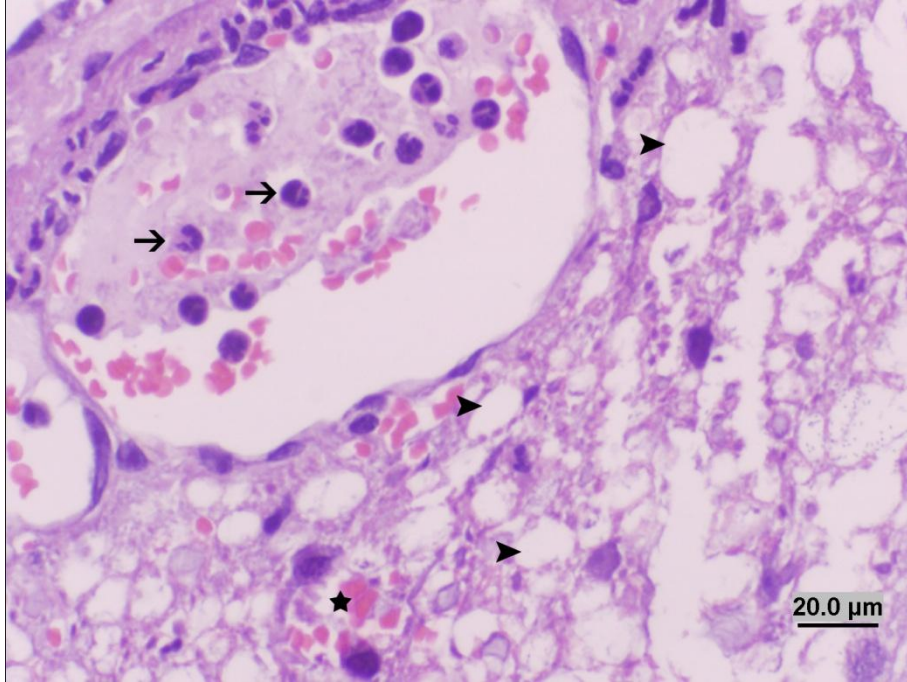
Şekil 4.1. Kontrol grubunda normal görünüm. H-E.



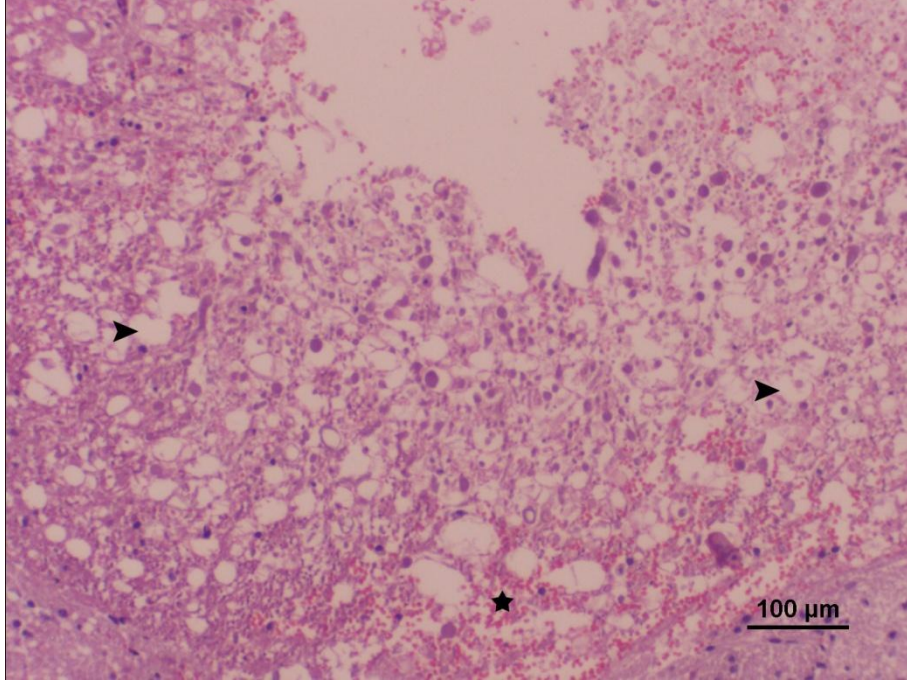
Şekil 4.2. Travma grubu distal uçta ak maddede şiddetli derecede aksonal şişme (ince ok) ve nekroz. H-E.



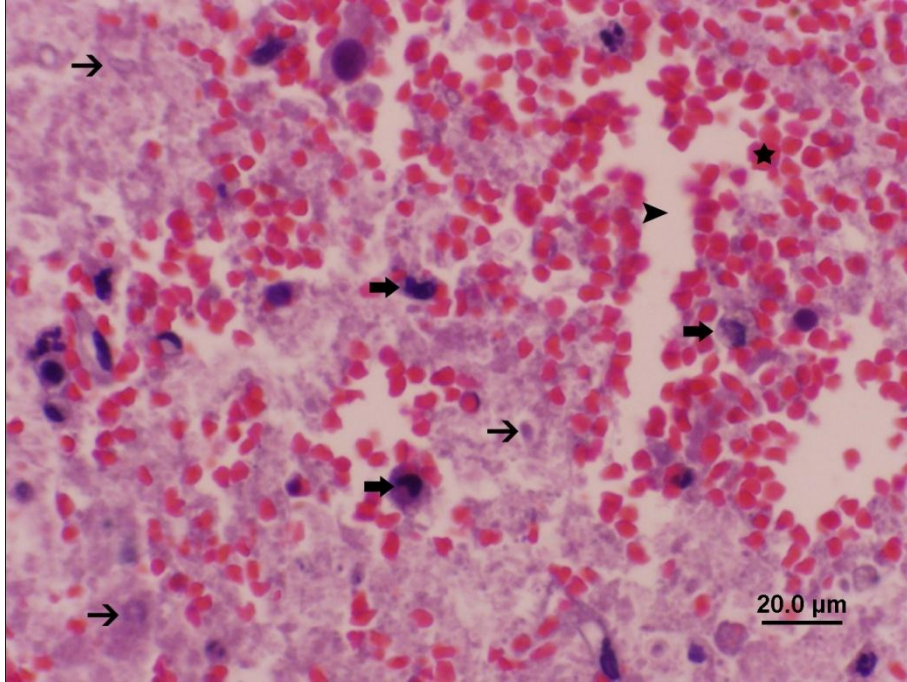
Şekil 4.3. Travma grubu distal uçta ak maddede çok şiddetli derecede aksonal şişme (ince ok), hemoraji (yıldız), ödem (ok başı) ve nekroz. H-E.



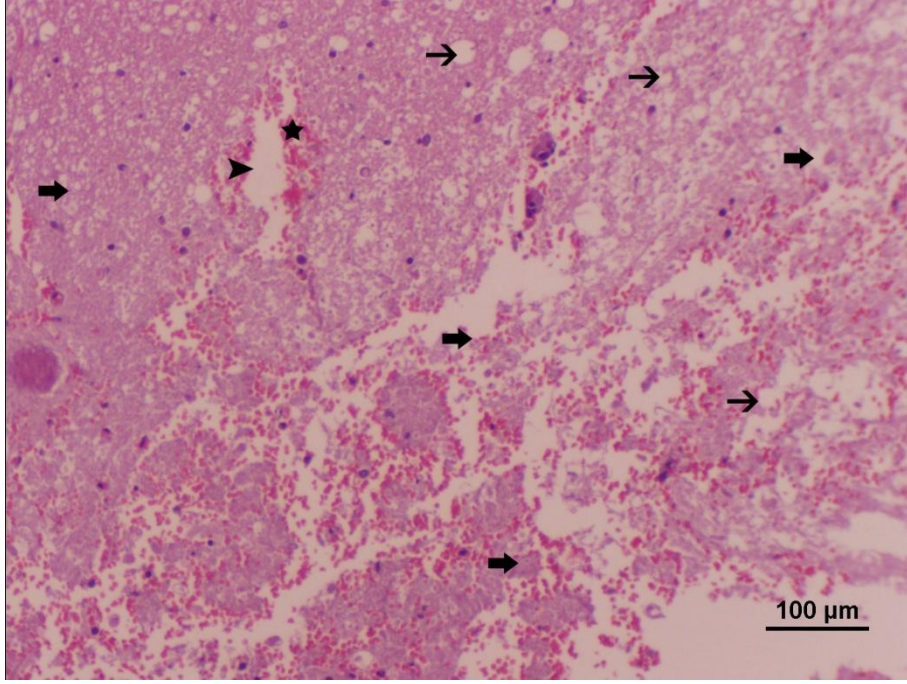
Şekil 4.4. Travma grubu proksimal uçta ak maddede damar duvarında şiddetli derecede PMNL infiltrasyonu (ince ok), çok şiddetli derecede aksonal şişme (ok başı), hemoraji (yıldız), ödem ve nekroz. H-E.



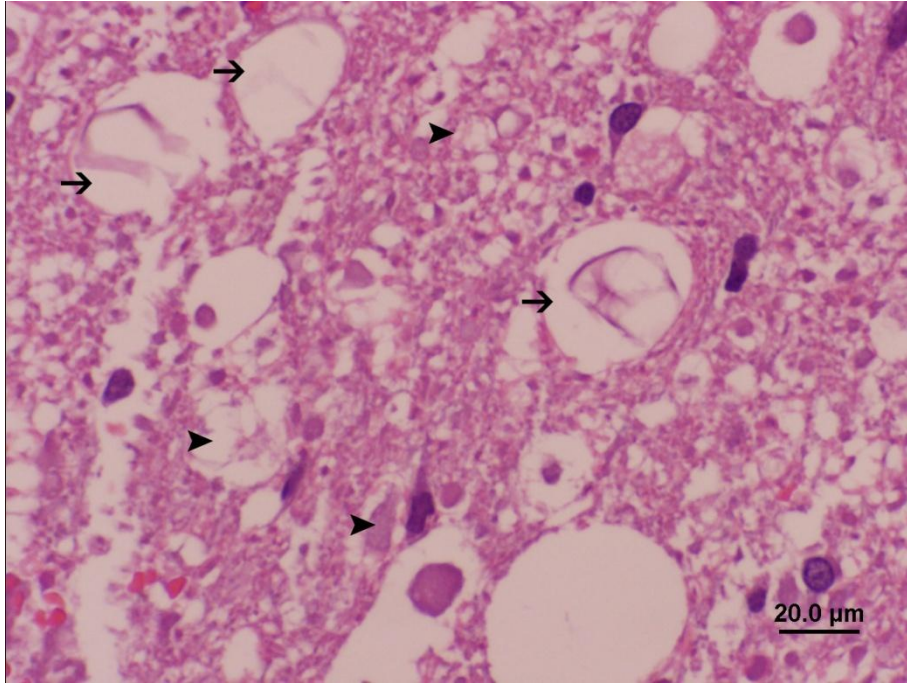
Şekil 4.5. Travma+Çözücü grubu medial uçta ak maddede şiddetli derecede hemoraji (yıldız), ödem, aksonal şişme (ok başı) ve çok şiddetli nekroz. H-E.



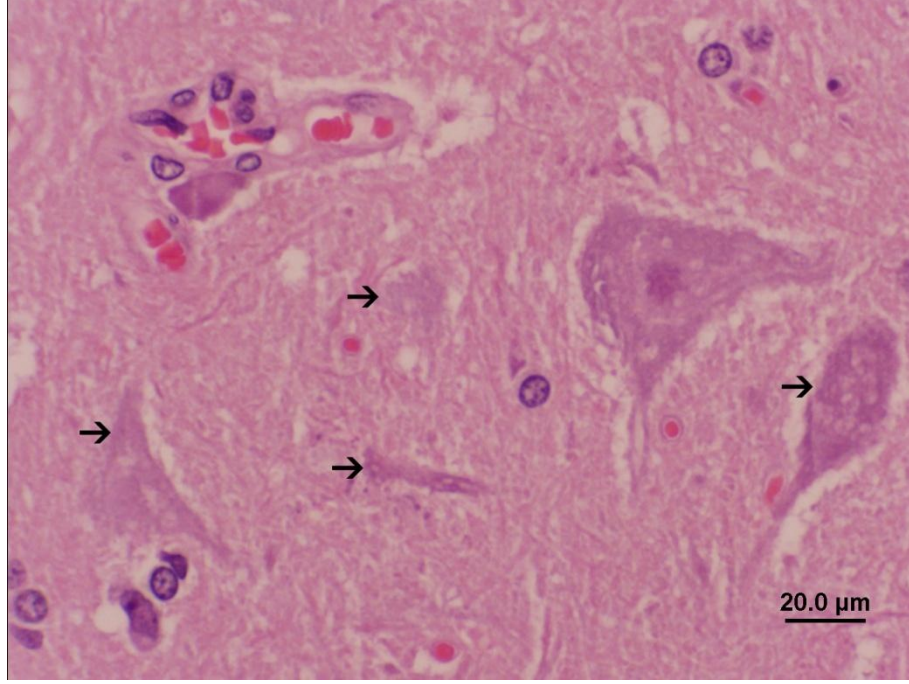
Şekil 4.6. Travma+Çözücü grubu medial uçta ak maddede orta derecede mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu (kalın ok) ve çok şiddetli derecede hemoraji (yıldız), ödem (ok başı) ve nekroz (ince ok). H-E.



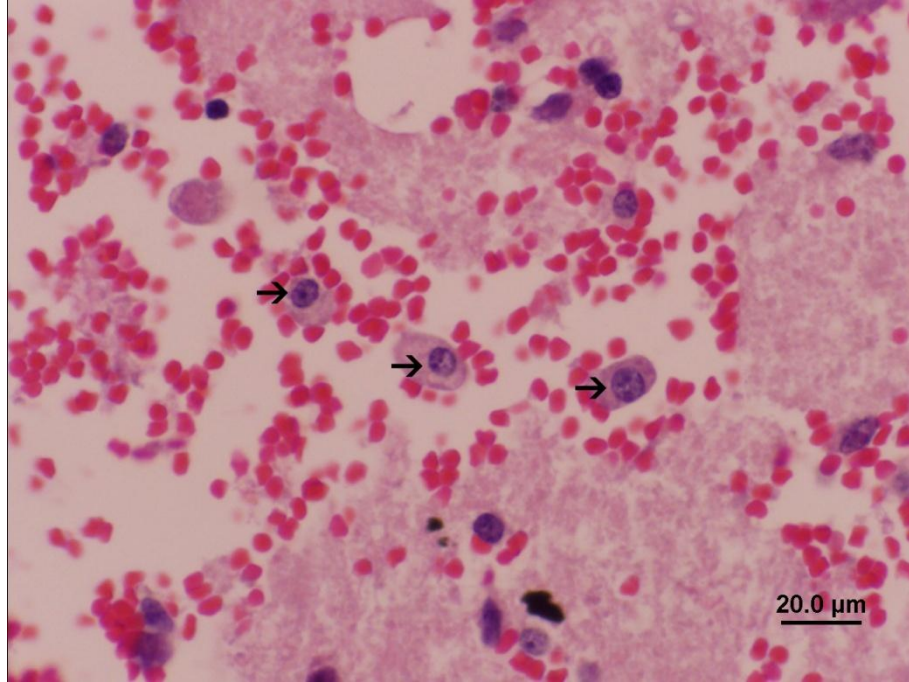
Şekil 4.7. Travma+Resveratrol grubu medial uçta ak ve gri maddede çok şiddetli derecede hemoraji (yıldız), ödem (ok başı), nekroz, aksonal şişme (ince ok) ve kromatolizis (kalın ok). H-E.



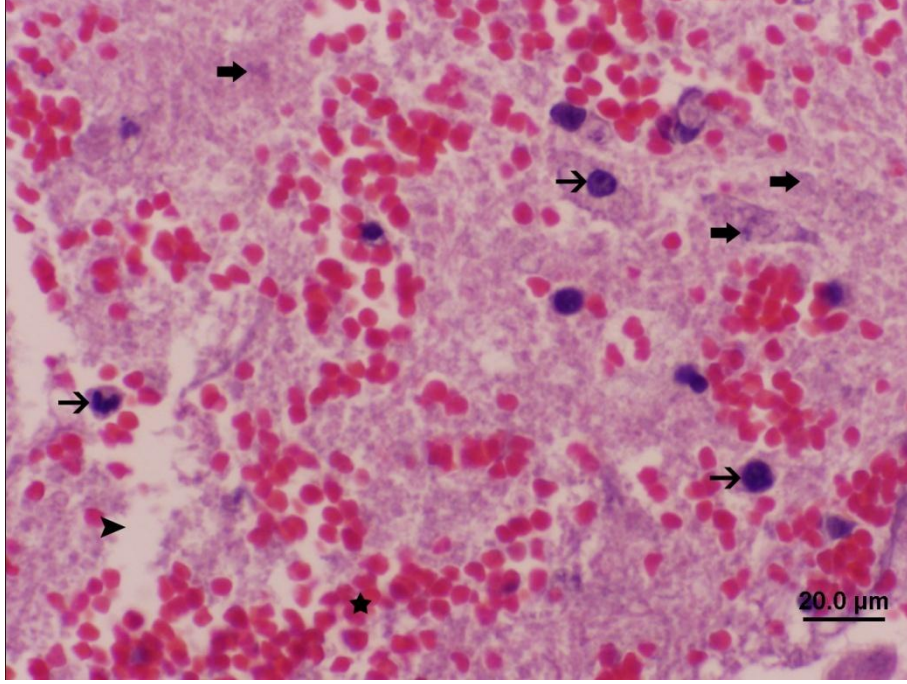
Şekil 4.8. Travma+Resveratrol grubu medial uçta ak maddede çok şiddetli derecede aksonal şişme (ince ok) ve nekroz (ok başı). H-E.



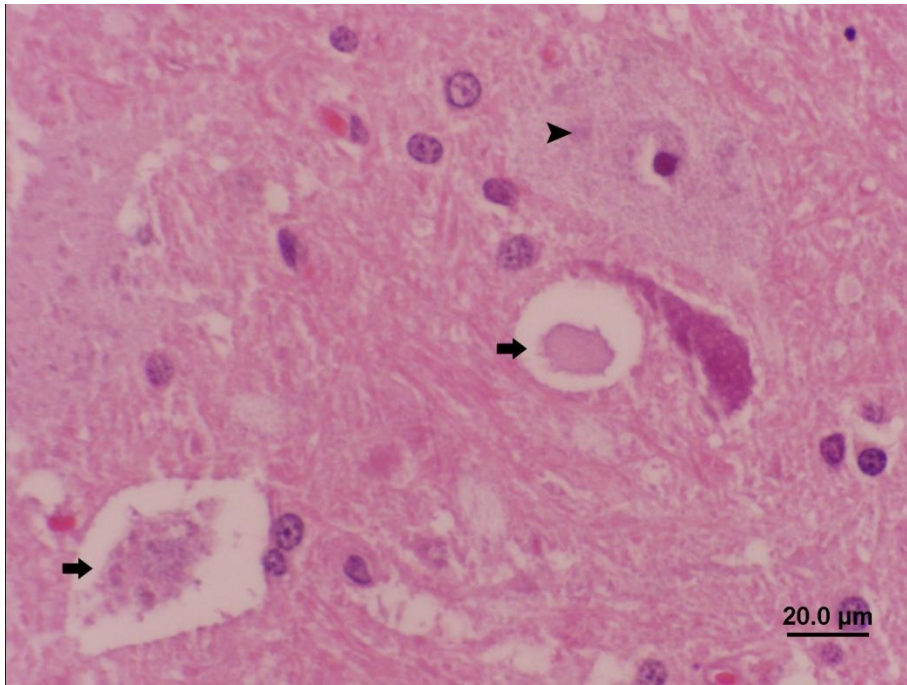
Şekil 4.9. Travma+Ouercetin grubu distal uçta gri maddede orta derecede kromatolizis (ince ok). H-E.



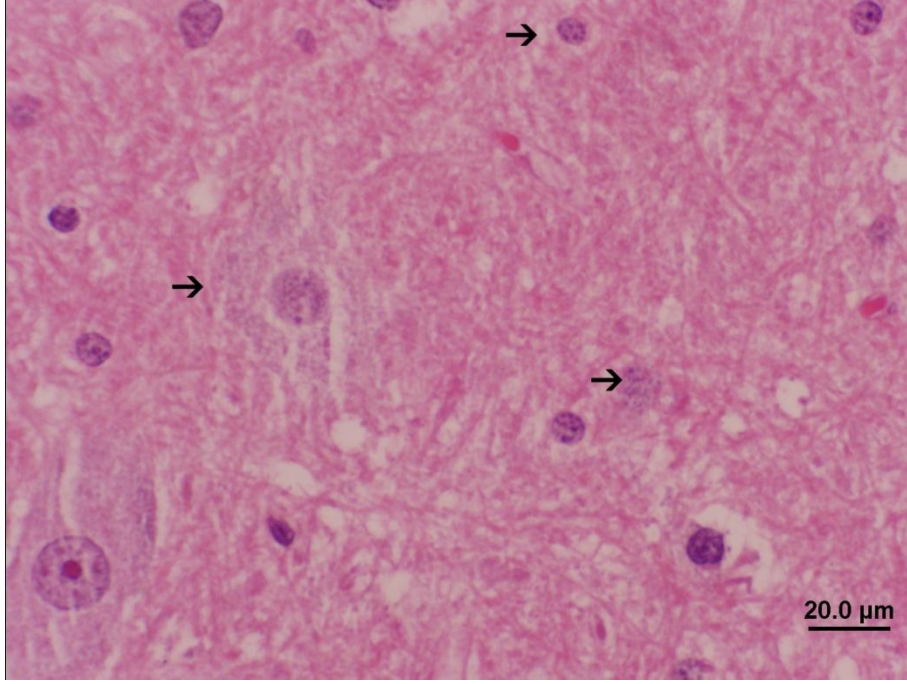
Şekil 4.10. Travma+Ouercetin grubu medial uçta ak maddede çok şiddetli derecede mikroglia/makrofaj/MNL infiltrasyonu (ince ok). H-E.



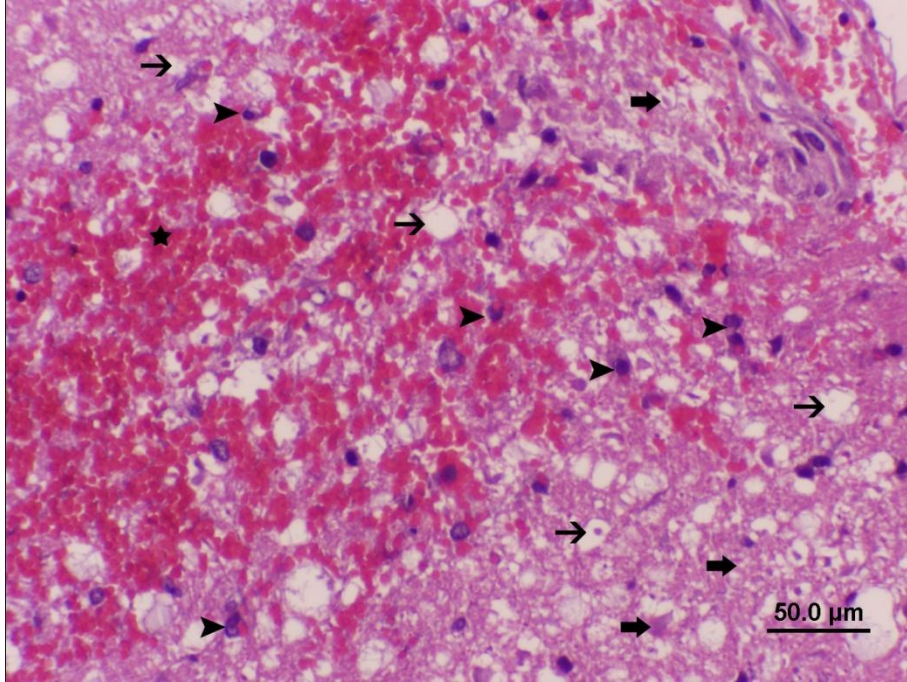
Şekil 4.11. Travma+Ouercetin grubu medial uçta ak maddede şiddetli derecede hemoraji (yıldız), ödem (ok başı), nekroz (kalın ok) ve orta derecede mikrogliya/makrofaj/MNL infiltrasyonu (ince ok). H-E.



Şekil 4.12. Kombine grubu proksimal uçta gri maddede orta derecede kromatolizis (kalın ok) ve nekroz (ok başı). H-E.



Şekil 4.13. Kombine grubu medial uçta gri maddede şiddetli derecede kromatolizis (ince ok). H-E.



Şekil 4.14. Kombine grubu medial uçta ak maddede şiddetli derecede hemoraji (yıldız), ödem, nekroz (kalın ok), aksonal şişme (ince ok) ve mikrogliya/makrofaj/MNL infiltrasyonu (ok başı). H-E.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Total antioksidan düzeyi ve paraoksonaz aktivitesini belirlemek üzere, genel anestezi altında hayvanlardan kan ve spinal kord dokusu alındı. Elde edilen plazma ve doku homojenatlarında total antioksidan düzeyi kiti ve paraoksonaz aktivite kiti kullanılarak mikroeliza yöntemi ile çalışılmıştır.

Tablo 4.5. Tüm gruplarda biyokimyasal verilerin ortalama değerleri.

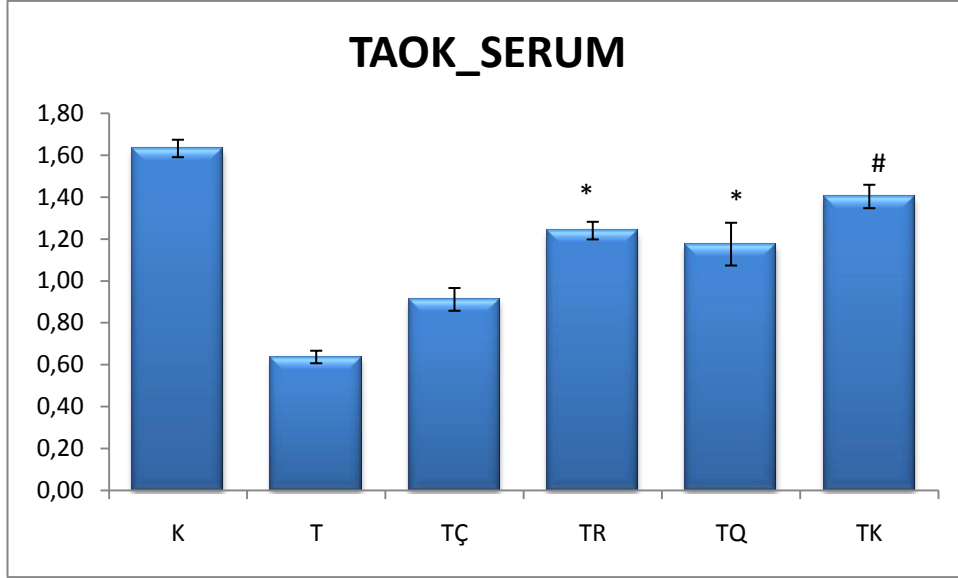
	Serum TAOK (mmol trolox Eq/L)	Doku TAOK (mmol trolox Eq/L)	Serum PON (U/L)	Doku PON (U/L)
K	1,63±0,04	0,75±0,01	146,28±2,61	82,18±2,57
T	0,64±0,03	0,15±0,02	67,11±2,89	36,97±3,28
TÇ	0,91±0,05	0,29±0,01	81,18±4,05	44,26±4,35
TR	1,24±0,04*	0,44±0,03*	104,71±1,81*	59,21±5,57*
TQ	1,18±0,1*	0,42±0,03*	100,93±2,14*	57,34±4,85*
TK	1,40±0,06#	0,61±0,02#	118,41±1,69#	68,97±3,25#

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

*: kontrol, travma ve çözücü gruplarına göre farklı ($p<0.05$)

#: tüm gruplardan farklı ($p<0.05$)

Serum ve doku TAOK düzeyleri travma grubunda kontrollere göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$). Travma uygulanıp çözücü verilen hayvanlarda serum ve doku TAOK düzeyi travma grubuna göre anlamlı derecede yüksekken kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Travma sonrası resveratrol ve quercetin verilen gruplarda serum ve doku TAOK düzeyleri travma ve çözücü gruplarına göre anlamlı derecede yüksek, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Resveratrol ve quercetin grupları arasında serum ve doku TAOK düzeyi açısından anlamlı bir farklılık yoktu. Travma sonrası kombine ilaç tedavisi verilen hayvanlarda serum ve doku TAOK düzeyleri travma, çözücü ve tekli ilaç gruplarına göre anlamlı derecede yüksekti ve bu düzeyler kontrol grubu değerlerine yaklaşırsa da anlamlı derecede daha düşük kalmıştır ($p<0.05$) (Şekil 4.15 ve 4.16).

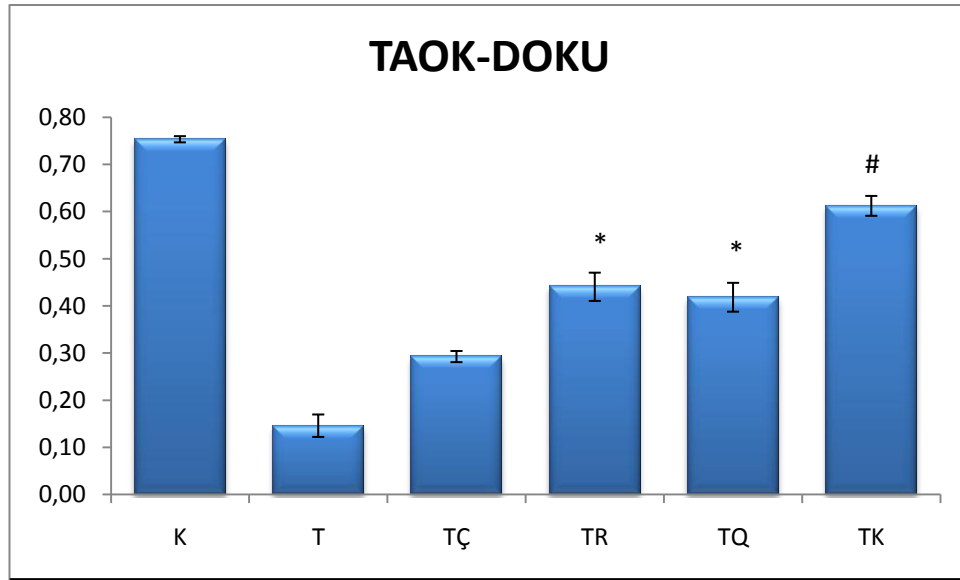


Şekil 4.15. Serum TAOK ortalama değerleri.

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

*: kontrol, travma ve çözücü gruplarına göre farklı ($p<0.05$)

#: tüm gruplardan farklı ($p<0.05$)



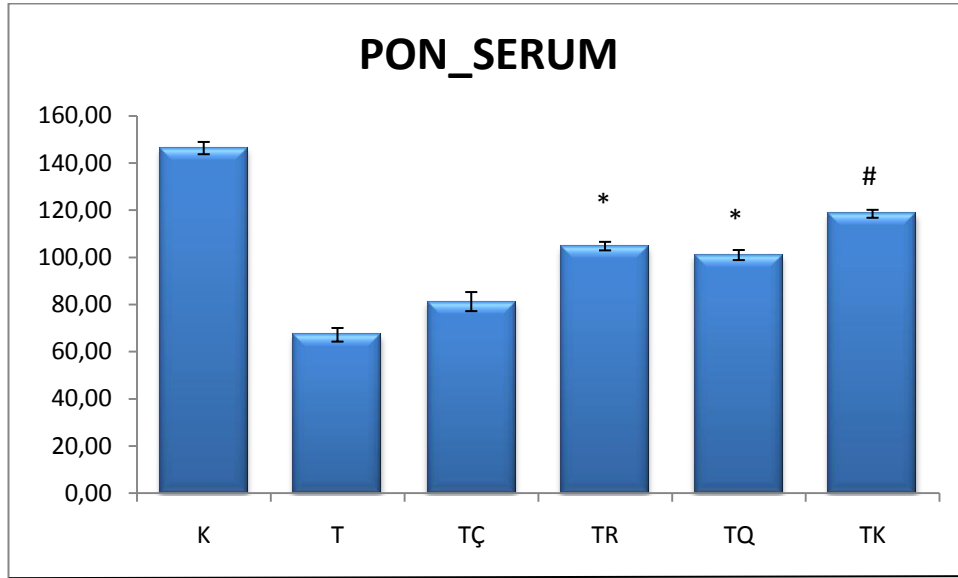
Şekil 4.16. Doku TAOK ortalama değerleri.

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

*: kontrol, travma ve çözücü gruplarına göre farklı ($p<0.05$)

#: tüm gruplardan farklı ($p<0.05$)

Serum ve doku PON düzeyleri travma grubunda kontrollere göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$). Travma uygulanıp çözücü verilen grup da serum ve doku PON düzeyi travma grubuna göre anlamlı derecede yüksek, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Travma sonrası resveratrol ve quercetin verilen gruplarda serum ve doku PON düzeyleri travma ve çözücü gruplarına göre anlamlı derecede yüksek iken kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Resveratrol ve quercetin grupları arasında serum ve doku PON düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık yoktu. Kombine ilaç tedavisi (resveratrol + quercetin) grubunda serum ve doku PON düzeyleri travma, çözücü ve tekli ilaç gruplarına göre anlamlı derecede yüksekti ve bu düzeyler kontrol grubu değerlerine göre ise anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$) (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).

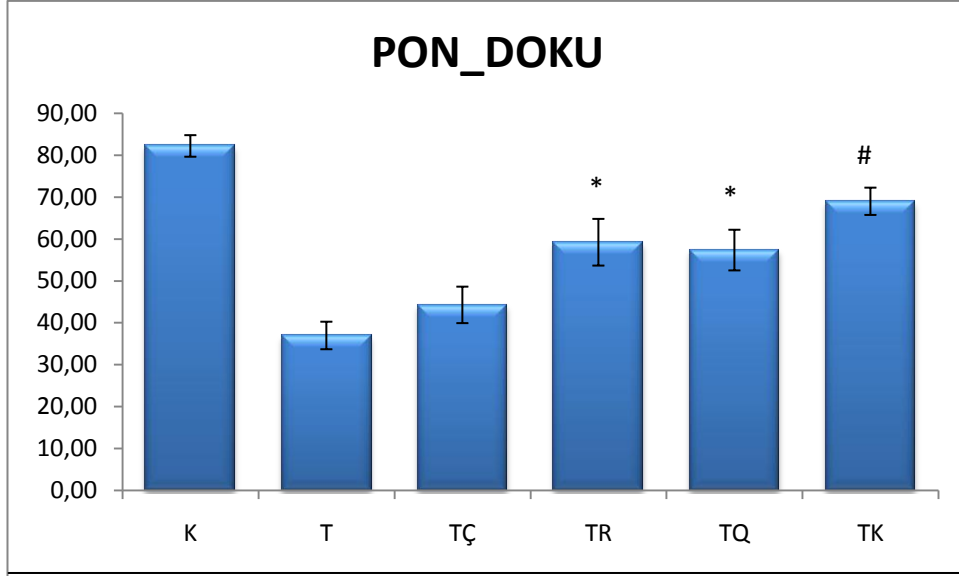


Şekil 4.17. Serum PON ortalama değerleri.

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

*: kontrol, travma ve çözücü gruplarına göre farklı ($p<0.05$)

#: tüm gruplardan farklı ($p<0.05$)



Şekil 4.18. Doku PON ortalama değerleri.

K: kontrol grubu, T: travma grubu, TÇ: travma+çözücü grubu, TR: travma+resveratrol grubu, TQ: travma+quercetin grubu, TK: travma+kombine ilaç grubu

*: kontrol, travma ve çözücü gruplarına göre farklı ($p<0.05$)

#: tüm gruplardan farklı ($p<0.05$)

5. TARTIŞMA

Akut spinal kord yaralanması; toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel psikososyal ve ekonomik açıdan oluşturduğu yaralanmanın büyüklüğü ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememiş olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Spinal kord travması sonrası oluşan nöral yaralanmanın azaltılması ve motor fonksiyonların korunmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde klinik çalışmalar devam etmektedir (87).

Spinal kord yaralanmasının akut dönemi primer ve sekonder hasar paternleri içerir. Primer patern, nöral dokuların kontüzyon, laserasyon, gerilmesi veya kompresyonundan ibarettir. Vasküler yaralanma akut spinal kord yaralanmasında hasar oluşumuna neden olan yaralanma mekanizmalarında önemli rol oynar. Primer doku hasarı geri dönüşümsüzdür. Spinal kordda hasar oluşumu, ilk hasar ile sınırlı kalmayıp, travmayı takip eden saatler içerisinde ilerler. Sekonder hasar paterni posttravmatik iskemi, aşırı serbest radikal üretimi ve aşırı nörotransmitter salınımını (eksitotoksisite) içerir ve inflamasyonun doku hasarının artmasında katkısı olabilir. Sekonder doku hasarının geri dönüşümü mümkün olabilir (199).

Spinal kord yaralanmalarında en etkin tedavi, kaçınılmaz olan çarpma etkisiyle başlayan ikincil hasarın önlenmesidir. Bu amaçla pek çok ilaç hayvan çalışmalarında denenmiş ve önemli bir kısmı etkin bulunmuştur. Bu ilaçların bazıları klinik çalışmalarda denenmiş, ancak insanda etkinliği ispatlanamamıştır. Sadece metil prednizolon klinik pratikte uygulanmaya başlanmıştır. Ancak son yıllarda bu ilacın etkinliği konusunda ciddi tartışmalar olmaktadır. Spinal kord yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katekolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır. Etkin nöroprotektif tedavinin bulunması için spinal kord yaralanmasının patofizyolojisi daha iyi anlaşılmalıdır (10).

Sekonder hasar mekanizmalarından bazıları serbest radikal teorisi, lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar değişikliklerdir. Serbest radikal dış yörüngesinde çiftlenmemiş serbest elektron bulunduran kimyasal bileşiktir. Bu elektron başka biyolojik moleküllere aktarılarak oksidasyona yol açar. Serbest radikallerin aşırı

artışı hücre ölümüne neden olur (28, 200). Mitokondrial elektron transport zincirinin ve mikrozomal sitokrom P450 sisteminin bir parçası olan normal hücrel olaylar ile az miktarlarda süperoksit ve hidroksil gibi serbest radikaller oluşturulur. Serbest radikaller membran reseptör fonksiyonunun modülasyonu gibi önemli fizyolojik rollere sahiptir. Örneğin serbest radikallerin NMDA fonksiyonunu etkilediği bilinmektedir (201). Serbest radikaller travmatik veya hipoksik hasarlarda yetersiz oksijenizasyon nedeniyle oluşur. Ayrıca posttravmatik reperfüzyon sırasında araşidonik asitten lökotrien ve prostaglandinlerin olduğu biyokimyasal reaksiyonların yan ürünleri olarak da reaktif oksijen radikalleri oluşabilir (5, 202, 203). Serbest radikaller; proteinler, nükleik asitler, lipidler ve glikozaminoglikanlar gibi ekstrasellüler matriks proteinleri ile reaksiyona girip sonrasında bunlara zarar verebilir. Poliansatüre yağ asitleri plazma membran bileşenleri olarak SSS'de çok yüksek konsantrasyonda bulunur. Bunlar serbest radikallere daha duyarlıdır. Bu duyarlılık SSS'deki posttravmatik iskemiye bağlı lipid peroksidasyonundan sorumludur. Lipid peroksidasyonu ile birlikte meydana gelen mikrovasküler endotel hasarı kan beyin bariyerinin bozulmasına neden olur (204).

Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller enzimatik antioksidan mekanizmalar (sitokrom oksidaz sistemi, süperoksit dismutazlar, katalazlar, glutatyon peroksidazlar) yada non-enzimatik antioksidanlar (alfa-tokoferol, beta-karoten, glutatyon, askorbik asit, ürat, sistein, bilirubin, albumin) yada metal bağlayıcılar (seruloplazmin, transferin, laktoferrin) ile inaktive edilerek doku hasardan korunur. Santral sinir sistemi askorbat, glutatyon ve alfa-tokoferol gibi antioksidan mekanizmalara yüksek oranda sahiptir (83). Travma sonrası dokuda bu antioksidan mekanizmalar hızla azalır. Oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler, nükleik asitler ile reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitler oluştururlar bunun sonucunda daha fazla serbest radikal oluşur. SSS'de SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına yatkındır (10).

Paraoksonaz, hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır.

PON'ın, hücre membranları ve lipoproteinler üzerine serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyonuna karşı antioksidan etki gösterdiği gözlenmiştir (60). Paraoksonaz; LDL'yi, bakır iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği

oksidasyondan korumaktadır. Serum PON aktivitesinin, özellikle de aterosklerozla ilişkisini değerlendiren birçok çalışma yayımlanmıştır. Miyokard enfarktüsü, diyabet ve kronik renal yetmezlikte PON aktivitesinin azaldığı ifade edilmiştir (62, 64, 65).

Rael ve ark.(66) yaptığı çalışmada PON aktivitesinin travmanın şiddetini ve tedavinin potansiyel etkinliğini değerlendirmede faydalı olabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda Paraoksonaz düzeyi ile oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (205).

Yapılan deneysel çalışmalar antioksidanların spinal kord hasarında etkili olabileceğini göstermektedir. Siklosporin-A (206), EPC-K1 (146), vitamin E ve selenyum (207) serbest radikal tutucu özellikleri nedeniyle spinal kord hasarında etkin bulunmuştur.

Spinal kordun travmatik yaralanması sonucu inflamasyon cevabı saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde tepe değerine ulaşır (208). Bu cevap endotel hasarı, inflamasyon mediyatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferel inflamatuvar hücrelerinin göçü ve mikroglia aktivasyonu olarak gözlemlenir. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu iki dalga halindedir. Birinci dalga da polimorfonükleer granülosit infiltrasyonu varken, ikinci dalga monosit ve makrofajlar tarafından gerçekleştirilir. PMNL lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infiltre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. PMNL miktarı ile oluşan hemoraji miktarının korelasyon göstermesi, kan içindeki kemoatraktan maddelerin bu infiltrasyonun miktarını belirlemede önemini göstermiştir. İkinci dalgada yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferel hücreler monosit/makrofaj ve mikroglial gruptur. Burada asıl fonksiyonun hücre debrisinin fagositozu olduğu düşünülmektedir (5).

Metilprednizolon, platelet aktive edici faktör antagonistleri, siklooksijenaz ve lipogenazların hepsi etkilerini inflamatuvar cevapları kısmen azaltarak ya da tamamen inhibe ederek göstermektedirler. Klorakin ve kolşisinin kullanımı, spinal kordda iskemi sonrası inflamatuvar değişiklikleri ve doku hasarını azaltmıştır (153).

Paterniti ve ark. (209) yaptığı çalışmada spinal kord travması sonrası bir polifenol olan yeşil çay ekstresinin inflamasyonun tüm parametrelerini azalttığı ve nötrofil infiltrasyonunda belirgin azalmaya neden olduğu saptandı. Yeşil çay ekstresinin ekstremitelerde fonksiyonlarında da anlamlı bir iyileşmeye neden olduğu

saptandı. Bu çalışmada kullanılan yeşil çay ekstresinin spinal kord hasarında oluşan oksidatif hasarı engellemesi nedeniyle önem kazanmıştır.

Bir polifenol olan Curcumin'in antioksidan, antikanser ve antiinflamatuvar etkileri vardır. Berker ve ark. (210) yaptığı çalışma da spinal kord travması sonrası Curcumin ve metilprednizolon'un etkileri biyokimyasal ve histopatolojik olarak karşılaştırıldı. Curcumin verilen grupta dokudaki malonildialdehit düzeyinin azaldığı ve SOD, GSH-Px, CAT düzeylerinin arttığı saptandı. Curcumin'in histopatolojik olarak doku bütünlüğünü koruduğu gösterildi. Spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlarda Curcumin'in fonksiyonel iyileşmede, biyokimyasal ve histopatolojik olarak metilprednizolon kadar etkili olduğu gösterildi.

Resveratrol (3,4',5 trihydroxystilbene) stilbenlerin alt grubu olup üzüm, şarap, yer fıstığı ve yaban mersininde bulunan polifenolik bir bileşiktir (154). Çeşitli çalışmalarda resveratrolün lipid peroksidasyonunu engelleyerek antioksidan etki gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca resveratrolün anti-trombotik aktivite gösterdiği, araşidonik asit metabolizmasını etkileyerek antiinflamatuvar etki gösterdiği de bilinmektedir. Resveratrolün inflamatuvar ve travmatik reaksiyonların patolojik süreçlerini etkileyebileceği gösterilmiştir (160, 171). Resveratrol ayrıca endotel hücrelerinde NO üretimini artırır ve kan damarları üzerinde vazodilatatör etki gösterir (211).

Ateş ve ark. (212) yaptığı çalışmada deneysel spinal kord travması sonrası resveratrol ve metilprednizolon'un etkileri araştırılmış. Resveratrol ve resveratrol+MP (kombine) verilen gruplarda sadece MP verilen gruba göre malonildialdehit, NO, ksantin oksidaz seviyelerinin anlamlı olarak düşük olduğu ve glutasyon seviyelerinin de yüksek olduğu saptandı. Nörolojik iyileşmesinin de resveratrol ve kombine tedavi grubunda sadece MP verilen gruba göre önemli oranda daha iyi olduğu görüldü. Histopatolojik olarak tedavi verilen gruplarda anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bu çalışmada spinal kord hasarı sonrası gelişen sekonder hasar üzerine resveratrolün en az MP kadar etkili olduğu ve spinal kord hasarının kronik evresinde kombine kullanımın ekstra bir koruma sağlamadığı görüldü.

Yang ve Piao (213) spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlarda resveratrol ve metilprednizolon'un spinal kord hasarı sonrası oluşan sekonder hasar üzerine koruyucu etkisi olduğu gösterdiler. Ayrıca resveratrolün spinal kord hasarı sonrası

enerji metabolizması üzerine olan etkisinin ve lipid peroksidasyon inhibisyonunun metilprednizolondan daha etkili olduğu, resveratrol'un spinal kord hasarı üzerine güçlü tedavi edici etkisi olduğu gösterildi.

Kızıltepe ve ark. (214) resveratrol'un spinal kord iskemireperfüzyon hasarından oksidatif stresi azaltarak ve serbest NO arttırarak koruduğu gösterdiler.

Quercetin (3,30,40,5,7- pentahidroksiflavon) fitoöstrojenler olarak bilinen bir bitki kökenli nonsteroidal bileşikler grubuna ait bir flavonoiddir (170). Quercetin serbest oksijen radikallerini temizleyerek ve lipid peroksidasyonu ile ksantin oksidaz aktivitesini inhibe ederek antioksidan etkisini ortaya koyar (171). Quercetin'in antiinflamatuvar etkisi kendi antioksidan etkisinden dolayı ve lipooksijenaz, siklooksijenaz enzimlerini inhibe ederek daha sonra oluşan lökotrienleri ve prostaglandinleri de içeren inflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek gösterir(178, 179). Epidemiyolojik çalışmalarda quercetin'in nöronal korunmada yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (182). Quercetin'in beyindeki nöroprotektif etkisi, antioksidan etkisine ve serbest radikalleri ortadan kaldırmasına bağlıdır, nöroprotektif etkisi yaşa bağlı demans ve Alzheimer hastalığını da kapsar (183- 185).

Heng ve ark. (215) bir flavonoid olan Puerarin'in deneysel spinal kord hasarına bağlı sekonder hasarlanmaya karşı koruyucu etkisi olduğunu gösterdiler.

Hiperisum perforatum ekstresi flavonoid ve fenolik asit içeren polifenol grubu bir tıbbi bitki türüdür. Genovese ve ark. (216) yaptıkları çalışmada hiperisum perforatum ekstresinin spinal kord hasarı sonrası sıçanlarda nöroproteksiyon ve nöronal iyileşme üzerine etkisini araştırmış. Hiperisum perforatum ekstresinin tedavi amacıyla verilen sıçanlarda spinal kord inflamasyonunu, doku hasarını ve nötrofil infiltrasyonunu azalttığı görülmüş. Ayrıca nöronal fonksiyonların da düzelttiği görülmüş.

Schültke ve ark. (180) yaptıkları deneysel çalışmada quercetin'in spinal kord hasarı olan bölgede doku bütünlüğünü koruduğunu ve tedavi başarısının uygulama sıklığı ile toplam doza bağlı olduğunu gösterdi.

Başka bir çalışmada spinal kord hasarı sonrası quercetin'in lipid peroksidasyonunu azalttığı fakat fonksiyonel iyileşmeyi düzeltmediği saptandı (181).

Schültke ve ark. (217) yaptıkları deneysel çalışmada spinal kord hasarı sonrası fonksiyonel iyileşmede quercetin'in demir şelasyonu yoluyla sekonder hasarı azaltmasının önemli bir mekanizma olduğu gösterdiler.

Bizim yaptığımız çalışmada spinal kord hasarı oluşturulmuş sıçanlara, travmadan 1 saat sonra tedavi olarak i.p resveratrol, quercetin ve resveratrol ile quercetin birlikte verildi. Etkinin değerlendirilebilmesi amacıyla; biyokimyasal parametre olarak serumda ve spinal kord dokusunda TAOK seviyesine ve PON aktivitesine bakıldı.

Resveratrol verilen grupta serum ve doku TAOK ile PON aktivitesi düzeyi travma ve çözücü grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek gözlenmesi, Ateş ve ark. (212, 218) tarafından yapılan çalışmalarda spinal kord travması ve kafa travması sonrası resveratrol verilen sıçanlarda gözlenen GSHPx seviyesinin artması ile uyumludur.

Elmalı ve ark. (219) iskelet kasında yaptıkları iskemi reperfüzyon hasarında resveratrol'ün malonildialdehit seviyesini anlamlı olarak azalttığı, histopatolojik incelemede kas dokusunda PMNL infiltrasyonu, ödem, kas liflerinin boyutlarında değişiklik ve segmental nekrozun kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığını gösterdiler. Bizim çalışmamız da resveratrol tedavisi verilen grupta antioksidan etkinin toplamını yansıtan total antioksidan kapasitesinin arttığı gözlemlendi. Bunun resveratrol'ün literatürde bahsedildiği gibi özellikle Ateş ve ark. (212,218) çalışmalarında ortaya koyduğu resveratrol'ün antioksidan ve serbest radikalleri bağlama etkisine bağlı olduğu düşünülebilir. Total antioksidan kapasitesindeki bu artış spinal kord dokusunun oksidatif hasara karşı resveratrol tarafından daha iyi korunduğunu gösterir. Bunun yanında çalışmamız da resveratrol verilen sıçanlardaki PON aktivitesinin arttığı gözlemlendi. Bu artışın Elmalı ve ark.(219) ile Ray ve ark.(169) çalışmalarında ortaya koyduğu gibi resveratrol'ün lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve serbest radikalleri bağlayarak LDL oksidasyonunu azaltmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Quercetin verilen grupta serum ve doku TAOK düzeyleri ile PON aktivitesi travma ve çözücü gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü. İkizler ve ark. (220) sıçan kalplerinde uygulanan iskemi/reperfüzyon hasarında, antioksidan savunma sistemi olan glutatyon ve glutatyon redüktaz düzeylerinin quercetin tedavisi

verilen gruplarda kontrol grubuna göre belirgin arttığı, quercetin'in antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarının azaldığı gösterilmiştir. Liu ve ark. (181) spinal kord hasarı sonrası travma grubunda malonildialdehit seviyelerinin arttığını fakat quercetin tedavisi verilen grupta artmadığını, quercetin'in lipid peroksidasyonu düzeyini azalttığını gösterdi.

Bizim çalışmamız da quercetin tedavisi verilen grupta TAOK düzeyinin arttığı gözlemlendi. Bu artışın quercetin'in literatürde bahsedildiği gibi İkizler ve ark.(220) çalışmasında ortaya koyduğu serbest radikalleri toplayıcı özelliklerine bağlı olarak antioksidan etki göstermesine bağlı olduğu düşünülebilir. Ek olarak çalışmamızda quercetin verilen grupta PON aktivitesinin arttığı gözlemlendi. PON aktivitesindeki artışın quercetin'in Liu ve ark. (181) çalışmasında ortaya koyduğu gibi lipid peroksidasyonunu inhibe etmesine ve quercetin'in serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırarak antioksidan etki göstermesine bağlı olduğu düşünülebilir.

Travma + çözücü grubunda serum ve doku TAOK düzeyi ve PON aktivitesi travma grubuna göre anlamlı derecede yüksek, kontrol grubuna göre ise düşük olduğu görüldü. Çözücü olarak kullandığımız DMSO, ağırlıklı olarak hidroksil radikallerine spesifik bir serbest oksijen radikal toplayıcısıdır. Turan ve ark. (221) spinal kord iskemisi/reperfüzyon hasarı yapılan tavşanlarda DMSO'nun önemli nöroprotektif etkisi olduğunu gösterdiler. Zileli ve ark. (198) spinal kord hasarı sonrası sıçanların alt ekstremitelerinde motor fonksiyonları üzerine DMSO'nun ılımlı bir etkisi olduğunu klinik inceleme ve somatosensoryel uyarılmış potansiyelleri yoluyla gösterdiler. Chiueh CC. ve ark. (197) yaptığı çalışma da yine kafa travmasında DMSO ile serbest radikal oluşumunun baskılandığı gösterilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda DMSO'nun aksonlar üzerinde koruyucu etkisi olduğu ve spinal kord hasarı sonrasında myelin kılıfta inflamasyonu azalttığı, spinal kord kan akımını arttırdığı görülmüştür (193- 196).

Bizim çalışmamızda çözücü olarak kullandığımız DMSO verilen grupta TAOK seviyesinin travma grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdiği görüldü. Bu artış DMSO'nun literatürde Ablin ve ark. (222) ve Chiueh CC. ve ark. (197) çalışmalarında ortaya koyduğu gibi DMSO'nun serbest radikal temizleyicisi olarak çok etkin olmasına bağlı olduğu düşünüldü. PON aktivitesindeki artış DMSO'nun lipid metabolizması üzerine olan etkisine bağlı olabilir.

Kombine ilaç tedavisi (resveratrol + quercetin) verilen hayvanlarda serum ve doku TAOK düzeyleri ile PON aktivitesi açısından hem travma hem de tekli ilaç gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti. Carvalho ve ark. (223) yaptığı çalışmada spinal kord travması sonrası sıçanlara gangliozid, metilprednizolon ve gangliozid ile MP birlikte verilmiş. Kombine tedavi verilen grupta elde edilen sonuçların sadece MP verilen gruba göre daha iyi olduğunu gösterdi. Ateş ve ark. (212) yaptığı çalışmada nörolojik iyileşmenin kombine tedavi verilen grupta sadece MP verilen gruba göre daha iyi olduğunu gösterdi. Kombine tedavi verilen gruplarda travma, tekli ilaç tedavisi ve çözücü verilen gruplara göre serum ve doku TAOK düzeyleri ile PON aktivitesi anlamlı derecede yüksek olması ve kontrol gruplarındaki bazal değerlere yaklaşmış olması da her iki tedavi ajanının ve DMSO'nun antioksidan ve antiinflamatuvar etki potansiyeline bağlı olabileceğini göstermektedir. Bu yukarıda bahsedilenlere uygun olarak travma sonrası kombine tedavi verilen grupta elde ettiğimiz sonuçların tekli tedavi gruplarından daha iyi olması bu iki ajanın ve çözücü olarak kullandığımız DMSO'in birbirleriyle sinerjistik etki gösterdiği düşüncemizi desteklemektedir.

Tüm histopatolojik bulgulara bakıldığında dikkat çekici ortak bulgunun; PMNL infiltrasyonunun, Kontrol ve Travma grupları ile karşılaştırıldığında; Travma+Çözücü, Travma+Quercetin, Travma+Resveratrol ve Travma+Quercetin+Resveratrol (Kombine) gruplarında tamamen yok olma eğiliminde olduğu görüldü. Bu etki her iki ilacın ve DMSO'in antiinflamatuvar etkisine bağlı olabilir. Ödem, hemoraji ve nekroz açısından incelendiğinde; gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Bahsedilen etkilerinden yola çıkarak Resveratrol ve Quercetin'in Rivlin ve Tator'un klip kompresyon modeli kullanılarak yapılan spinal kord hasarlanmasında; biyokimyasal ve histopatolojik inceleme verileri ışığında nöroprotektif bir ajan olduğu düşünülmüştür. Spinal kord travmalı olgularda tedavi amaçlı kullanımı için daha çok sayıda çalışma gerekmektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Spinal kord yaralanmalarında travmanın olduğu anda ortaya çıkan ve omuriliğin kompresyon, kontüzyon veya laserasyonu ile seyreden duruma birincil yaralanma adı verilir. Bugün için bu tipte spinal kord yaralanmasına özel farmakolojik sağaltım söz konusu değildir. Birincil yaralanmanın derecesi, yaralanmaya neden olan gücün büyüklüğüne, etki süresine ve spinal kord tarafından absorbe edilen enerji miktarına göre değişir.

İkincil yaralanma, birincil yaralanmayı izleyerek dakikalar, saatler içinde başlayıp haftalarca devam eden bir süreçtir. İkincil spinal kord yaralanmalarına yönelik araştırmaların amacı, birincil yaralanmadan sonra hala canlılığını ve distal nöronlarla bağlantılarını sürdürmekte olan lezyon bölgesindeki nöronları korumaya, dayanıklılıklarını arttırmaya veya bunlara zarar verecek olan patolojik süreçleri durdurmaya yönelik farmakolojik ajanların ve önlemlerin bulunması ve kullanılmasıdır. Spinal kord travmalarının patofizyolojik temelleri anlaşılmaya başladıkça travmanın çeşitli basamaklarında etkili farmakolojik ajanlar da bulunacaktır. Spinal kord yaralanmalarında en yaygın klinik kullanımı olan ajan metilprednizolondur.

Rivlin ve Tator'un klip kompresyon modeli uygulanarak spinal kord hasarı oluşturulan sıçanlarda, resveratrol ve quercetin uygulamalarının serum ve spinal kord doku örneklerinde TAOK düzeyi ve PON aktivitesi üzerine olası etkilerini ayrıca histopatolojik değişikliklere olan etkilerini araştırmak için yaptığımız bu çalışmanın sonucunda elde ettiğimiz verilere göre; bu ajanların tekli ve birlikte kullanımının biyokimyasal olarak elde edilen TAOK düzeyine ve PON aktivitesine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar izlenmiş olup bu ajanların spinal kordu ikincil hasardan muhtemelen antioksidan etki ile koruduğu sonucu elde edildi. Bu ajanların tekli ve birlikte kullanımının histopatolojik olarak travma grubuyla karşılaştırıldığında PMNL infiltrasyonunu azalttığı görüldü. Bu ajanların PMNL infiltrasyonunu antiinflamatuvar etki ile azalttığını düşündük. Elde ettiğimiz biyokimyasal ve histopatolojik verilere dayanarak her iki ajanın birbirine anlamlı bir üstünlüğü olmadığını gördük.

Çalışmamızda; Resveratrol ve Quercetin'in Rivlin ve Tator'un klip kompresyon modeli kullanılarak yapılan spinal kord hasarlanması sonrası

uygulanmasının spinal kord travmasında birincil hasardan sonra gelişen ikincil hasardan spinal kordun korunması için resveratrol ve quercetin ayrı ayrı ve birlikte tedavi amaçlı kullanılabilir. Spinal kord travmalarında, Resveratrol ve Quercetin'in daha geniş kapsamlı çalışmalar neticesinde gelecekte tedavi protokolünde yer alabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Karamehmetoglu SS, Unal S, Karacan I, Yılmaz H, Togay HS, Ertekin M, Dosoglu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T: Traumatic spinal cord injuries in Istanbul, Turkey . An epidemiological study. *Paraplegia*. 1995; 33 (8): 469-471.
2. Hancı, M. Vertebromedullar Yaralanmaların Tarihçesi. Murat Hancı, Önder Aydıngöz, editör. *Medulla Spinalis Yaralanmaları*. İstanbul: Logos Yayıncılık; 2000. S.1- 4.
3. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kimap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalınkılıc 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.
4. 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.
5. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev*. 1996 Apr; 76(2): 319- 370.
6. Huges T. Neuropathology of the spinal cord. In: Young RR, Woolsey RM, editörs. *Diagnosis and Management of Disorders of the spinal cord*. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 49- 67.
7. Tator CH, Edmonds VE. Acute spinal cord injury; analysis epidemiological factors. *Can J Surg*. 1979 Nov; 22(6): 575- 578.
8. Hardman JM. Cerebrospinal Trauma. In: Davis RL, Robertson DM, editörs. *Textbook of Neuropathology*. Baltimore: William-Wilkins; 1997. 1212- 1215.
9. 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.
10. Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi. İç: Aksoy K, Paloğlu S, Pamir N, Tuncer R. *Temel Nöroşirürji*. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbacılık Hizmetleri; 2005. s. 1144- 1156.
11. Sayın O, Arslan N, Güner G. Resveratrol and Cardiovascular system. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2008; 33 (3): 117-121.

12. Çimen MB. Flavonoids and their Antioxidant properties. *T Klin J Med Sci.* 1999; 19: 296- 304.
13. Marketos SG, Skiadas P. Hippocrates. The father of spine surgery. *Spine.* 1999 Jul 1; 24(13): 1381- 1387.
14. Celsus AC. *De Medicana* (transl Spencer WG). Cambridge, MA: Harvard University Press, 1935-1938.
15. Goodrich JT. History of spine surgery in the ancient and medieval worlds. *Neurosurg Focus.* 2004; 16 (1): 1-13.
16. Marketos SG, Skiadas PK. Galen: A pioneer of spine research. *Spine.* 1999 Nov 15; 24(22): 2358-2362.
17. Alberstone CD, Naderi S, Benzel EC. History of spine surgery. In : Benzel EC, editörs. *Spine surgery. Techniques, Complication avoidance and management.* 2 nd ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005. p. 1- 21.
18. Sontag VKH. History of spinal disorders. In: Menezes AH and Sontag VKH editörs. *Principles of spinal surgery.* New York: Mc Graw-Hill; 1996. p. 3- 23.
19. Wiltse LL. The history of spinal disorders. In: Frymoyer JW editör. *The adult spine. Principles and practice.* Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. p. 3- 40.
20. Pare A. *Oeuvres.* Paris: 1958. p. 528- 551.
21. Sait N, Zileli M, Özer AF. Omurga cerrahisinin tarihçesi. İç: Zileli M ve Özer AF, editörler. *Omurluk ve omurga cerrahisi, 2. baskı.* İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002. s. 1- 13.
22. Montane I. Historical perspectives of spinal trauma. In: Erlico Ü, Baver RD, Waugh T editörs. *Spinal trauma.* Philadelphia: JB Lippincott; 1991. p. 1- 9.
23. Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine.* 2003; 28 (13): 1481- 1484.
24. Wagner FC, Dohrmann GJ, Bucy PC. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. *J Neurosurg.* 1971;35: 272- 276.
25. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC. The microvascularity in transitory traumatic paraplegia. An electron microscopic study in monkey. *J Neurosurg.* 1971; 35: 263-271.

26. 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.
27. Bullock R, Fujisawa H. The role of glutamate antagonist for the treatment of CNS injury. *J Neurotrauma.* 1992 May; 9 Suppl 2: 443-462.
28. Zileli M, Gülmen V. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. In: Zileli M, Özer F editörler. Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002. 833-839.
29. Kaptanoğlu E, Tator CH. Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. In: Zileli M, Özer F, editörler. Omurilik ve omurga cerrahisi, 2. baskı. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri; 2002. 813- 832.
30. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurg.* 1999 May; 44(5): 1027- 1040.
31. Popp AJ, Feustel P, Kimbelberg HK. In: Wilkins RH, Rengachary SS editörs. *Neurosurgery.* 2 nd ed. Philadelphia: McGraw Hill; 1996. 2623- 2637.
32. Allen AR. Remarks on the histopathological changes in spinal cord due to impact. *J Nerv Ment Dis.* 1914; 41: 141- 147.
33. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie.* 1991; 37(5): 291- 302.
34. Anthes DL, Theriault E, Tator CH. Ultrastructural evidence for arteriolar vasospasm after spinal cord trauma. *Neurosurgery.* 1996 Oct; 39(4): 804- 814.
35. Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Three- dimensional analysis of the vascular system in the rat spinal cord with scanning electron microscopy of vascular corrosion casts. Part 2: acute spinal cord injury. *Neurosurg.* 1993 Aug; 33(2): 285-291.
36. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg.* 1991 Jul; 75(1): 15- 26.
37. Ducker TB, Kindt GW, Kempe JG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurgery.* 1971 Dec; 35(6): 700- 708.

38. Nemecek S. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol.* 1978; 20: 395- 405.
39. 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.
40. 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.
41. Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol.* 1998 Oct; 56(3): 341-358.
42. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The effect of nimodipine and dextran on axonal function and blood flow following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg.* 1989 Sep; 71(3): 403- 416.
43. Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Rev Respir Dis.* 1989 Aug; 140(2): 531-554.
44. Hall ED, Wolf DL. A pharmacological analysis of the pathophysiological mechanisms of posttraumatic spinal cord ischemia. *J Neurosurg.* 1986 Jun; 64(6): 951-961.
45. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory aminoacids as a final common pathway for neurological disorders. *N Eng J Med.* 1994 Mar 3; 330(9): 613- 622.
46. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksit. *Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri.* Ankara: Palme; 2003.
47. Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs.* 1991; 42(4): 569- 605.
48. McCord JM, Fridovich I. Superoxide Dismutase, An Enzymic Function For Erythrocytes. *The Journal of Biological Chemistry.* 1969; 244: 6049-6055.
49. Freeman BA, Crapo ID. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982; 47(5): 412-426.
50. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med.* 1987 Oct; 107(4): 526-545.

51. Bracken MB ve ark. A randomized controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. *N Eng J Med.* 1990 May 17; 322(20): 1405- 1411.
52. 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.
53. Bruce AF, Crapo JD. Biology of disease; Free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982; 47(5): 412- 426.
54. Hue RT, Padmaja S. The reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res Commun.* 1993; 18: 195-199.
55. Paolin A, Nardin L, Gaetani P, Rodriguez YBR, Pansarasa O, Marzatico F. Oxidative damage after severe head injury and its relationship to neurological outcome. *Neurosurgery.* 2002 Oct; 51(4): 949- 954.
56. Rosenblat M, Karry R, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is a more potent antioxidant and stimulant of macrophage cholesterol efflux, when present in HDL than in lipoprotein-deficient serum: relevance to diabetes. *Atherosclerosis.* 2006 Jul; 187(1): 74- 81.
57. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol.* 2005 Feb 15; 69(4): 541- 50.
58. Mackness B, McElduff P, Mackness MI. The paraoxonase-2-310 polymorphism is associated with the presence of microvascular complications in diabetes mellitus. *J Intern Med.* 2005 Oct; 258(4): 363- 368.
59. Baum L, Ng HK, Woo KS, Tomlinson B, Rainer TH, Chen X, Cheung WS, Chan DK, Thomas GN, Tong CS, Wong KS. Paraoxonase 1 gene Q192R polymorphism affects stroke and myocardial infarction risk. *Clin Biochem.* 2006 Mar; 39(3): 191- 195.
60. Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Vignini A, Curatola G. Copper-induced oxidative damage on astrocytes: protective effect exerted by human high density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta.* 2003; 1635: 48-54.
61. Ferretti G, Bacchetti T, Busni D, Rabini RA, Curatola G. Protective effect of paraoxonase activity in high-density lipoproteins against erythrocyte membranes peroxidation: a comparison between healthy subjects and type1 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Jun; 89(6): 2957-2962.

62. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billicke S, Draganov D, Rosenblat M. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation*. 2000 May 30; 101(21): 2510-2517.
63. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1995 Dec; 96(6): 2882-2891.
64. Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJ, Mackness MI. Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin Sci (Lond)*. 2000 Mar; 98(3): 355-363.
65. James RW, Deakin SP. The importance of highdensity lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity. *Free Radic Biol Med*. 2004 Dec 15; 37(12): 1986-1994.
66. Rael LT, Bar-Or R, Aumann RM, Slone DS, Mains CW, Bar-Or D. Oxidation-reduction potential and paraoxonase-arylesterase activity in trauma patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 361(2): 561-565.
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. Regan FR. The vulnerability of spinal cord neurons to excitotoxic injury: Comparison with cortical neurons. *Neurosci Lett*. 1996; 213 (1): 9- 12.
69. Alessandri B, Bullock R. Glutamate and its receptors in the pathophysiology of brain and spinal cord injuries. *Prog Brain Res*. 1998; 116: 303-330.
70. Panter SS, Yum SW, Faden AI. Alteration in extracellular amino acids after traumatic spinal cord injury. *Ann Neurol*. 1990 Jan; 27(1): 96- 99.
71. Simpson RK, Robertson CS, Goodman JC. Spinal cord ischaemia- induced elevation of amino acids: Extracellular measurement with microdialysis. *Neurochem Res*. 1990; 15(6): 635-639.
72. Osterholm JL, Mathews GJ. Altered norepinephrine metabolism following experimental spinal cord injury: Part I. Relationship to hemorrhagic necrosis and postwounding neurological deficits. *J Neurosurg*. 1972; 36(4): 386- 394.

73. Wilberger JE. Pharmacological resuscitation for spinal cord injury. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT editörs. Neurotrauma. New York: McGraw-Hill; 1996. 1219- 1221.
74. Young W. The post injury respons in trauma and ischemia. Secondary injury or protective mechanisms. Cent Nerv Syst Trauma. 1991; 4: 27- 51.
75. Faden AL, Simon RP. A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. Ann Neurol. 1988; 23(6): 623- 626.
76. Rothman SM, Olney JW. Excitotoxicity and the NMDA receptor. Trends Neurosci. 1987; 10 (7): 299- 302.
77. Faden AI, Ellison JA, Noble LJ. Effects of competitive and noncompetetive and NMDA receptors antagonists in spinal cord injury. Eur J Pharmacol. 1990; 175(2) : 165-174.
78. Gomez-Pinilla F, Tram H, Cotman CW, et al. Neuroprotective effect of MK- 801 and U- 50488H after contusive spinal cord injury. Exp Neurol. 1989; 104(2) : 118-124.
79. Faden A, Lemke M, Simon R, Noble L. N- methyl- D- Aspartate antagonist MK- 801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: Behavioral, anatomic and neurochemical studies. J Neurotrauma. 1988; 5(1): 33- 45.
80. Teng YD, Wrathall JR. Evaluation of cardiorespiratory parameters in rats after spinal cord trauma and treatment with NBQX, an antagonist of excitatory amino acid receptors. Neurosci Lett. 1996 May; 209(1): 5- 8.
81. Wrathall JR, Teng YD, Choiniere D, Mundt DJ. Evidence that local non-NMDA receptors contribute to functional deficits in contusive spinal cord injury. Brain Res. 1992 Jul 17; 586(1): 140- 143.
82. Koh J, Goldberg MP, Hartley DM, et al. Non- NMDA receptor- mediated neurotoxicity in cortical culture. J Neurosci. 1990 Feb; 10(2): 693- 705.
83. Young W, Huang P, Kume K. Cellular, ionic and biomolecular mechanisms of the injury process. In: Bazel EC, Tator CH editörs. Illinosis: AANS; 1995. p. 27- 42.
84. 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.

85. Diana A, Setzu M, Sirigu S, Diaz G. Nuclear patterns of apoptotic and developing neurons of superior cervical ganglion of newborn rat. *Int J Dev Neurosci.* 1993 Dec; 11(6): 773- 780.
86. Faden AI, Chan PH, Longar S. Alterations in lipid metabolism, Na⁺ -K⁺ ATPase activity and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J Neurochem.* 1987 Jun; 48(6): 1809- 1816.
87. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacology.* 2001; 24 (5): 265- 279.
88. Hayes KC, Potter PJ, Wolfe DL, Hsieh JT, Delaney GA, Blight AR. 4-Aminopyridine- sensitive neurologic deficits in patients with spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 1994; 11(4): 433- 446.
89. Bakshi R, Faden AI. Competitive and non- competitive NMDA antagonists limit dynorphin A- induced rat hindlimb paralysis. *Brain Res.* 1990 Jan 15; 507(1): 1- 5.
90. Zhang Z, Krebs CJ, Guth L. Experimental analysis of progressive necrosis after spinal cord trauma in the rat: Etiological role of the inflammatory response. *Experimental Neurology.* 1997; 143(1): 141- 152.
91. Bethea JR, Dietrich WD. Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury. *Current opinion in neurology.* 2002 Jun; 15(3): 355- 360.
92. 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.
93. Lu J, Waite P. Spine update: Advances in spinal cord regeneration. *Spine.* 1999 May; 24(9): 926- 930.
94. Choen JJ. Apoptosis. *Immunology Today.* 1993 Mar; 14(3): 126- 130.
95. Raff M. Cell suicide for beginners. *Nature.* 1998 Nov 12; 396(6707): 119- 122.
96. Chopp M, Chan PH, Hsu CY, Cheung ME, Jacobs TP. DNA damage and repair in central nervous system injury: National Institute of Neurological Disorders and Stroke Workshop Summary. *Stroke.* 1996 Mar; 27(3): 363 -369.

97. Johnson EM Jr, Greenlund LJ, Akins PT, Hsu CY. Neuronal apoptosis: current understanding of molecular mechanisms and potential role in ischemic brain injury. *J Neurotrauma*. 1995 Oct; 12(4): 843- 852.
98. Pettmann B, Henderson C.E. Neuronal cell death. *Neuron*. 1998 Apr; 20(4): 633-647.
99. Tymianski M. And Tator C. H. Normal and abnormal calcium homeostasis in neurons: a basis for the pathophysiology of traumatic and ischemic central nervous system injury. *Neurosurgery*. 1996 Jun; 38(6): 1176- 1195.
100. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci*. 1997 Jul 15; 17(14): 5395- 5406.
101. Saikumar P, Dong Z, Weinberg JM, Venkatachalam MA. Mechanisms of cell death in hypoxia/reoxygenation injury. *Oncogene*. 1998 Dec 24; 17(25): 3341-3349.
102. Emery E, Aldana P, Bunge MB, Puckett W, Srinivasan A, Keane RW, Bethea J, Levi AD. Apoptosis after traumatic human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1998 Dec; 89(6): 911- 920.
103. Crowe MJ, Bresnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med*. 1997 Jan; 3(1): 73- 76.
104. Springer JE, Azbill RD, Knapp PE. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in traumatic spinal cord injury. *Nat Med*. 1999 Aug; 5(8): 943- 946.
105. Yakovlev AG, Knoblach SM, Fan L, Fox GB, Goodnight R, Faden AI. Activation of CPP32-like caspases contributes to neuronal apoptosis and neurological dysfunction after traumatic brain injury. *J Neurosci*. 1997 Oct; 17(19): 7415- 7424.
106. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Bethea JR, Krajewski S, Reed JC, Dietrich WD: Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001 May;60(5): 422-429.
107. Ray SK, Hogan EL, Banik NL. Calpain in the pathophysiology of spinal cord injury: neuroprotection with calpain inhibitors. *Brain Res. Reviews*. 2003 May; 42(2): 169- 185.

108. Colak A, Karaoğlan A, Barut S, Kktrk S, Akyildiz AI, Taşyrekli M. Neuroprotection and functional recovery with the caspase 9, Inhibitor Z- LEHD-fmk in a rat model of traumatic spinal cord injury. *J Neurosurg.* 2005 Mar; 2(3): 327-334.
109. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Spinal Cord Injury Workshop: Secondary Damage. Emerging Concepts An NIH Workshop. URL: <http://www.ninds.nih.gov/HEALINFO/ DISORDER/SCI-report/undrstdg.html> 1998.
110. Popovich PG, Stokes BT, Whitacre CC. Concept of autoimmunity following spinal cord injury: possible roles for T lymphocytes in the traumatized central nervous system. *J Neurosci Res.* 1996 Aug 15; 45(4): 349- 363.
111. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J. Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin Neuropharmacology.* 2001; 24(5):254- 264.
112. İsaksson J, Farooque M, Olsson Y. Spinal cord injury in ICAM-1 deficient mice: assessment of functional and histopathological outcome. *J Neurotrauma.* 2000 Apr; 17(4): 333- 344.
113. Dohrmann GJ. Experimental spinal cord trauma. *Arc Neurol.* 1972; 27: 468- 473.
114. Hartmann A, Yatsu F, Kuschinsky W. Cerebral ischemia and Basic Mechanisms. Berlin: Springer-Verlag Press, Heidelberg; 1994.
115. Kehrer JP. Free radicals on mediators of tissue injurd and disease. *Crit Rev Toxicol.* 1993; 23(1): 21-48.
116. 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.
117. Bge OZ. Medulla Spinalis Yaralanmalarında patoloji.İç: Murat Hancı, nder Aydıngz, editör. *Medulla Spinalis Yaralanmaları.* İstanbul: Logos Yayıncılık; 2000. S.137-142.
118. Ellison D, Chimelli L, Harding B, Love S, Lowe J, Lowe J. *Neuropathology. A reference text of CNS pathology.* London: Mosby-Year Book; 1998. p. 1121- 1123.
119. Guha A, Tator CH. Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury rats. *Stroke.* 1989 Mar; 20(3): 372- 377.

120. Kakulas BA. Pathology of spinal injuries. *Cent Nerv Syst Trauma*. 1984; 1(2):117-129.
121. Wang R, Ehara K, Tamaki N. Spinal cord edema following freezing injury in the rat: relationship between tissue water content and spinal cord blood flow. *Surg Neurol*. 1993 May; 39(5): 348- 354.
122. Dolan EJ, Tator CH. The effect of blood transfusion, dopamine, and gamma hydroxybutyrate on posttraumatic ischemia of the spinal cord. *J Neurosurg*. 1982 Mar; 56(3): 350- 358.
123. Brinley FJJ, Tiffert T, Scarpa A. Mitochondria and other calcium buffers of squid axon studied in situ. *J Gen Physiol*. 1978 Jul; 72(1): 101- 127.
124. De Girolami U, Frosch MP, Richardson EP. Regional Neuropathology: Diseases of the spinal cord and vertebral Column. In: Graham DI, Lantos PL editörs. *Greenfield's Neuropathology*. London; Arnold Pub: 1997. p. 1095-1121.
125. Anderson T. Spinal cord contusion injury: experimental dissociation of hemorrhagic necrosis and subacute loss of axonal conduction. *J Neurosurg*. 1985 Jan; 62(1): 115- 119.
126. Hu YM, Benedict MA, Ding LY. Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf- I- mediated caspase- 9 activation and apoptosis. *EMBO J*. 1999; 18: 3586- 3595.
127. Lemke M, Demediuk P, McIntosh TK, Vink R, Faden AI. Alterations in tissue Mg^{++} , Na^{+} and spinal cord edema following impact trauma in rats. *Biochem Biophys Res Com*. 1987 Sep 30; 147(3): 1170- 1175.
128. Blight AR. Remyelination revascularization and recovery of function in experimental spinal cord injury. *Adv Neurolo*. 1993; 59: 91- 104.
129. Blight AR, Zimper MP. Acute spinal cord injury: Pharmacotherapy and drug development perspectives. *Current Opinion in Investigational Drugs*. 2001 Jun; 2(6): 801- 808.
130. Marion DW. Head and spinal cord injury. *Neurol Clin*. 1998; 16(2): 485- 502.
131. Braughler JM, Hall ED, Means ED, et al. Evaluation of an intensive methylprednisolone sodium succinate dosing regimen in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg*. 1987 Jul; 67(1): 102- 105.

132. Braughler JM, Hall ED. Current application of “high dose” steroid therapy for CNS injury. A pharmacological perspective. *J Neurosurg.* 1985 Jun; 62(6): 806-810.
133. Hall ED. The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone. *J Neurosurg.* 1992 Jan; 76(1): 13- 22.
134. Bracken MB, Collins WF, Freeman DF, et al . Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *J Am Med Assoc.* 1984 Jan; 251(1): 45- 52.
135. Bracken MB, Shepard MJ, Hellenbrand KG. Methylprednisolone and neurological function 1 year after spinal cord injury. Results of the National Acute Spinal Cord Injury Study. *J Neurosurg.* 1985 Nov; 63(5): 704- 713.
136. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al. Methylprednisolone or naloxone treatment after acute spinal cord injury: 1 year follow-up data. *J. Neurosurg* 1992 Jan; 76(1): 23- 31.
137. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, et al. Methylprednisolon or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1 year follow-up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J Neurosurg.* 1998 Nov; 89(5): 699- 706.
138. Stys PK, Ransom BR, Waxman SG. Tertiary and quaternary local anesthetics protect CNS white mater from anoxic injury at concentrations that do not block excitability. *J Neurophysiol* 1992 Jan; 67(1): 236- 240.
139. Agrawal SK, Fehlings MG. The effect of the sodium channel blocker QX-314 on recovery after acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1997 Feb; 14(2): 81- 88.
140. 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.
141. 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.
142. 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.

143. Faden AI, Jabos TP. Effect of TRH analogs on neurologic recovery after experimental spinal trauma. *Neurology*. 1985 Sep;35(9): 1331- 1334.
144. Imanaka T, Hukuda S, Maeda T. The role of GM-1 ganglioside in the injured spinal cord of rats. *J Neurotrauma*. 1996 Mar; 13(3): 163- 170.
145. Rhoney DH, Luer MS, Hughes M, Hatton J. New pharmacologic approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy*. 1996 May- Jun; 16(3): 382- 392.
146. Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, Taoka Y, Takagi K. Effects of EPC-K1 on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine*. 2000 Jan; 25(1): 24- 29.
147. Kaptanoglu E, Tuncel M, Palaoglu S, et al. Comparison of the effects melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg*. 2000 Jul; 93(1 suppl): 77- 84.
148. Agrawal SK, Fehlings MG. Role of NMDA and non-NMDA ionotropic glutamate receptors in traumatic spinal cord axonal injury. *J Neurosci*. 1997 Feb 1; 17(3): 1055- 1063.
149. Colak A, Soy O, Uzun H, Aslan O, Barut S, Belce A, Akyildiz A, Taşyürekli M. Neuroprotective effects of GYKI 52466 on experimental spinal cord injury in rats. *J Neurosurg*. 2003 Apr; 98(3 suppl): 275- 281.
150. Li M, Ona VO, Chen M, Kaul M, Tenneti L, Zhang X, Stieg PE, Lipton SA, Friedlander RM. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience*. 2000; 99(2): 333- 342.
151. Shi R, Asano T, Vining NC, Blight AR. Control of membrane sealing in injured mammalian spinal cord axons. *J Neurophysiol* 2000 Oct; 84(4): 1763- 1769.
152. Resnick DK, Graham SH, Dixon CE, Marion DW. Role of cyclooxygenase-2 in acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1998 Dec; 15(12): 1005-1013.
153. Giulian D, Robertson C. Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol*. 1990 Jan;27(1): 33–42.
154. Li Y, Cao Z, Zhu H. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Pharmacol Res*. 2006 Jan;53(1): 6–15.

155. Chen RS, Wu PL, Robin YY. Peanut roots as a source of resveratrol. *J Agric Food Chem.* 2002 Mar 13;50(6):1665-1667.
156. Wu JM, Wang ZR, Hsieh TCH, Bruder JL, Zou JG, Huang YZ. Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine. *Inter J Mol Med.* 2001 Jul;8(1):3-17.
157. Wenzel E, Somoza V. Metabolism and bioavailability of trans resveratrol. *Mol Nutr Food Res.* 2005 May;49(5):472-481.
158. Kerry NL, Abey M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis.* 1997 Nov;135(1):93-102.
159. Pace-Asciak CR, Hahn S, Dimandis EP, Soleas G, Goldberg DM. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta.* 1995 Mar 31;235(2):207-210.
160. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slaving KV, Thomas CF, Beecher CW, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science.* 1997 Jan 10;275(5297):218-220.
161. Mgbonyebi OP, Russo T, Russo IH. Antiproliferative effects of synthetic resveratrol on human breast epithelial cells. *Int J Oncol.* 1998 Apr;12(4): 865-869.
162. de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans.* 2007 Nov; 35(Pt5):1156-1160.
163. Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv.* 2006 Feb;6(1):36-47.
164. Sun AY, Chen YM, James-Kracke M, Wixom P, Cheng Y. Ethanol induced cell death by lipid peroxidation in PC12 cells. *Neurochem Res.* 1997 Oct;22(10): 1187-1192.
165. Hung LM, Chen JK, Lee RS, Liang NC, Su MJ. Beneficial effects of astringinin, a resveratrol analogue, on the ischemia and reperfusion damage in rat heart. *Free Radic Biol Med.* 2001 Apr 15;30(8):877-883.

166. Sun AY, Sun GY. Ethanol and oxidative mechanisms in the brain. *J Biomed Sci.* 2001 Jan-Feb; 8(1): 37-43.
167. Burkhardt S, Reiter RJ, Tan DX, Hardeland R, Cabrera J, Karbownik M. DNA oxidatively damaged by chromium and H₂O₂ is protected by the antioxidants melatonin, N(1)-acetyl-N(2)-formyl-5-methoxykynuramine, resveratrol and uric acid. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001Aug; 33(8):775-783.
168. Mizutani K, Ikeda K, Kawai Y, Yamori Y. Protective effect of resveratrol on oxidative damage in male and female stroke prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001 Jan-Feb; 28(1-2):55-59.
169. Ray PS, Maulik G, Cordis GA, Bertelli AA, Berlli A, Das DK. The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat hearts from ischemia reperfusion injury. *Free Radic Biol Med.* 1999 Jul; 27(1-2): 160-169.
170. Moutsatsou P. The spectrum of phytoestrogens in nature: our knowledge is expanding. *Hormones.* 2007;6(3):173-193.
171. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 19–34.
172. Vedavanam K, Sriyayanta S, Reilly JO, Raman A, Wiseman H. Antioxidant action and potential antidiabetic properties of an isoflavonoid-containing soyabean phytochemical extract (SPE). *Phytotherapy Research.* 1999 Nov;13(7): 601-608.
173. Naderi GA, Asgary S, Sarraf- Zadegan N, Shirvany H. Anti-oxidant effect of flavonoids on the susceptibility of LDL oxidation. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2003 Apr;246(1-2):193–196.
174. Tang X, Zhang C, Zeng W, Mi Y, Liu H. Proliferating effects of the flavonoids daidzein and quercetin on cultured chicken primordial germ cells through antioxidant action. *Cell Biology International.* 2006; 30(5) 5, 445- 451.
175. Jovanovic SV, Stenken S, Tosic M, Marjanovic B, Simic MG. Flavonoids as antioxidants. *Journal American Chemical Society.* 1994; 116(4): 4846-4851.
176. Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9(1): 19-21.

177. de Whalley CV, Rankin SM, Hoult JR, Jessup W, Leake DS. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins. *Biochem Pharmacol.* 1990 Jun 1;39(11): 1743-1749.
178. Della Loggia R, Ragazzi E, Tubaro A, Fassina G, Vertua R. Anti-inflammatory activity of benzopyrones that are inhibitors of cyclo- and lipo-oxygenase. *Pharmacol Res Commun.* 1988 Dec;20(5 Suppl): 91-94.
179. Kim HP, Mani I, Ziboh VA. Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase from guinea pigs. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1998 Jan;58(1): 17-24.
180. Schültke E, Kamencic H, Skihar VM, Griebel R, Juurlink B. Quercetin in an animal model of spinal cord compression injury: correlation of treatment duration with recovery of motor function. *Spinal Cord.* 2010 Feb;48(2):112-117.
181. Liu JB, Tang TS, Yang HL. Antioxidation of quercetin against spinal cord injury in rats. *Chin J Traumatol.* 2006 Oct; 9(5): 303-307.
182. Dajas F, Rivera-Megret F, Blasina F, Arredondo F, Abin-Carriquiry JA, Costa G, Echeverry C, Lafon L, Heizen H, Ferreira M, Morquio A. Neuroprotection by flavonoids. *Braz J Med Biol Res.* 2003 Dec; 36(12): 1613-1620.
183. Esposito E, Rotilio D, Di Matteo V, Di Giulio C, Cacchio M, Algeri S. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. *Neurobiol Aging.* 2002 Sep- Oct; 23(5): 719- 735.
184. Luo Y, Smith J, Paramasivam V, Burdick A, Curry KJ, Buford JP, Khan I, Netzer WJ, Xu H, Butko P. Inhibition of amyloid-beta aggregation and caspase-3 activation by Ginkgo biloba extract EGb761. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 Sep 17; 99(19): 12197- 12202.
185. Zimmermann M, Colciaghi F, Cattabeni F, Di Luca M. Ginkgo biloba extract: from molecular mechanisms to the treatment of Alzheimer's disease. *Cell Mol Biol.* 2002 Sep; 48(6): 613- 623.
186. Santos NC, Figueira-Coelho J, Martins-Silva J, Saldanha C. Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide: pharmacological, cellular, and molecular aspects. *Biochem Pharmacol.* 2003 Apr; 65(7): 1035-1041.

187. de la Torre JC. Biological actions and medical applications of dimethyl sulfoxide. *Ann NY Acad Sci.* 1983; 411: 1-403.
188. de la Torre JC. Role of dimethyl sulfoxide in prostaglandin-thromboxane and platelet systems after cerebral ischemia. *Ann NY Acad Sci.* 1983; 411: 293-308.
189. Park DA. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery.*1983; 94: 415-422.
190. Goldsmith HS. Can the standard treatment of acute spinal cord injury be improved? Perhaps the time has come. *Neurol Res.* 2007 Jan; 29(1): 16-20.
191. de la Torre JC. Synergic activity of combined prostacyclin: dimethyl sulfoxide in experimental brain ischemia. *Can J Physiol Pharmacol.* 1991Feb; 69(2): 191-198.
192. Kajihara K, Kawanaga H, de la Torre JC, Mullan S. DMSO in the treatment of experimental acute spinal cord injury. *Surg Neurol.* 1973 Jan; 1(1): 16- 22.
193. Gelderd JB, Fife WP, Bowers DE, Deschner SH, Welch DW. Spinal cord transection in rats: Therapeutic effects of dimethyl sulfoxide & hyperbaric oxygen. *Ann NY Acad Sci.* 1983; 411: 218- 233.
194. Gelderd JB, Welch DW, Fife WP, Bowers DE. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen and dimethyl sulfoxide following spinal cord transections in rats. *Undersea Biomed Res.* 1980 Dec; 7(4): 305- 320.
195. Heymann LD. Dimethyl sulfoxide-dog spinal trauma. *J Am Vet Med Assoc.* 1986 Jun 15; 188(12): 1364- 1365.
196. Rucker NC, Lumb WV, Scott RJ. Combined pharmacologic and surgical treatments for acute spinal cord trauma. *Am J Vet Res.* 1981 Jul; 42(7): 1138- 1142.
197. Chiueh CC, Wu RM, Mohanakumar KP, Sternberger LM, Krishna G, Obata T. In vivo generation of hydroxyl radicals and MPTP-induced dopaminergic toxicity in the basal ganglia. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Nov 17;738: 25- 36.
198. Zileli M, Ovul I, Dalbasti T. Effects of methyl prednisolone, dimethyl sulphoxide and naloxone in experimental spinal cord injuries in rats. *Neurol Res.* 1988 Dec; 10(4): 232- 235.
199. Karacan İ, Karametmetoğlu ŞS. Spinal Kord Yaralanması Patofizyolojisi. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation.* 1998 Dec; 1(4): 68- 71.

200. Kanko M, Maral H, Akbas MH, Ozden M, Bulbul S, Omay O, Yavuz S, Berki KT. Protective effects of clopidogrel on oxidant damage in a rat model of acute ischemia. *Tohoku J Exp Med.* 2005 Feb; 205(2): 133- 139.
201. Aizenman E, Hartnett KA, Reynolds IJ. Oxygen free radicals regulate NMDA receptor function via a redox modulatory site. *Neuron.* 1990 Dec; 5(6): 841- 846.
202. Chu GK et al. Calcium and neuronal death in spinal neurons. In: Kalb RG, Strittmatter SM (eds). *Neurobiology of Spinal Cord Injury.* Totowa- NJ: Humana Press Inc; 2000.
203. Schmidley JW. Free radicals in the central nervous system ischemia. *Stroke* 1990 Jul; 21(7): 1086-1090.
204. Dalkara T et al. Constitutive nitric oxide synthase and ischemic/excitotoxic brain injury. In: Ruffolo RR et al editörs. *Inflammatory Cells and Mediators in CNS Diseases.* Amsterdam: New Academic Publishers; 1999.
205. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med.* 1999 Apr;26(7-8): 892-904.
206. Buki A, Okonkwo DO, Povlishock JT. Postinjury cyclosporin A administration limits axonal damage and disconnection in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.*1999 Jun; 16(6): 511-521.
207. Anderson DK, Saunders RD, Demediuk P. Lipid hydrolysis and peroxidation in injured spinal cord: partial protection with methylprednisolone or vitamin E and selenium. *Centr Nerv syst Trauma.* 1985; 2(4): 257-267.
208. Balentine JD. Pathology of experimental spinal cord trauma. *Lab invest.* 1978; 39(3): 236-253.
209. Paterniti I, Genovese T, Crisafulli C, Mazzon E, Di Paola R, Galuppo M, Bramanti P, Cuzzocrea S. Treatment with green tea extract attenuates secondary inflammatory response in an experimental model of spinal cord trauma. *Arch Pharmacol.* 2009 Aug; 380(2): 179-192.
210. Berker C et al. Curcumin improves early functional results after experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien).* 2010 Jun 10.

211. Kimura Y, Okuda H, Arichi S. Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. *Biochim Biophys Acta*. 1985 Nov 14; 834(2): 275-278.
212. Ateş O, Çaylı S, Altinoz E, Gürses I, Yücel N, Koçak A, Yologlu S, Türköz Y. Effects of resveratrol and methylprednisolone on biochemical, neurobehavioral and histopathological recovery after experimental spinal cord injury. *Acta Pharmacol Sin*. 2006 Oct;27(10):1317-1325.
213. Yang YB, Piao YJ. Effects of resveratrol on secondary damages after acute spinal cord injury in rats. *Acta Pharmacol Sin*. 2003 Jul;24(7):703-710.
214. Kızıltepe U, Turan NN, Han U, Ulus AT, Akar F. Resveratrol, a red wine polyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. *J Vasc Surg*. 2004 Jul; 40(1): 138-145.
215. Heng LS, Lan BS, Jia Z, Wang PF, Fan LY. Protective effect of puerarin on the secondary spinal cord injury in rats. *Zhong Yao Cai*. 2009; 32(3): 395-397.
216. Genovese T, Mazzon E, Menegazzi M, Di Paola R, Muià C, Crisafulli C, Bramanti P, Suzuki H, Cuzzocrea S. Neuroprotection and enhanced recovery with hypericum perforatum extract after experimental spinal cord injury in mice. *Shock*. 2006; 25(6): 608-617.
217. Schültke E, Kendall E, Kamencic H, Ghong Z, Griebel RW, Juurlink BH. Quercetin promotes functional recovery following acute spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2003 Jun; 20(6):583-591.
218. Ates O, Cayli S, Altinoz E, Gurses I, Yucel N, Sener M, Kocak A, Yologlu S. Neuroprotection by resveratrol against traumatic brain injury in rats. *Mol Cell Biochem*. 2007 Jan; 294 (1-2):137-144.
219. Elmali N, Esenkaya I, Karadağ N, Taş F, Elmali N. Effects of resveratrol on skeletal muscle in ischemia-reperfusion injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2007 Oct;13(4):274-280.
220. Murat İkizler, Nilüfer Erkasap, Sadettin Dernek, Tuğrul Kural, Ziya Kaygısız. Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2007 Dec; 7(4): 404-410.

221. Turan NN, Akar F, Budak B, Seren M, Parlar AI, Sürücü S, Ulus AT. How DMSO, a widely used solvent, affects spinal cord injury. *Ann Vasc Surg.* 2008 Jan;22(1):98-105.
222. Albin MS, Bunegin L. An experimental study of craniocerebral trauma during ethanol intoxication. *Crit Care Med.* 1986 Oct;14(10): 841- 846.
223. Carvalho MO, Barros Filho TE, Tebet MA. Effects of methylprednisolone and ganglioside GM-1 on a spinal lesion: a functional analysis. *Clinics (Sao Paulo).* 2008 Jun;63(3):375-380.