

TC  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

BİR SIÇAN MODELİNDE DENEYSEL SPİNAL KORD İSKEMİ REPERFÜZYON  
HASARLANMASI ÜZERİNE BARNİDİPİN'İN ETKİLERİ

Uzmanlık Tezi

Dr. İskender Samet DALTABAN

Trabzon-2014

T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

BİR SIÇAN MODELİNDE DENEYSEL SPİNAL KORD İSKEMİ REPERFÜZYON  
HASARLANMASI ÜZERİNE BARNİDİPİN'İN ETKİLERİ

Uzmanlık Tezi

Dr. İskender Samet Daltaban

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ertuğrul Çakır

## **İÇİNDEKİLER;**

1-GİRİŞ

2-GENEL BİLGİLER

2-1-TARİHÇE

2-2-OMURİLİK ANATOMİSİ

2-3-OMURİLİK VASKÜLER ANATOMİSİ

2-4-OMURİLİK YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ

2-5-OMURİLİK YARALANMASININ TEDAVİSİ

2-6-BARNİDİPİN

3-MATERYAL VE METOD

4-BULGULAR

5-TARTIŞMA

6-SONUÇ

7-TÜRKÇE ÖZET

8-İNGİLİZCE ÖZET

9-KAYNAKLAR

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bana verdikleri destekten ötürü, Prof. Dr. Süleyman BAYKAL, Prof. Dr. Kayhan KUZEYLİ, Prof. Dr. Haydar USUL, Doç. Dr. Ertuğrul ÇAKIR hocalarıma, Uzm. Dr. Gürkan GAZİOĞLU, Uzm. Dr. Uğur YAZAR ve Uzm. Dr. Ali Rıza GÜVERCİN'e, deney aşamasında vermiş olduğu destekten ötürü Dr. Mehmet Selim GEL ve değerli mesai arkadaşlarıma, Dua ve emeklerini üzerimden eksik etmeyen rahmetli Babam, Annem ve kardeşlerime, ve sevgili eşim Tülay DALTABAN, biricik oğlum Hamit ve aramıza yeni katılan biricik kızım Ela Yağmur'a

TEŞEKKÜR EDERİM...

Dr. İskender Samet DALTABAN

## **KISALTMALAR**

**AMPA** Alfa-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate

**ATP** Adenozin trifosfat

**cAMP** Siklik adenozin monofosfat

**COX** Siklooksijenaz

**eNOS** Endotelial nitrik oksit sentaz

**EPO** Eritropoietin

**GABA** Gama amino butirik asit

**HE** Hematoksilen-Eozin

**H2O2** Hidrojen peroksit

**IL** İnterlökin

**iNOS** İnducible NOS

**MDA** Malondialdehit

**NMDA** N-metil-D-aspartat

**NO** Nitrik oksit

**NOS** Nitrik oksit sentaz

**PMNL** Polimorfonükleer lokosit

**TM** Trilazad mesilat

**TNF** Tümör nekrozis faktör

**TRH** Tirotropin saliverici hormon

**TTX** Tetrodotoksin

**TXA2** Tromboksan A2

**UBIO** UV kan irradyasyonu ve oksijenasyon

## 1-GİRİŞ

Akut travmatik omurilik yaralanmasının dünyadaki yıllık görülme sıklığı milyonda 15-40 olarak bildirilmiştir (1). 2002 verilerine göre Kuzey Amerika da her yıl ortalama 10000 yeni olgu, 2004 verilerine göre İngiltere de yıllık 700 yeni akut omurilik yaralanma olgusu bildirilmektedir. Türkiye de ise yıllık ortalama 1600-2000 ciddi akut omurilik yaralanması bildirilmektedir (2).

Omurilik yaralanmasının en sık sebebi; motorlu araç kazaları (%50), düşme ve iş kazaları (%30), şiddet suçları (%11) ve spor kazaları (%9) olarak bildirilmektedir(3). Erkek kadın oranı 4/1 dir (4). Omurilik yaralanması geçiren hastalar, sıklıkla sağlıklı genç hastalar (15-25 yaş) olmaları nedeniyle toplumsal açıdan önemlidir. Komplet spinal kord yaralanması sonrası işgücü kaybı ve tedavi masrafları göz önünde bulundurulduğunda, Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre ortalama yıllık vaka başına 1,5 milyon dolarlık harcamaya neden olmaktadır. Bu nedenle etkin tedavi yöntemlerinin bulunması toplumsal açıdan ciddi ekonomik, psikososyal ve fiziksel faydalar sağlayacaktır (5).

Akut spinal kord hasarı oluşumunda, primer-mekanik ve sekonder hasarlanma olmak üzere iki mekanizma olduğu hipotezi mevcuttur. Sekonder hasarlanma primer-mekanik hasarlanma tarafından tetiklenen birçok mekanizmanın rol oynadığı hasarlanma olarak tanımlanır (5). Primer-mekanik hasarlanma da doku tahribatı nekrotik hücre ölümüyle sonuçlanır. Sekonder hasarlanma ise primer-mekanik hasarın tetiklediği metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasardır (5, 6, 7). Sekonder hasarın oluşumunda iskemi önemli bir yere sahiptir. İskemi sonrası enerji yetersizliği olur ve dokular anaerobik solunumla bu olayı kompanse etmeye çalışır. Bu da birçok patolojik olayı tetikler (5, 6, 7). Sekonder hasarlanmanın önemli sebeplerinden birinin posttravmatik iskemi olduğu birçok araştırmada vurgulanmaktadır. Bazı araştırmacılar spinal travma sonrası spinal kordun kan akımını artırmak amacıyla; dopamin, adrenalin, nimodipin, dekstran ve kan transfüzyonu gibi yöntemler kullanmışlar ve bu yöntemlerin aksonal fonksiyonlarda iyileşmeye neden olduğunu göstermişlerdir (5). Yüksek doz Metilprednizolon'un nöroprotektif etkisi ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi nedeniyle spinal kord yaralanmasında yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (8).

Kalsiyum kanal blokörlerinin belirgin nöroprotektif etkisi olmasa da, spinal kord yaralanmasında mikrosirkülasyon ve omurilik perfüzyonu üzerine olumlu etkileri olduğu bilinmektedir (9).

Dihidropridin türevi olan, lipofilik karakterde, L-tipi kalsiyum kanallarına yüksek afinite gösteren Barnidipin; esas olarak esansiyel hipertansiyon tedavisinde kullanılıyor olup antihipertansif etkisi yanında diüretik ve sitoprotektif etkilerinin de olduğu bilinmektedir.

Daha önce deneysel spinal kord yaralanma modeliyle yapılan omurilik hasarlanmasında kalsiyum kanal blokörü olan Barnidipin'in etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışma Barnidipin'in sıçanlarda

spinal kord hasarlanmasındaki etkilerini araştırmak ve daha önce yapılan çalışmalarda olumlu etkileri gösterilmiş olan metilprednizolon ile karşılaştırılması amacıyla planlanmıştır.

## 2-GENEL BİLGİLER

### 2-1 TARİHÇE

Omurilik travması eski çağlardan beri tanı ve tedavisi araştırılan bir problemdir. Bu konuyla ilgili ilk yazılara mısırlılar tarafından yazılmış, Edwin Smith papirüslerinde rastlanmaktadır (10). Hipokrat paraplejiyi tarif etmiş ve bir traksiyon cihazı geliştirmiştir. Schamus tarafından 1890 yılında tavşan omuriliğinde travma sonrası oluşan patolojik değişiklikler incelenerek omurilik yaralanması ile ilgili ilk fizyopatolojik çalışma yapılmıştır (6). Hipokrat'ın özellikle spinal anatomi hakkında ciddi çalışmaları olmuştur. Spinal dislokasyonların düzeltilmesi amacıyla iki alet tasarlamıştır. Spinal kordun yarım kesisi sonrası hemiplejiyi tarif eden Galen'in spinal anatomi ve fizyoloji üzerine çalışmaları mevcuttur (11). Allen ve arkadaşları köpeklerde myelotomi ve posttravmatik hematomyelinin çıkarılması ile nörolojik fonksiyonlarda düzelme olduğunu göstererek, posttravmatik otodestruksiyonu ilk defa deneysel olarak göstermişlerdir (12). 1911 yılında Allen tarafından köpeklerde ağırlık düşürme yöntemi kullanılarak, akut kord travmasında kordun kompresyonunu stimüle etmek için ilk deneysel model kullanılmıştır. Ayrıca akut distraksiyon sonucu gelişen omurilik yaralanmasına yönelik başka modellerde kullanılmıştır (12). İlk kord akut ekstradural klip kompresyonu Kanada Toronto niversitesi tarafından 1978 yılında gerçekleştirilmiştir (13). Birçok araştırmacı farklı modeller deneyerek akut spinal kord yaralanmasındaki sekonder patofizyolojik olaylar üzerine çalışmalar yapmıştır (5, 14).

## 2-2 OMURİLİK ANATOMİSİ

Omurilik omurgayı oluşturan omurlar içinde bulunan kanal boyunca uzanan sinir dokusudur. Vücut ile beyin arasındaki iletimi sağlar. Organlardan beyne, beyinden organlara giden sinirler omurilikte çapraz yaparak giderler. Omurilik foramen magnum seviyesinde beyinle birleşir. Omurilikten 31 çift sinir çıkar ve her biri vücudun belirli bir bölgesine hizmet eder (15).

Sinir sisteminin bir parçası olan omurilik vertebral kanalın 2/3 üst kısmını kaplar. Erkeklerde ortalama 45 cm kadınlarda ise 42-43 cm ağırlığı ise yaklaşık olarak 30 gr'dır (16).



**Şekil 1a ve 1b:** Serebral, serebellar ve omurilik dokusu bütün olarak gösterilmektedir.

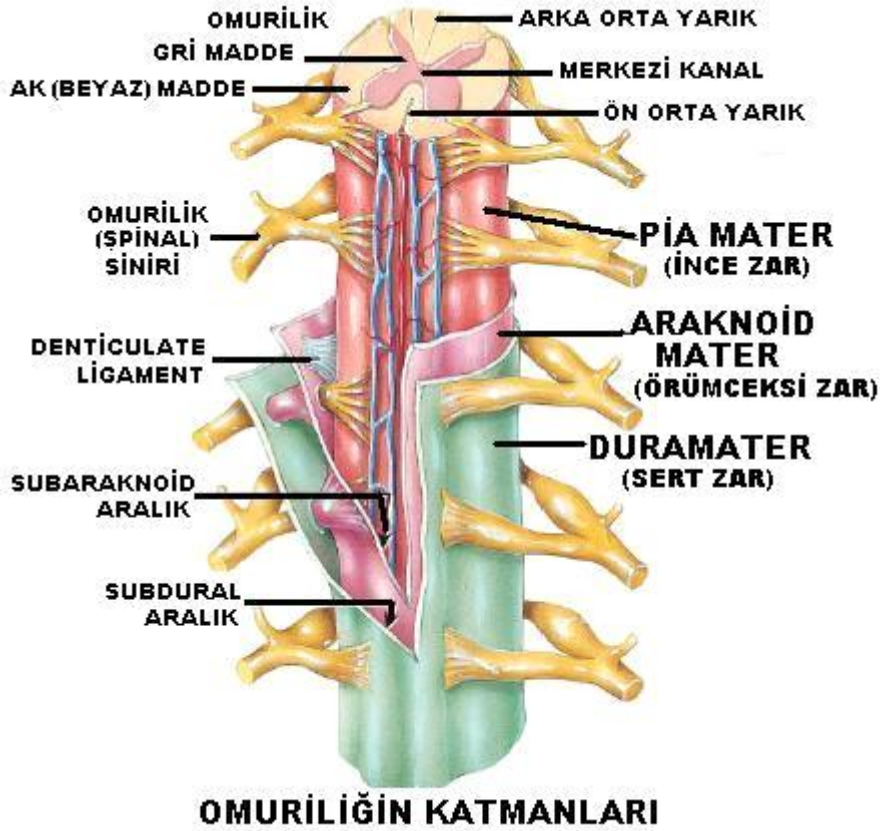
(Interactive atlas of human anatomy, F.Netter MD )

Omurilik servikal birinci vertebra üst kenarından, L1 vertebra alt sınırı veya L2 vertebranın üst kenar sınırına kadar uzanır. Üstte beyinle altta ise conus medullaris ile devamlılık gösterir. Filum terminale S1 vertebraya kadar uzanır (16).

Medulla spinalis fetal hayatın 3.ayına kadar vertebral kolon boyunca uzanır. 5.ayda sakrum tabanında doğum sonrasında ise yaklaşık L3 vertebra seviyesine kadar çıkar (16).



Omuriliğin etrafını saran koruyucu membranlar mevcuttur. Bunlar içten dışa doğru; pia, araknoid ve dura olmak üzere üç tanedir. Araknoid; saydam ve ince bir zardır. Araknoid ve pia zarlarını subaraknoid boşluk ayırır. Subaraknoid boşluk BOS ile doludur. Pia mater medulla spinalise yapışır ve içine septalar gönderir. Omurilik ligamentum dentikulatum adı verilen bantlarla duranın iç kısmına tutunur (16).

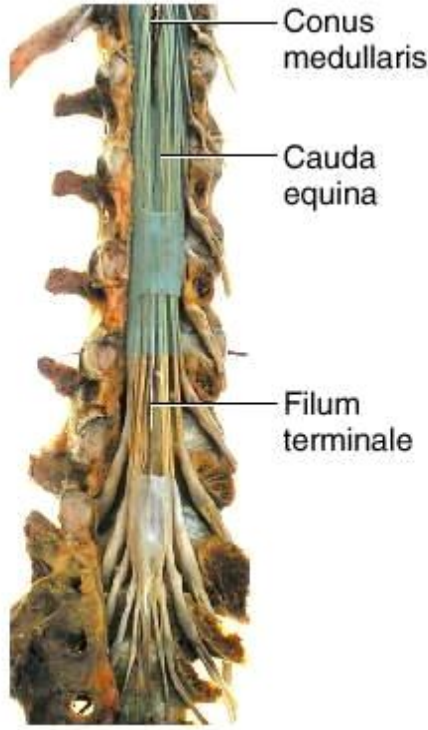


**Şekil 2:** omuriliğin katmanlarının şematik gösterimi

(Interactive atlas of human anatomy, F.Netter MD )

Omurilikten 8 servikal, 12 torasik, 5 lumbal, 5 sakral, 1 koksigeal olmak üzere toplam 31 çift sinir çıkmaktadır. Bu sinirlerin anterior ve posterior olmak üzere kökleri mevcuttur. Spinal ganglion dorsal sinir kökleri üzerindeki genişlemelere verilen addır (17).

Konus medüllaris'in en tepe noktasında aşağı doğru uzanan ince filamente filum terminale adı verilir. Filum terminale internum ve filum terminale externum olmak üzere iki kısma ayrılır. Filum terminale internum cauda equina lifleri ile çevrelenmiştir. Mavi-beyaz bir rengi mevcuttur. Filum terminale externum ise duraya yapışıktır.(16).



**Şekil-3:** conus medüllaris, cauda equina ve filum terminaleyi göstermektedir.

### **OMURİLİĞİN İÇ YAPISI**

Omurilik transvers kesitte gri ve beyaz cevher olmak üzere iki kısma ayrılır. Gri cevher, beyaz cevher tarafından sarılmıştır. Gri cevher spinal nöronların hücre gövdeleri, dendritleri ve bu spinal nöronlara ait aksonlar ve akson sonlanmalarından oluşur. Beyaz cevher ise nöroglia, kan damarları ve sinir liflerinden oluşmaktadır (17, 18). Beyaz cevher substansia alba, beyaz cevherle çevrili 'H' şeklindeki gri cevher ise substantia grisea centralis isimleriyle adlandırılır (17, 18).

Kanalis centralis omurilik boyunca uzanır. Üstte 4. Ventriküle açılır, altta ise konus medüllaris'in alt bölümünde terminal ventrikülü oluşturur. İçerisi beyin omurilik sıvısı ile doludur. Santral kanaldan geçen hayali bir çizgi medulla spinalis'i; anterior lateral ve posterior olmak üzere üç kolona ayırır (16,18). Lateral kolon torasik bölgede anterior kolonun posterolateralindeki üçgen şeklindeki alandır. Gri maddede retiküler formasyon adı verilen anterior ve posterior kolonlar arasında bir ağ sistemi vardır (16).

Beyaz cevher 3 funikulustan oluşur. Bunlar; anterior, lateral ve posterior funikuluslardır. Funikuluslar beyne çıkan ve beyinden inen yollar tarafından oluşturulur. Bu yollara fasikülüs ve

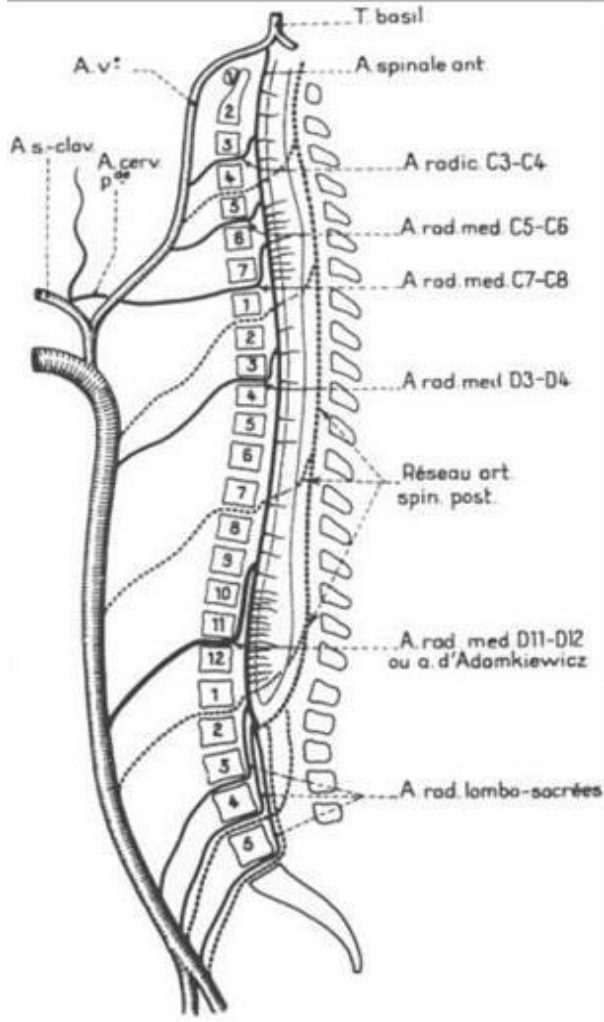
traktüs adı verilir. Efferent (inen) yollar funikulus anerior ve lateraliste, afferent (çıkan) yollar ise funikulus anterior, lateralis ve posteriorda yer alır (16, 18).

## **2-3 OMURİLİĞİN VASKÜLER YAPISI**

Omurilik; inferior tiroidal, vertebral, interkostal, asendan servikal, iliolumbal ve sakral arterlerden çıkan, sinir köklerine eşlik eden ve foramen intervertebralislerden giren segmental radiküler arterler ve vertebral arterin iki dalı anterior ve posterior spinal arterler aracılığı ile beslenir (17,19). Sinir köklerini radiküler arterler beslerler. Sinir kökü ve omuriliği besleyen arterlere radikülomedüller arterler denir (17, 19).

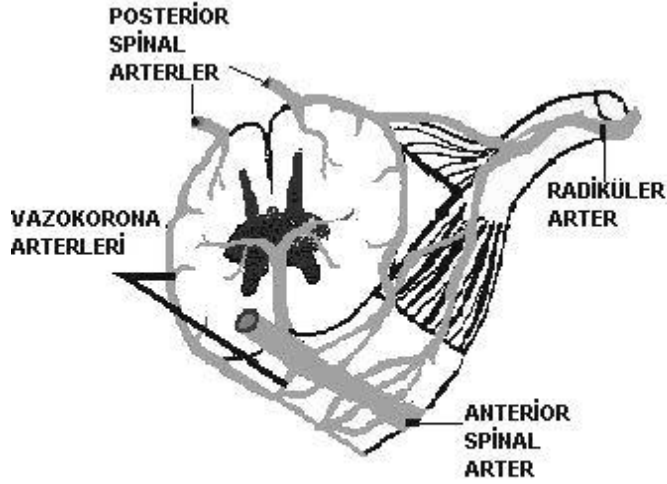
Anterior spinal arter; tüm omuriliği anterior median fissür boyunca kateder ve conus medüllaris kadar iner. Genellikle vertebral arterlerden çıkan iki ön spinal dalın birleşmesi ile oluşur. Omuriliğin ön 2/3 lük kısmına dağılır. Omuriliğin T8-conus medüllaris arası ana besleyici arteri Adamkiewicz (arteria radikularis magna) adı verilen arterdir. T9-L2 sinir köklerine kadar uzanır ve %80 sol interkostal arterden orijin alır (17, 19).

Posterior spinal arter; omuriliğin tüm posterolateral yüzünde, bilateral posterolateral sulkuslarda seyrederler. Omuriliğin arka üçte birlik kısmını beslerler ve radiküler arter posterior dalları ile anastomoz yaparlar (17, 19).



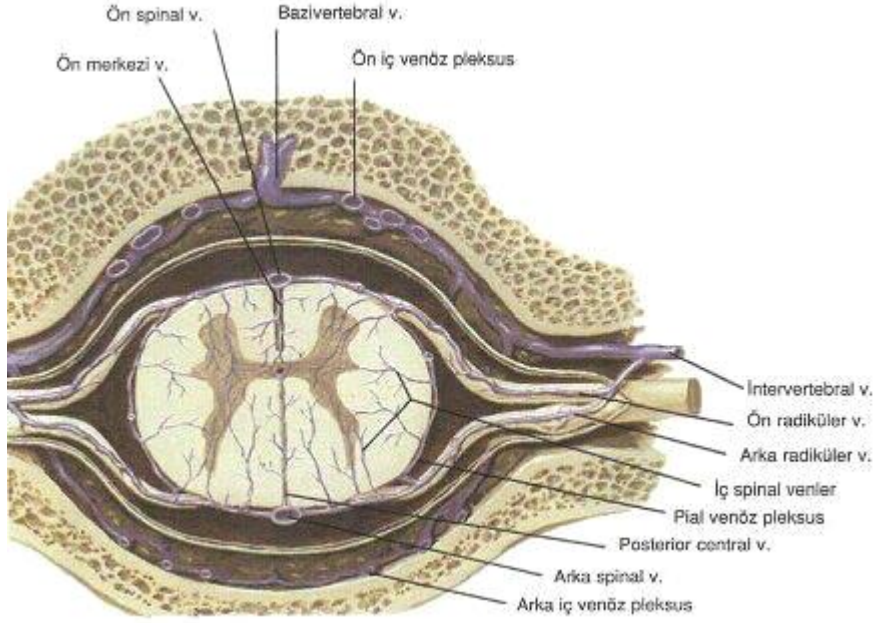
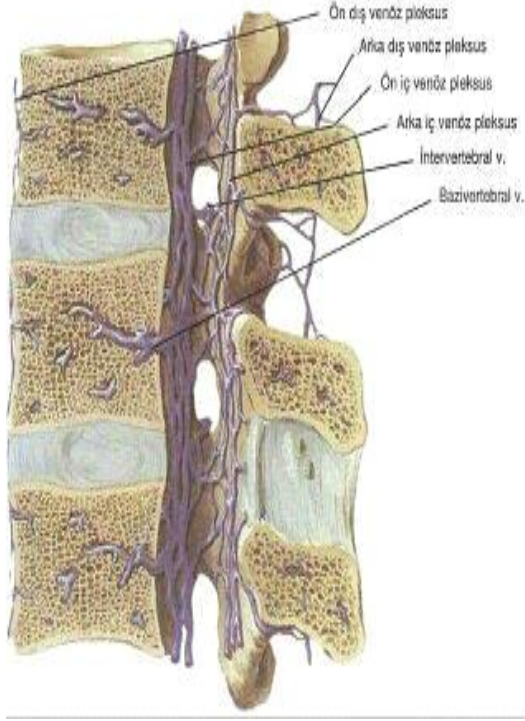
**Şekil 4:** omurilik beslenmesinin şematik gösterimi

(Interactive atlas of human anatomy, F.Netter MD )



**Şekil 5:** omuriliğin beslenme şeması (Interactive atlas of human anatomy, F.Netter MD )

**OMURİLİK VENLERİ;** eşlik ettiği arterlerle benzer bir dağılım gösterirler ve pia materde bir plexus oluşturarak eşlik ettiği arterle aynı ismi alırlar. Sinir köklerine bitişik seyreden venüller, anterolateral longitudinal, posterolateral longitudinal, ve medial longitudinal vene boşalırlar. Longitudinal venlerde üstte vena cava superiora, internal juguler ve radiküler venler aracılığı ile dökülürler. Anterior ve posterior radiküler venler sinir kökleri ve radiküler arterlere eşlik ederek anteromedial ve posteromedial vertebral plexuslardan gelen dallarla birleşir ve intervertebral veni oluştururlar. Her segmentten çıkan intervertebral venler; sakral, lumbal, interkostal ve servikal venler yoluyla vena kava inferiora dökülür (17, 19).



Şekil 6a ve 6b: Omuriliğin venleri

## 2-4- OMURİLİK YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ

Omurilik travması iki mekanizma ile doku harabiyetine neden olmaktadır. Birincisi primer- mekanik zedelenme, ikincisi ise sekonder omurilik zedelenmesidir (14).

Primer-mekanik zedelenme; travma anında olan hasardır. Penetran yaralanmalar ve flexion, extansiyon, rotasyon, dislokasyon sonucu oluşan distraksiyonel yaralanmalar; vasküler dokularda ve nöral dokularda yırtılma veya gerilmeye neden olmaktadır. Kemik yapı veya spinal kanal içinde basıya neden olan hematomlarda diğer olası mekanik etkilerdir (5, 20, 21).

Sekonder omurilik zedelenmesi; nörojenik şok (sistemik etki), biyokimyasal değişiklikler, omurilik dolaşımında vasküler hasar, elektrolit değişiklikleri, immünolojik değişiklikler, ödem, apoptozis, enerji metabolizmasında kayıp, gibi değişik mekanizmalar sonucu oluşur.

Akut spinal kord yaralanması sonrası ilk 15 dakikada beyaz cevherde ödem ve gri maddede peteşial kanamalar oluşur. Bu kanamalar ilk 2 saatte daha da artar. Yani zaman içinde patolojik değişiklikler kötüye gider. Yaralanmanın 6. Gününde ileri derecede nekroz oluşur. Bu nekroz oluşumuna otodestruksiyon adı verilir. Olayın ilk 5 dakikası içinde gri maddede aksonlar değişirse de venüller eritrositlerle şişerler. 15-30. dakikalarda aksonal değişimler görünmeye başlar ve eritrositlerin ekstrasvazasyonu ile küçük kanamalar görülür. 4 saat sonra myelin kılıf ve aksonlar bozulur ve iskemik endotelial hasar saptanır. Birkaç gün içinde aksonal değişiklikler progresyon gösterir ve nekrotik alanların oluştuğu gözlenir. Ayrıca yaralanan segmentte ödem oluşur ve komşu segmentlere yayılır. Travma sonrası 24-48 saatte nekrotik alan görülür. Birkaç gün sonrada hemorajik bölgede kavite oluşur. Anlatılan tüm bu patolojik değişiklikler enfarkt oluşumunun patolojik özelliklerindedir ve bu patolojik olaylar zinciri posttravmatik enfarkt olarak isimlendirilir (5, 21).

Sekonder omurilik yaralanmasında vasküler değişiklikler, spinal şok, hücre içi kalsiyum artışı, endojen opioid ve enflamatuar değişiklik, apoptozis ve serbest radikal oluşumu teorileri üzerinde en çok durulan mekanizmalardır (6).

### 1-Vasküler değişiklikler;

Akut omurilik yaralanması sonrası sistemik olarak hipotansiyon ve azalmış kardiyak output gözlenir. Lokal olarak spinal kordda otoregülasyon kaybı, gri ve beyaz cevherde hemoraji ve komşu bölgelerde mikrosirkülasyonda azalma tespit edilir. Spinal kord yaralanması sonrası kan akımında azalma izlenir (5). Histopatolojik olarak spinal kord yaralanmasında erken hemorajik nekroza başlayıp majör enfarkta kadar uzanan değişiklikler izlenir. Travma sonrası görülen bu vasküler değişiklikler tedavi edilebilir niteliktedir. Spinal kord kan akımını düzeltmek için dopamin, steroidler, nimodipin ya da volüm yüklenmesi tedavi seçeneği olarak kullanılabilir (5).

## 2-Spinal şok;

Omurilik yaralanması sonrası önce kalp hızı artar ardından ciddi bradikardi olur. Yine önce kan basıncı artar ardından ciddi hipotansiyon ortaya çıkar ve kardiyak output düşer. Sempatik tonusun azalmasına bağlı periferik rezistans ve kardiyak debi düşer ve buna bağlı olarak bradikardi ve ciddi hipotansiyon gelişir. Spinal kordda perfüzyon basıncının düşmesine bağlı olarak yeterli oksijen ve metabolit desteği sağlanamaz. Spinal şoktaki bir hastanın kan basıncının düzeltilmesi öncelikli hedef olmalıdır. Çünkü spinal kord perfüzyonu doğrudan sistemik kan basıncı ile ilişkilidir (5, 22).

## 3- Hücre içi kalsiyum artışı;

Spinal kord yaralanmasında kalsiyuma bağlı mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Kalsiyuma karşı olan membran geçirgenliğindeki değişiklikler santral sinir sistemindeki yaralanmayı takiben nöronal dejenerasyonda önemli rol oynar ve bu birçok çalışmada gösterilmiştir (23).

Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonu sonucu kalsiyumun aşırı birikir . AMP/CA reseptörleri kalsiyum akışını yönlendiriyor olup SSS beyaz cevherinde bu reseptörlerin aktivasyonu eksitotoksik yaralanma ile ilişkilendirilmiştir. Artmış intrasellüler kalsiyum endonükleaz ve proteazları aktive eder. Ayrıca apoptozis, nekroz, asidoz ve mitokondrial hasara neden olur. Bunun sonucunda serbest radikaller artar ve aksonal hasarlanmaya neden olur. Kalsiyum artışı ayrıca myelin hasarına da neden olur. Voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının blokajı sonucu hücre içine kalsiyum geçemez ve travmatik yaralanmayı takiben aksonal iletimin korunmasını arttırır (23).

## 4-Endojen opioidler;

Omurilik yaralanması ile ilgili yapılan birçok deneysel modelde belirgin bir endojen opioid salınımı olduğu gösterilmiştir. Opioidler mikro düzeyde kan akımını azaltarak sekonder hasarı arttırdıkları düşünülmektedir (24).

## 5-Enflamatuar değişiklikler;

Omurilik yaralanmasında makrofaj, nötrofil ve T hücreleri tarafından enflamatuar yanıt başlatılır. Hasar sonrası lezyon bölgesine astrositler ve mikroglial hücreler göç eder. Makrofaj aktivasyonu için T hücreleri şarttır. Ayrıca T hücreleri hücrel immun yanıtı başlatır. Doku harabiyetinin artışı ve lezyonun boyutlarında artış olmasından makrofajlar ve nötrofiller sorumludur. Mikroglia ve makrofajlardan sitokinler salınarak sekonder patolojik ve enflamatuar yanıt oluşmasında rol oynarlar (25). Diğer dokulara göre SSS enflamatuar yanıtının daha yavaş olduğu bildirilmiştir (25).

## 6-Apoptozis;

Programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanır. Akut spinal kord yaralanmasında nöral hücre ölümünü sınırlamak ve nörolojik fonksiyonu düzeltmek için apoptozis araştırmaları; yeni ek



yöntemler geliştirmeye yardımcı olabilir. Spinal kord yaralanmasında birçok antiapoptotik ajanın nöral doku ölümünü sınırladığı gösterilmiştir (26).

Spinal kord yaralanması sonrası 2-3 haftaya kadar apoptotik hücre ölümü saptanmıştır. Apoptozis yollarına manipülasyon yapılarak, omurilik yaralanmasında tedavi fırsatı sağlanabilir (26). Apoptozisde kaspazların kritik rolü olduğu bilinmektedir. Hayvan modellerinde kaspaz-1' in aktive olduğu ve kaspaz inhibisyonu ile doku hasarı azalmış ve nörolojik fonksiyonlarda düzelme olduğu gösterilmiştir (27). Spinal korddaki nöronların rejenerasyon yeteneği yoktur ve bu sebepten nöronal koruma çok önemlidir (27).

#### 7-Serbest radikal oluşumu;

Serbest radikallerin aşırı artışı hücre ölümüyle sonuçlanır. Serbest radikaller yörüngesinde bulunan serbest elektronu biyolojik moleküllere aktararak oksidasyona neden olur (28). Serbest radikaller lipid peroksidasyonuna neden olur. Bu da hücre membran fosfolipidlerinin çözülmesine neden olur. Serbest radikalleri nötralize eden askorbat, glutatyon ve alfa tokoferol gibi antioksidanların travma sonrası seviyeleri azalır (28, 29). Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu ve bunların neden olduğu moleküler yaralanmayı azaltırlar (30).

Posttravmatik iskemi ve bundan sonra oluşan reperfüzyonda serbest oksijen radikalleri artar. Bu artış karşısında endojen antioksidanlar, peroksidazlar ve serbest oksijen radikal temizleyicileri yetersiz kalmaktadır (31). Serbest radikaller başta lipitler olmak üzere hücreyi oluşturan tüm yapılarla reaksiyona girebilirler (32). Serbest radikallere bağlı nöronal hasar oluşumunda en önemli aşama yağ asidi içeren hücre membranlarının yıkılmasıdır (33). Serbest radikallerin serbest yağ asitlerini okside etmesi lipid peroksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonu sırasında malondialdehit (MDA) gibi ara ürünler oluşur ve lipid peroksidasyon düzeyi bu ara ürünlerle belirlenir (34, 35). Lipid peroksidasyonu ile hücre membran lipoproteinlerinde oksidasyon olur ve yapısal bütünlüğün bozulması ile sonuçlanır. Bu olay kontrol edilemezse anormal iyon girişi olur ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Oluşan zincirleme reaksiyon ise hücre ölümünün yayılmasına neden olur (36, 37).

#### **OMURİLİK YARALANMASININ PATOLOJİSİ;**

Travma sonrası oluşan spinal kord hasarı, primer hasar ve sekonder hasar olmak üzere iki evrede incelenir. Primer hasar travma sonrası oluşan kontüzyon, kord kompresyonu, laserasyon ve hemorajileri içerir. Sekonder hasar ise travma, iskemi, hipoksiye karşı gelişen fizyolojik cevapları içerir.

Akut spinal kord yaralanması sonrası histolojik olarak; belirgin aksonal şişme, ödem, uzun traktlarda bozulma, kanama ve enfarkt odakları görülür. Haftalar sonra makrofaj infiltrasyonu olur ve myelin ve nöral debrisin kaldırılması gerçekleşir. Yaralanan bölgede gri cevherde nekroz ve kaviteleşme olabilir. Kan damarlarında proliferasyon ve bunun sonucunda küçük damarlarda hyalin kalınlaşması oluşur. Ardından fibroblast ve kollegen infiltrasyonu olur. Kaviteleşme

genellikle gri cevherde en fazladır. Bu kavitasyon aşağı ve yukarı segmentlere yayılabilir ve siringomyeliye neden olabilir (38).

İlk mekanik yaralanma gri maddenin daha yumuşak yapısı ve vasküler yapıda olması nedeniyle gri cevheri hasarlamaya eğilimlidir. Beyaz cevher periferde rölatif olarak korunabilir. Spinal kord yaralanması sonrası gelişen perfüzyon bozukluğu; hipoksi ve iskemi nedeniyle lokal enfarkt gelişir. Gri cevherin metabolik ihtiyacı fazla olması nedeniyle bu bölgeden geçen nöronlar fiziksel olarak bozulur ve myelin kalınlıkları azalır. İrreversible hasarlanmanın gri cevherde yaralanma sonrası 24 saatte, beyaz cevherde ise yaralanma sonrası 72 saatte olduğu düşünülmektedir (39).

Spinal kord yaralanması sonrası 48 saatte monositler ve mikroglia primer yaralanma bölgesinde çoğalmaya başlarlar (40). Ependimal hücreler santral kanal kenarında hipertrofik görünürler. Bu hipertrofik ependimal hücreler, santral kanal primer lezyon kenarında kümelenirler, ardından lezyon içine göç etmeye başlarlar. Üçüncü günden itibaren primer lezyon büyümeye devam eder, kan damarlarının lezyon içine doğru büyüdüğü görülür. Nötrofiller monosit ve mikroglial hücrelerle yer değiştirir. Bu hücreler fagositik aktiviteleri ile doku debrisini oluştururlar. Ayrıca büyük makrofajları oluştururlar. Primer lezyon bölgesinde revaskülarizasyon 1 hafta sonra başlar (40). Travma sonrası 12. Haftada lezyon alanı büyür. İnteraksional boşluklar ve kistler sayıca ve hacim olarak artar. Nötrofiller kan damarlarından göç eder ve lezyon bölgesinde ve komşu dokuda belirgindir. Makrofajlar daha sonra ortaya çıkar (40).

Omurilik yaralanmasında ilk olarak mekanik doku tahribatı ardından lokal kan akımı bozukluğuna bağlı ikinci bir doku kaybı olur. İkincil hasarı azaltmak için nöroprotektif ajanlarla birçok çalışma denenmiştir. Bunlar arasında yoğun olarak yaralanma sonrası ilk saatlerde kullanılan yüksek doz metilprednizolon tedavisi klinikte kullanılmaktadır (8).

Makrofajlar yaralanmadan birkaç hafta sonra hasarlanan bölgedeki doku debrisini temizler, bu da skar dokusu ile çevrili kistlerin oluşmasına neden olur (41,42). Bu kistler sağlam spinal kordda ek hasara neden olur.

Onarımda 4 temel strateji kullanılır, bunlar;

1-hasarlanmış myelin onarımı ve sinir lifi impuls iletiminin restorasyonu.

2-sağlam kalan sinir liflerinin kompensatuar büyümesini tetiklemek.

3-kesilmiş nöral traktların yeniden büyümesini sağlamak

4-sinir büyüme faktörleri ile akson büyümesini tetiklemek ve skar tarafından oluşturulan bariyeri azaltmaktır (42).

Yetişkinlerde SSS, nörit büyümesini bloke eden inhibitör proteinler üretir. Bu nedenle bahsi geçen inhibitör spesifik proteinleri nötralize eden ya da ablasyon sağlayan birçok girişim, lezyon gelişen kordun rejenerasyonunu sağlamak için kullanılmıştır (42).

## **2-5- SPİNAL KORD YARALANMASINDA TEDAVİ**

### **CERRAHİ TEDAVİ;**

Spinal kord yaralanmasında hasarın tamamı ilk travma anında oluşmayabilir, hasarlanma kısmen kompresyon süresine de bağlıdır. Tam hasarlanma olsa da nörolojik fonksiyonların kısmen de olsa geri dönüşümlü olabildiği bir zaman dilimi mevcuttur (43, 44). Dekompresif yaklaşımlar bu zaman diliminde nörolojik fonksiyonlar üzerine kısmen de olsa etkili olabilir (45). Spinal kord yaralanmasında cerrahi tedavinin uygulanma zamanı tartışmalıdır. Birçok cerrah erken cerrahi işlem yapılmasını savunsa da nörolojik fonksiyonlar üzerine etkinliği hususunda kesin kanıtlar mevcut değildir. Bununla beraber acil dekompresyon yapılması daha sonra gelişebilecek nörolojik fonksiyon bozukluklarını engellemede etkili olabilir. Erken cerrahi sekonder hasarın artmasını engelleyebilir. Geç cerrahi işlem ise hasarlanmamış spinal kord fonksiyonunu korur, deformiteleri önleyebilir ve düzeltebilir (46).

### **MEDİKAL TEDAVİ;**

Spinal kord yaralanmasında ilk yapılması gereken kardiyopulmoner stabilizasyondur. Spinal kord yaralanması sonrası spinal şokta; kalp hızı, kan basıncı geçici olarak artar, ardından uzamış bradikardi ve hipotansiyon oluşur. Spinal şok durumunda iskemik yaralanmayı engellemek amacıyla sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyon tedavi edilmeye çalışılır. Bu amaçla vazopressör ve sıvı verilmesi temel tedavi yaklaşımıdır. Bu tedavi esnasında yoğun vazopressör verilip yeterli volüm desteğinin sağlanamadığı durumlarda organ perfüzyonu daha da azalabilir (22).

Temel vazopressör ve volüm resüsitasyonu tedavisi göz önünde bulundurularak, diğer tedavi yöntemleri değerlendirilebilir.

#### **1-Metilprednizolon;**

Nöroprotektif etkileri ve lipid peroksidasyonunu engellemesi nedeniyle spinal kord yaralanmasında yararlı olduğu gösterilmiştir (9). Metilprednizolon temel olarak posttravmatik lipit peroksidaz enzimini inhibe ederek nöroprotektif etki gösterir. Böylece hücre membran fosfolipidlerine karşı koruyucu etki yapar ve membran bütünlüğünün korunmasını sağlar. Deneysel hayvan spinal kord yaralanma çalışmalarında MDA değerlerinde belirgin düşme olması membran bütünlüğünün korunmasında metilprednizolon'un etkin olduğunu göstermektedir (8). Yüksek doz metilprednizolon tedavisi lipid peroksidasyonunu engelleyerek hasarlı spinal kordda; iskeminin önlenmesi, enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve membran lipid hidrolizinin inhibisyonunu sağlamaktadır (8).

## 2-Magnezyum;

Magnezyum sülfat, spinal kord kontüzyon yaralanmasında NMDA reseptör blokajı ile nöral yapılarda glutamat toksisitesini önleyerek nöroprotektif özellik göstermektedir. İskemide glutamat ve serbest radikal artışı olur. Magnezyum serbest radikal oluşumunu azaltır ve nöroproteksiyon sağlar. Endotelde prostosiklin salınımını sitimüle ederek omurilik damarlarında vazodilatasyon yapar (47).

## 3-Sodyum kanal blokörleri;

Sodyum kanal blokörlerinin spinal kord yaralanması sonrası doku kaybı ve nörolojik defisitleri azalttığı gösterilmiştir. Sodyum kanal blokeri olan tetrodoksine (TTX), büyük çaplı aksonların kaybını belirgin derecede azaltmıştır. Mitokondriye fazla sodyum girişi ile birlikte suda girer ve mitokondrial lizise neden olur. Mitokondrial lizis, ATP yapımının azalmasına neden olur. ATP kaybı yaralanma sonrası aksonal hasarı artırır. TTX sodyuma bağlı mitokondrial lizisi azaltabilir ve aksonal şişmenin azaltılmasını sağlar (48, 49). Travmatik spinal kord hasarı sonrası sodyum kanallarının blokajı sekonder hasarı azaltarak, fonksiyonel defisitleri akut olarak azaltabilir (50).

## 4-Hipotermi;

Hipotermi'nin nöroprotektif etki mekanizması tam olarak anlaşılmasına karşın, başlangıçta serebral metabolizmayı azalttığı ve bunun sonucu olarak nöroproteksiyon sağladığına inanılırdı. Ancak bu etkiyi sadece metabolik depresyon ile açıklamak doğru değildir. Buna ek olarak hipotermi; serbest radikal üretiminin azaltılması, GABA salınımının artışı ve glutamat salınımının azaltılması gibi etkilerle nöroprotektif etki yapar. Fakat spinal kord hasarlanması olan hastalardaki hipotermide; hipotansiyon, bradikardi, enfeksiyon gibi komplikasyonlar olması nedeniyle klinik uygulaması sınırlıdır. Bu nedenle hipotermi uygulanabilir olmadıkça, spinal kord yaralanmasında kullanılması tavsiye edilmez (51, 52).

## 5-Eritropoetin;

Endojen stokin mediyatörü olan eritropoetin ve derivelerinin doku koruyucu etkileri mevcuttur. Deneysel çalışmalarda sıçanda yapılan spinal kord hasarlanması sonrası eritropoetin lipid peroksidasyonunu azaltarak nöroprotektif etki göstermiştir. Ayrıca inflamasyon redüksiyonu, apoptozis inhibisyonu, nöral kök hücrelerin modülasyonu ve proliferasyonunda katkıda bulunmuştur (53).

## 6-Minosiklin;

Spinal kord hasarlanması sonrası nöroprotektif etkileri gösterilmiştir. Bu etkilerini Kaspaz-1 inhibisyonu ile apoptozu azaltarak ve yaralanma sonrası lezyon boyutlarını azaltarak yapar (53). Kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçen minosiklin, mitokondrial sitokrom-C'yi azaltır.

Yaralanmadan 1 hafta sonraki fonksiyonel defisitleri ve sekonder spinal doku kaybını efektif olarak azaltabilir (53).

7-Kadın seks hormonları;

Östrojen bcl-2' nin ekspresyonunu artırır ve antiapoptotik etki göstererek nöroproteksiyon sağlar. Ayrıca protein kinaz yollarının aktivasyonunu sağlar.

Progesteron ise eksitoksisiteyi arttıran enflamatuar sitokin üretimini azaltarak sekonder nöral hasarı azaltır. Serbest radikalleri azalttığı ve spinal kordda nötrofillerin stabilitesini sağladığı gösterilmiştir (53).

8-UV Kan irradyasyonu ve oksijenizasyon;

UV Kan irradyasyonu ve oksijenizasyonunun serbest radikal hasarını azalttığı ve tavşanlarda spinal kord hasarlanması sonrası antioksidanların aktivasyonunu arttırdığı saptanmıştır (54).

9-Fetal SSS transplantasyonu;

Fetal sıçanlardan alınan santral sinir sisteminden, spinal kord yaralanması olan sıçanlara yapılan transplantasyon sonrası fetal dokunun transplante sıçanların %60' ında lezyon bölgesinde canlı kalabildiği gösterilmiştir (54).

10-Opioid antagonistleri;

Spinal kord yaralanması yapılan deneysel modellerde endojen opioid peptid salınımında belirgin artış olduğu gösterilmiştir. Opioidler mikrosirkülatuar kan akımını azaltır ve sekonder yaralanmayı artırabilir. TRH ve naloksan bazı hayvan modellerinde spinal kord akımını arttırarak nörolojik defisitleri azaltmıştır (24).

11-Gangliozidler;

Fonksiyonları tam olarak bilinmeyen gangliozidler deneysel olarak nörit büyümesini ve sinaptik transmisyonu arttırdığı, nöral gelişme ve platisiteye öncülük ettiği, nöronal rejenerasyonu indüklediği gösterilmiştir (24).

12- Trilazad mezilat ;

U-74600F (Trilazad mezilat TM), spinal kord yaralanması ve akut beyin hasarı, Subaraknoid kanama ve inme tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen paranteral bir ajandır. Glukokortikoid aktivasyonu yapmadan lipid peroksidasyonunu inhibe etmek amacıyla sentezlenen bir

analogdur. TM'nin kedilerde yapılan deneysel spinal kord yaralanmasında etkili olduğu gösterilmiştir (22).

#### 13-Gen ekspresyon analizi;

Birçok genin ekspresyonunu örnekleyebilen mikroarray analizi kullanılarak, spinal kord hasarı sonrası değişime uğramış genler gösterilebilmiştir (55).

#### 14- Nitrik Oksit Sintaz (NOS);

NOS ekspresyonu ile sekonder hasarlanma arasındaki ilişki nedeniyle selektif inhibitörlerinin blokajı, spinal kord yaralanmasında kan-spinal kord bariyer tahribatını önleyip, ödem formasyonu ve hücre reaksiyonlarını azaltarak motor fonksiyonlarda iyileşmeye neden olabilir (56).

#### 15-İnterlökinler;

Antienflamatuar bir sitokin olan IL-10 yapılan bağımsız iki spinal kord hasarlanma modelinde; yaralanmadan 30 dakika sonra uygulanmasını takiben sistemik enflamasyonu azalttığı gösterilmiştir. IL-10 nöroprotektif etki gösterir ve motor fonksiyonlarda iyileşme sağlar (25).

#### 16-Lipopolisakkarit;

Lipopolisakkarit enjeksiyonunun iskemik bir hasarlanma sonrası nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu etkinin antienflamatuar etkili sinyal yollarını aktive ederek gerçekleştirdiğine inanılmaktadır (57).

#### 17- $\alpha$ -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate (AMPA) reseptörleri;

AMPA tercihli, inotropik glutamat reseptör subtipi antagonistlerinin deneysel çalışmalarda spinal kord hasarlanmasının etkilerini azalttığı gösterilmiştir.(41).

#### 18-Araşidonik asit metabolizması;

Hücre membran hasarında kalsiyum bağımlı proteazlar ve kinazlar önemli rol oynarlar. Siklooksijenaz, lipaz, ve lipooksijenaz aktivasyonu; araşidonik asidin lökotrien, prostoglandin ve tromboksana dönüşmesini sağlar (58, 59). Na/K ATP'az pompasının inhibisyonu ve doku ödemeine bağlı olarak gecikmiş araşidonik asit yüksekliği ortaya çıkar ve böylece COX-1 birikimi görülür. Bunun sonucunda ortaya çıkan ürünler; platelet agregasyonu ve vazokonstrüksiyona yol açar ve kan akımının yavaşlamasına neden olur. Buda lipid peroksidasyonuna neden olan bir enflamatuar cevap oluşturur. Membrandaki lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikallerinin oluşmasına ve membran hasarının artmasına neden olur. Ayrıca hasarlanma sonrası artmış

ekstrasellüler nörotransmitterler kortikal nöronlarda COX-2 salınımına neden olur. Çeşitli hayvan deneylerinde COX-2'nin selektif inhibisyonunun spinal kord hasarlanması sonrası iyileşmeyi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (39). Siklooksijenaz inhibitörleri (prostosiklin, indometazin gibi), ile yapılan çalışmalarda, platelet agregasyon inhibisyonu ve vazodilatasyon ile spinal kord kan akımında artış ve mikrosirkülasyonda düzelleme göstermiştir (39). SC-236 bir COX-2 inhibitörü olup deneysel spinal kord hasarlanmasında tavşanlarda nöroproteksiyon sağladığı bildirilmiştir (39).

#### 19-Kalsiyum kanal blokörleri;

İntrasellüler kalsiyum birikimi toksik nöral hücre ölümünde son ortak yol olarak bilinmektedir ve spinal kord hasarının patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır (22). Hücre içine kalsiyum girişinin direkt nörotoksik etkisi yanında, vasküler düz kas hücrelerinde vazospazma neden olur. Kalsiyum kanal blokörlerinin posttravmatik mikrovasküler yapılarda vazospazmı önleyerek koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir. Bu amaçla kalsiyum kanal blokörü olan Nimodipin, üzerinde en çok çalışılmış ajanlardan biridir. Yapılan deneysel çalışmalarda Nimodipin'in tedavi edici etkilerinin ancak travma öncesi başlandığında ortaya çıktığı görülmüştür. Bu nedenle spinal kord hasarında klinik olarak uygulanması tartışmalıdır(22).

#### 2-6-BARNİDİPİN;

Barnidipin bir kalsiyum kanal blokörü olup, dihidropridin türevidir. Kalsiyum kanal blokörleri uzun zamandır hipertansiyon, koroner kalp hastalıkları ve aritmi tedavisinde kullanılan ajanlardır. Kalsiyum kanal blokörleri vazodilatasyon ile art yükü azaltırlar, kardiyak ve vasküler dokuda kalsiyum aşırı yükünü azaltarak pozitif etki gösterirler.

Kalsiyum kalp, iskelet ve düz adelelerin kontraksiyonunda önemli rol oynar. Miyoplazmadaki kalsiyum miktarı hücreye kalsiyum girişine bağlıdır. Kalsiyum yavaş kanallardan hücreye girer, düzenleyici protein, troponin ile bağlanarak tropomiyozinin inhibitör etkisini kaldırır ve ATP varlığında miyosin ve aktin ilişkisi başlar, adele hücresi kasılır. Kalsiyum kanal blokörleri plazma membranındaki voltaja bağlı kalsiyum kanallarını bloke ederek hücre içine kalsiyum girişini engeller. Böylece vasküler düz kasta kasılma inhibe olur vazodilatasyon oluşur (64, 65).

Albrecht Fleckenstein kalsiyum kanallarının kalsiyum kanal blokerleri diye isimlendirdiği ajanlar tarafından bloke edildiğini gösterdi. Bu ajanlar kalsiyum kanal blokerleri, kalsiyum entry kanal blokerleri veya yavaş kalsiyum kanal blokerleri olarak da isimlendirilmektedir. L ve T tip olmak üzere 2 tip kalsiyum kanalı vardır. L kanalının aktivitesi katekolaminlerle artar. Klinik

kullanımda olan kalsiyum kanal blokerleri L kanal blokerleridir. T kanalları vasküler düz adale hücrelerinde, Purkinje hücrelerinde, nörohormonal sekretuar hücrelerde de vardır (64).

Kalsiyum kanal blokörlerinin birçok çalışmada travma sonrası spinal kordda kan akımını arttırdığı gösterilmiştir. Hasarlanma sonrası oluşan vazospazmda mikrovaskülariteyi düzenleyerek faydalı etki gösterirler. Selektif olarak SSS damarlarına etki ederek periferik vazodilatasyonu engellerleyerek, iskemik defisit oluşmasını engellerler. Nöral dokularda perfüzyonu arttırmaları. Motor ve somatosensorial uyarılmış potansiyeller ölçülerek artmış perfüzyonun aksonal perfüzyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (24).

DeneySEL spinal kord hasarlanma çalışmalarında kalsiyum kanal blokörlerinin nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmemiş, fakat birçok çalışmada travma sonrası spinal kord kan akımında artış olduğu gösterilmiştir (60,61).

Kalsiyum kanal blokörlerinin antihipertansif etkisi dışında vazoprotektif etkisi de mevcuttur. Dihidropiridin türevi olan barnidipin daha çok periferik vasküler yapı üzerine etkilidir. Grup A kalsiyum kanal blokörüdür (66).

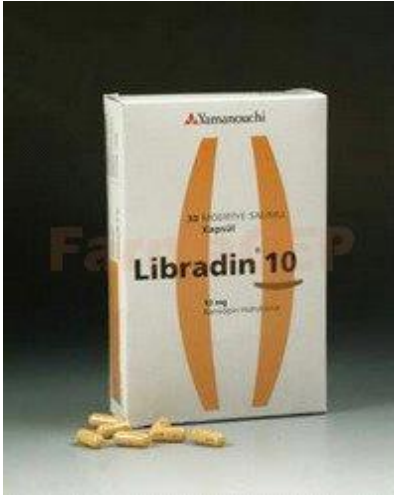


### 3-MATERYAL VE METOD;

Deneysel bir çalışma olan bu araştırma K.T.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Bu deneyin çalışma safhaları T.C. Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığınca incelenmiş ve 21.01.20014 tarihli, 2014/2 dosya numaralı, rapor ile onaylanmıştır. Bu araştırmanın ışık mikroskopi incelemeleri ve histopatolojik değerlendirilmesi Patoloji A.D.'ca ve istatistiksel değerlendirilmesi de Halk sağlığı A.D.' ca yapılmıştır.

#### Kullanılan malzemeler;

Barnidipin, Hayvanların sedasyonunda kullanılan anestezi ajanlar, iskemi oluşturmada kullanılan anevrizma klibi;



**Şekil 7:** Barnidipin ( ticari ismi libradin 10 /20 mg kapsül )



**Şekil 8:** Ketamin hidroklorür (Ticari ismi : Alfamine %10 'luk enjeksiyonluk çözelti)



**Şekil 9 :** Ksilazin hidroklorür (Ticari ismi : Rompun ampul %2 'lik 25 ml' lik enjeksiyonluk çözeltide)



**Şekil 10 :** Yaşargil titanyum standart düz geçici anevrizma klipi

### 3.1 DENEY HAYVANLARI

Çalışmamızda, K.T.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinden temin edilen, ağırlıkları 220 gr ile 280 gram arasında değişen 32 (otuziki) adet sağlıklı Spraque Dawley cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney süresince K.T.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinde ayrı kafeslerde izlenmiştir.

#### **GRUPLAR**

Spraque Dawley cinsi sıçanlar rastgele seçilip, dört gruba ayrılmış ve her grupta sekiz sıçan olacak şekilde sınıflandırılmıştır.

**GRUP-1;**( Kontrol Grubu); sıçanlara laparotomi yapılarak abdominal aortaları ortaya koyuldu. Anevrizma klibi ve herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan, katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. 24 saat sonra spinal kordları çıkarıldı. Çıkarılan materyaller k1'den k8'e kadar isimlendirildi.

**GRUP-2;**(İskemi Grubu); sıçanlara laparotomi yapılarak abdominal aortaları ortaya koyuldu. Anevrizma klibi yardımı ile 45 dakika süreyle kliplenerek iskemi oluşturuldu. Herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. 24 saat sonunda 2 adet sıçanın öldüğü görüldü. 6 adet sıçanın spinal kordları çıkarıldı. Bu nedenle materyaller i1'den i6'ya kadar isimlendirildi.

**Grup-3;**(Barnidipin Grubu); sıçanlara laparotomi yapılarak abdominal aortaları ortaya koyuldu. Anevrizma klibi yardımı ile 45 dakika süreyle kliplenerek iskemi oluşturuldu. Periton kapatılmadan hemen önce intraperitoneal olarak 10 mg/kg dozunda barnidipin uygulandı. 24 saat sonunda sıçan spinal kordları çıkarıldı. Numuneler b1'den b8'e kadar isimlendirildi.

**Grup-4;**(Prednol Grubu); sıçanlara laparotomi yapılarak abdominal aortaları ortaya koyuldu. Anevrizma klibi yardımı ile 45 dakika süreyle kliplenerek iskemi oluşturuldu. Periton kapatılmadan hemen önce intraperitoneal olarak 30 mg/kg dozunda metil prednizolon uygulandı. 24 saat sonunda sıçan spinal kordları çıkarıldı. 2adet sıçan ölmesi nedeniyle numuneler p1'den p6'ya kadar isimlendirildi.

## **METOD;**

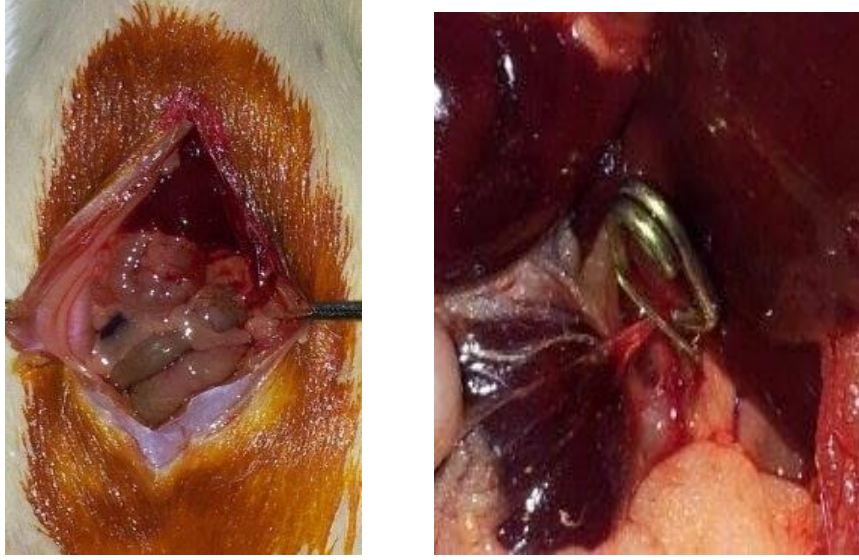
Sıçanlar işlemden 12 saat önce aç bırakıldı. Deneklere intraperitoneal yoldan preanestezik ajan olarak 10 mg/kg dozunda Ksilazin Hcl (Ticari ismi: Rompun ampul % 2 'lik olup 25 ml'lik ) ve yine intraperitoneal yoldan 50 mg/kg dozunda ketamine Hcl (Ticari ismi: Ketalar ampul 500 mg ) verilerek anestezi sağlandı.



**Şekil 11:** Spraque-Dawley cinsi sıçanın supine pozisyonda operasyon masasına alınışı ve povidon iyot solüsyon ile boyanması.

Anestezi sağlanmasının ardından denekler operasyon masasına alındı. Cerrahi saha povidon iyot ile boyandı.

Ardından deneklerin karın ön duvarına orta hat insizyonu ile laparotomi yapıldı. Batın içi organlar sağa devriye edilerek abdominal aorta bulundu.



**Şekil 12:** Sıçanlara uygulanan laparotomi ve abdominal aortun klip kompresyonu



**Şekil 13:** Sıçan spinal kordunun çıkarılması

Grup-1 (kontrol grubu) deki sıçanlara laparotomi yapıldı. Anevrizma klibi ve herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. 24 saat sonra kansızlaştırma yoluyla sakrifiye edilerek, T8-T12 arası spinal kordlar çıkarıldı. Alınan örnekler histopatolojik değerlendirme için %10 luk formaldehit çözeltisi içeren k1' den k8' e kadar isimlendirilmiş cam kavanozlar içinde KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji A.D. na gönderildi. Artakalan örnekler ise aynı şekilde isimlendirilmiş etüvler içinde KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. da yapılacak olan biyokimyasal analiz için -76 santigrad derecede saklandı.

Grup-2 (iskemi grubu)' deki sıçanlara laparotomi yapıldı. Batın içi organlar sağa deviye edilerek abdominal aorta bulundu ve düz, geçici, Yaşargil anevrizma klibi ile 45 dakika boyunca komprese edildi. 45 dakika sonunda klip çıkartılarak katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. 24 saat sonunda 2 sıçanın öldüğü görüldü. Geri kalan 6 adet denek kansızlaştırma yöntemiyle sakrifiye edildi ve T8-T12 arası spinal kordları çıkarıldı. Alınan örnekler histopatolojik değerlendirme için %10 luk formaldehit çözeltisi içeren İ1' den İ6' ya kadar isimlendirilmiş cam kavanozlar içinde KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji A.D.' na gönderildi. Artakalan örnekler ise aynı şekilde isimlendirilmiş etüvler içinde KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.' da yapılacak olan biyokimyasal analiz için -76 santigrat derecede saklandı.

Grup-3 (barnidipin grubu)' deki sıçanlara laparotomi yapıldı. Batın içi organlar sağa deviye edilerek abdominal aorta bulundu ve düz, geçici, Yaşargil anevrizma klibi ile 45 dakika boyunca komprese edildi. 45 dakika sonunda klip çıkartıldı ve periton kapatılmadan hemen önce 10mg/kg dozunda daha önce serum fizyolojik yardımıyla eritilmiş barnidipin intraperitoneal olarak uygulandı ve katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. Denekler 24 saat sonra kansızlaştırma yoluyla sakrifiye edilerek, T8-T12 arası spinal kordlar çıkarıldı. Alınan örnekler histopatolojik değerlendirme için %10 luk formaldehit çözeltisi içeren B1' den B8'e kadar isimlendirilmiş cam kavanozlar içinde KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji A.D.' na gönderildi. Artakalan örnekler ise aynı şekilde isimlendirilmiş etüvler içinde KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. da yapılacak olan biyokimyasal analiz için -76 santigrat derecede saklandı.

Grup-4 (prednol grubu)' deki sıçanlara laparotomi yapıldı. Batını içi organlar sağa deviye edilerek abdominal aorta bulundu ve düz, geçici, Yaşargil anevrizma klibi ile 45 dakika boyunca komprese

edildi. 45 dakika sonunda klip çıkartıldı ve periton kapatılmadan hemen önce 30mg/kg dozunda metil prednizolon intraperitoneal olarak uygulandı ve katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. 24 saat sonunda 2 sıçanın öldüğü görüldü. Geri kalan 6 adet denek kansızlaştırma yöntemiyle sakrifiye edildi ve T8-T12 arası spinal kordları çıkarıldı. Alınan örnekler histopatolojik değerlendirme için %10 luk formaldehit çözeltisi içeren P1' den P6'ya kadar isimlendirilmiş cam kavanozlar içinde KTÜ Tıp Fakültesi Patoloji A.D.'na gönderildi. Artakalan örnekler ise aynı şekilde isimlendirilmiş etüvler içinde KTÜ Tıp Fakültesi Biyokimya A.D. da yapılacak olan biyokimyasal analiz için -76 santigrat derecede saklandı.

Bütün gruplara 1. ve 24. Saatlerde motor muayene yapılmasının ardından sakrifikasyon işlemi yapıldı.

Histopatolojik inceleme için alınan doku numuneleri numaralandırılmış 28 adet cam kavanoz içerisine koyularak incelenmek üzere K.T.Ü Tıp Fakültesi Patoloji A.D.'na götürüldü.

Alınan spinal kord numuneleri K.T.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.'na biyokimyasal olarak spinal kord malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesiyle değerlendirildi.

#### **HİSTOPATOLOJİK İNCELEME;**

Histopatolojik inceleme ışık mikroskobu altında yapıldı. Yaklaşık 5 mm kalınlığındaki spinal kord parçalarından örnekler hazırlandı. Hazırlanan örnekler alkol, ksiloz ve formol solüsyonlarından geçirildi ve parafin bloklara gömüldü. Ardından doku örnekleri mikrotom yardımı ile 5 mikronmetre kalınlığında kesilerek etüvde 60°C altında 3 defa ksilen yardımıyla deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu. Rehidratasyonu alkol yardımı ile yapılan örnekler su ile yıkandı. Ardından hemotoksilen-eozin boyası ile boyandı. Işık mikroskobunda 100'lük ve 400'lük büyütmelemlerde incelendi. İncelenen örneklerin Olympus BX51, DP71 mikroskobunda dijital fotoğrafları çekildi.

Yapılan incelemelerde kontrol grubunda; omurilik dokusunda, beyaz ve gri cevher yapısı, omuriliğin vasküler ve nöroglial yapısı, santral kanal yapılanmasının normal omurilik yapısı ile uyumlu olduğu görüldü. İskemi, barnidipin, prednol gruplarında ise polimorfonükleer lökosit

infiltrasyonu ve hafif aksonal şişme dışında kontrol grubundan farklı bulgular saptanmadı. Morfolojik açıdan iskemi grubu ile ilaç uygulanan gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

### **Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi**

Doku örneklerinde MDA düzeyi Mihara ve Uchiyama tarafından geliştirilen metod ile tayin edildi.

#### Örneklerin Hazırlanışı :

Dokular tartılarak 0,5mL/L triton-X 100 içeren %1,15 KCl çözeltisi ile homojenize edildi (% 10 ağırlık/hacim). Homojenizasyon için 9500 rpm (4x10s, 4°C)' de Ultra-Turrax homejenizatör (model T25, Jane and Kunkel, Germany) kullanıldı.

#### Deneyin Yapılışı :

- 500 µL homojenata 3 mL % 1' lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> eklenerek karıştırıldı.
- Karışıma 1 mL % 0,672'lik tiyobarbitürik asit (TBA) eklendikten sonra 45 dakika kaynar su banyosunda inkübe edildi.
- Oda sıcaklığında 4000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi.
- Organik faz alınarak 532 nm dalga boyunda absorpsanlar okundu.

1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak doku MDA miktarı nmol MDA/gram ıslak doku olarak hesaplandı.

### **MOTOR MUAYENE;**

Tüm denekler 1. Saat ve sakrifiye edilmeden hemen önceki 24. Saatte Tarlov'un tanımladığı motor muayene skorlamasına göre değerlendirildi.(tablo 1)



**Tablo 1:** Tarlov skalası

**Grade 0:** Tam plejik

**Grade 1:** Eklemlerde minimal hareket mevcut

**Grade 2:** Arka bacaklarını iyi oynatıyor fakat ayağa kalkamıyor

**Grade 3:** Ayağa kalkabiliyor fakat normal olarak yürüyemiyor

**Grade 4:** Normal olarak yürüyebiliyor

### **İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME;**

Yapılan çalışmamızda grupların 1. Ve 24. Saatte yapılan motor muayeneleri ve grupların malondialdehit (MDA) düzeylerinin analizinde ve karşılaştırılmasında, gruplardaki denek sayısı 10'un altında olması nedeniyle Kruskal Wallis Varyans analiz testi kullanıldı. Hangi gruplar arasında fark olduğunu belirlemek amacıyla da; Mann Whitney U testi kullanıldı. Bu testin kullanımı sırasında bonferoni düzeltmesi yapıldı. Mann Whitney U testinde anlamlılık düzeyi 0.05 olup, karşılaştırma sayısı olan 6'ya bölünerek anlamlılık değeri  $p < 0.008$  olarak kabul edildi.  $P < 0.008$ ' den küçük değerler anlamlı kabul edildi.

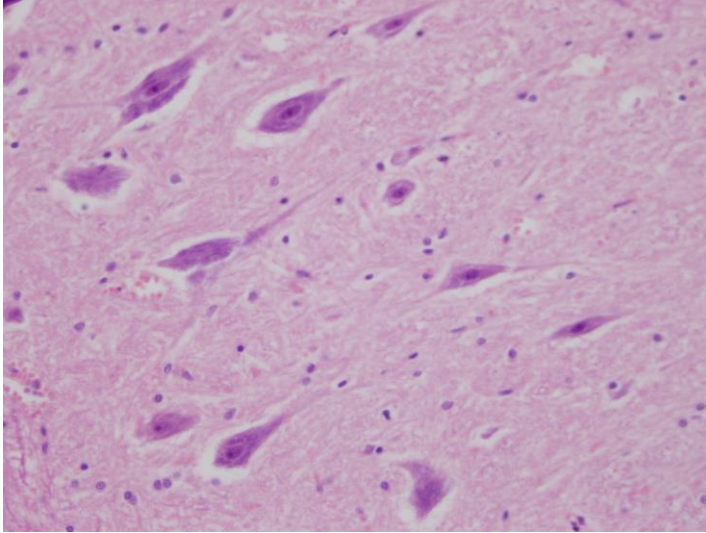
#### **4-BULGULAR;**

Çalışmamız 4 gruptan oluşuyor olup, kontrol grubunda 8 adet, iskemi grubunda 6 adet, barnidipin grubunda 8 adet, prednol grubunda 6 adet olmak üzere, toplam 28 adet sıçan üzerinde yapıldı.

#### **HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME;**

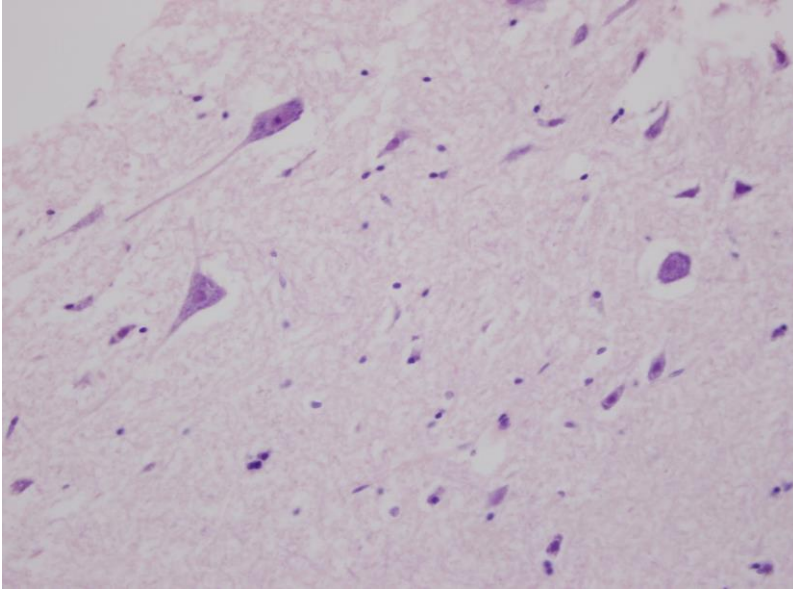
##### **Işık mikroskopisi;**

Grup-1(kontrol grubu); kontrol grubundan alınan transvers kesitlerin ışık mikroskop incelemesinde normal omurilik yapısı ile uyumlu bulgular izlendi.



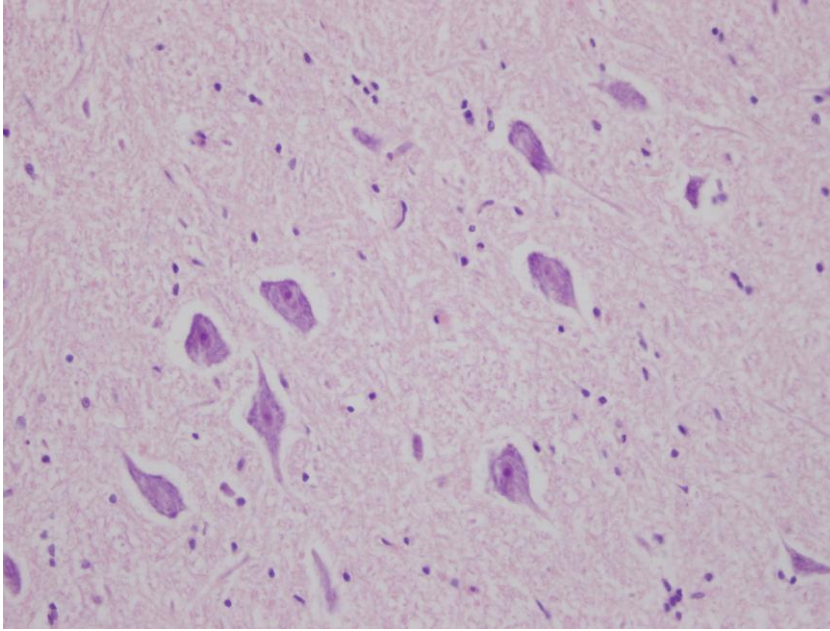
**Şekil 14:** Grup-1' deki örneklerin ışık mikroskobu altındaki görünümü

Grup-2 (iskemi grubu); iskemi grubundan alınan transvers kesitlerin ışık mikroskop incelemesinde; polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve az miktarda aksonal şişme dışında kontrol grubundan farklı patolojik bir bulguya rastlanmadı.



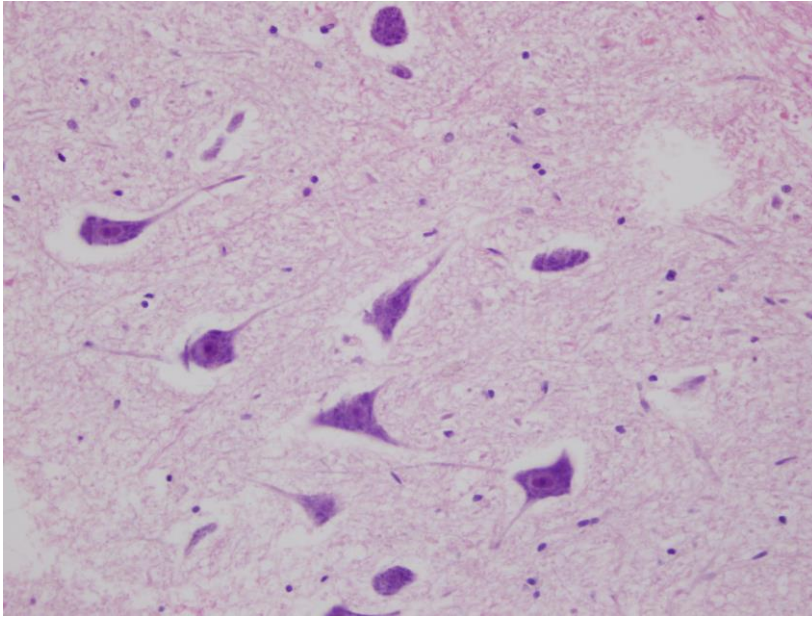
**Şekil 15:** Grup-2' deki örneklerin ışık mikroskobu altındaki görünümü

Grup-3(barnidipin grubu); barnidipin uygulanan grupta iskemi grubuna benzer olarak; polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve az miktarda aksonal şişme dışında kontrol grubundan farklı patolojik bir bulguya rastlanmadı.



**Şekil 16:** Grup-3' deki örneklerin ışık mikroskobu altındaki görünümü

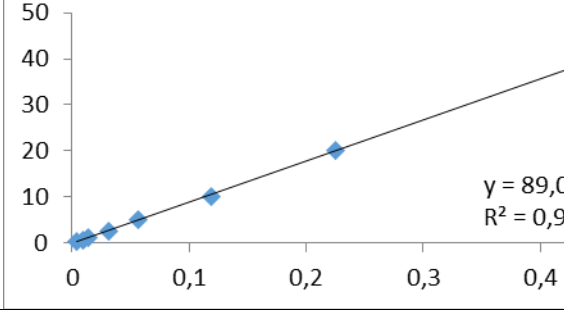
Grup-4 (prednol grubu); prednol grubundan alınan transvers kesitin ışık mikroskobu incelemesinde; barnidipin grubuyla karşılaştırıldığında morfolojik değişiklikler benzer yoğunlukta yada daha şiddetli olarak değerlendirildi.



**Şekil 17:** Grup-4' deki örneklerin ışık mikroskobu altındaki görünümü

## MDA DEĞERLERİNİN BULGULARI;

GRUP	Abs	c(nmol/ml)	g doku	MDA (nmol/ml g ıslak doku)			
K1	0,1566	13,94	0,0504	276,54			
K2	0,1549	13,79	0,054	255,30			
K3	0,1563	13,91	0,0502	277,11	standart	<b>0,44725</b>	40
K4	0,1545	13,75	0,0506	271,75		<b>0,2253</b>	20
K5	0,1565	13,93	0,0588	236,88		<b>0,11835</b>	10
K6	0,1501	13,36	0,0552	242,01		<b>0,0565</b>	5
K7	0,0891	7,93	0,038	208,68		<b>0,0314</b>	2,5
K8	0,1275	11,35	0,0543	208,98		<b>0,0138</b>	1,25
İ1	0,1482	13,19	0,0547	241,13		<b>0,009</b>	0,625
İ2	0,1818	16,18	0,055	294,19		<b>0,0035</b>	0,312
İ3	0,1126	10,02	0,054	185,58			
İ4	0,12775	11,37	0,0556	204,49			
İ5	0,15755	14,02	0,0533	263,08			
İ6	0,16765	14,92	0,0527	283,13			
B1	0,1773	15,78	0,0368	428,80			
B2	0,1156	10,29	0,05	205,77			
B3	0,181	16,11	0,0562	286,64			
B4	0,1525	13,57	0,0501	270,91			
B5	0,1607	14,30	0,0555	257,70			
B6	0,1755	15,62	0,053	294,71			
B7	0,1402	12,48	0,0495	252,08			
B8	0,1751	15,58	0,0536	290,75			
P1	0,2176	19,37	0,0532	364,03			
P2	0,2026	18,03	0,0517	348,77			
P3	0,1992	17,73	0,0519	341,60			
P4	0,1797	15,99	0,0534	299,50			
P5	0,1982	17,64	0,0502	351,39			
P6	0,1961	17,45	0,0544	320,83			



Tablo2; Biyokimyasal sonuçların isimlendirilmiş gruplara göre dağılımı.

**Motor muayenenin tarlov skorlamasına göre gruptaki dağılımı;**

<b>Gruplar</b>	<b>1.saat</b>	<b>24.saat</b>
<b>K1</b>	4	4
K2	4	4
K3	4	4
K4	4	4
K5	4	4
K6	4	4
K7	4	4
K8	4	4
<b>I1</b>	2	2
I2	2	2
I3	3	2
I4	3	3
I5	2	2
I6	2	3
<b>B1</b>	3	3
B2	3	4
B3	2	2
B4	3	3
B5	2	3
B6	3	3
B7	3	4
<b>B8</b>	2	2
<b>P1</b>	2	3
P2	3	3
P3	3	4
P4	3	3
P5	3	4
P6	2	2

Tablo3; tarlov motor muayene skorlarının dağılımı

Tarlov skalasına göre Motor muayene ve biyokimyasal olarak hesaplanan MDA değerleri Kruskal-Wallis Testi uygulaması amacıyla aşağıdaki tabloya tanımlandı.

## MEANS

Report

grupgr		1 saat	24 saat	mda
Kontrol grubu	Mean	4,00	4,00	247,1573
	N	8	8	8
	Std. Deviation	,000	,000	28,03398
	Std. Error of Mean	,000	,000	9,91151
	Minimum	4	4	208,68
	Maximum	4	4	277,11
iskemi grubu	Mean	2,33	2,33	245,2682
	N	6	6	6
	Std. Deviation	,516	,516	43,32651
	Std. Error of Mean	,211	,211	17,68797
	Minimum	2	2	185,58
	Maximum	3	3	294,19
barnidipin grubu	Mean	2,63	3,00	285,9204
	N	8	8	8
	Std. Deviation	,518	,756	64,48339
	Std. Error of Mean	,183	,267	22,79832
	Minimum	2	2	205,77
	Maximum	3	4	428,80
prednol grubu	Mean	2,67	3,17	337,6890
	N	6	6	6
	Std. Deviation	,516	,753	23,50519
	Std. Error of Mean	,211	,307	9,59595
	Minimum	2	2	299,50
	Maximum	3	4	364,03
Total	Mean	2,96	3,18	277,2273
	N	28	28	28
	Std. Deviation	,793	,819	55,32954
	Std. Error of Mean	,150	,155	10,45630
	Minimum	2	2	185,58
	Maximum	4	4	428,80



## NPar Tests

### Kruskal-Wallis Test

Ranks

grupgr	N	Mean Rank
1 saat		
Kontrol grubu	8	24,50
iskemi grubu	6	8,33
barnidipin grubu	8	11,25
prednol grubu	6	11,67
Total	28	
24 saat		
Kontrol grubu	8	22,50
iskemi grubu	6	6,67
barnidipin grubu	8	12,63
prednol grubu	6	14,17
Total	28	
mda		
Kontrol grubu	8	9,75
iskemi grubu	6	9,83
barnidipin grubu	8	15,25
prednol grubu	6	24,50
Total	28	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Chi-Square	19,407	15,377	13,532
df	3	3	3
Asymp. Sig.	<b>,000</b>	<b>,002</b>	<b>,004</b>

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: grupgr

Kruskal- Wallis testinin sonuçlarına göre; 1.saat ve 24.saat motor muayene verileri ve MDA değerlerinin parametreler arası karşılaştırılması her üç parametrede de  $p < 0.008$  olması nedeniyle anlamlı bulundu. Bu nedenle gruplar arası farkı karşılaştırmak amacıyla Mann-Whitney U testi uygulandı.

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1 saat	28	2,96	,793	2	4
24 saat	28	3,18	,819	2	4
mda	28	,2273	5,32954	85,58	28,80
grupgr	28	,4286	1,13622	1,00	4,00

## Mann-Whitney Test

### Ranks

grupgr	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 saat Kontrol grubu	8	10,50	84,00
1 saat prednol grubu	6	3,50	21,00
1 saat Total	14		
24 saat Kontrol grubu	8	9,50	76,00
24 saat prednol grubu	6	4,83	29,00
24 saat Total	14		
mda Kontrol grubu	8	4,50	36,00
mda prednol grubu	6	11,50	69,00
mda Total	14		

### Test Statistics<sup>b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Mann-Whitney U	,000	8,000	,000
Wilcoxon W	21,000	29,000	36,000
Z	-3,483	-2,605	-3,098
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,000</b>	,009	<b>,002</b>
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,001 <sup>a</sup>	,043 <sup>a</sup>	,001 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: grupgr

Kontrol grubu ve prednol grubu arasında yapılan karşılaştırma 1.saat muayene için anlamlı 24.saat motor muayene açısından anlamsız MDA değeri açısından anlamlı olarak bulundu.

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1 saat	28	2,96	,793	2	4
24 saat	28	3,18	,819	2	4
mda	28	,2273	5,32954	85,58	28,80
grupgr	28	,4286	1,13622	1,00	4,00

### Ranks

grupgr	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 saat Kontrol grubu	8	12,50	100,00
1 saat barnidipin grubu	8	4,50	36,00
1 saat Total	16		
24 saat Kontrol grubu	8	11,50	92,00
24 saat barnidipin grubu	8	5,50	44,00
24 saat Total	16		
mda Kontrol grubu	8	6,75	54,00
mda barnidipin grubu	8	10,25	82,00
mda Total	16		

### Test Statistics<sup>b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Mann-Whitney U	,000	8,000	18,000
Wilcoxon W	36,000	44,000	54,000
Z	-3,664	-2,928	-1,470
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,000</b>	<b>,003</b>	,141
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 <sup>a</sup>	,010 <sup>a</sup>	,161 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: grupgr

Kontrol grubu ve barnidipin grubu arasında yapılan karşılaştırma 1.saat ve 24.saat motor muayene bulguları açısından anlamlı, fakat MDA değerleri açısından anlamsız bulundu.

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1 saat	28	2,96	,793	2	4
24 saat	28	3,18	,819	2	4
mda	28	,2273	5,32954	85,58	28,80
grupgr	28	,4286	1,13622	1,00	4,00

### Ranks

grupgr	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 saat			
Kontrol grubu	8	10,50	84,00
iskemi grubu	6	3,50	21,00
Total	14		
24 saat			
Kontrol grubu	8	10,50	84,00
iskemi grubu	6	3,50	21,00
Total	14		
mda			
Kontrol grubu	8	7,50	60,00
iskemi grubu	6	7,50	45,00
Total	14		

### Test Statistics<sup>b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Mann-Whitney U	,000	,000	24,000
Wilcoxon W	21,000	21,000	45,000
Z	-3,483	-3,483	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,000</b>	<b>,000</b>	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,001 <sup>a</sup>	,001 <sup>a</sup>	1,000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: grupgr

Kontrol grubu ile iskemi grubu arasında yapılan karşılaştırma 1.saat ve 24.saat motor muayene açısından anlamlı fakat MDA değerleri açısından anlamsız bulundu.

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1 saat	28	2,96	,793	2	4
24 saat	28	3,18	,819	2	4
mda	28	,2273	5,32954	85,58	28,80
grupgr	28	,4286	1,13622	1,00	4,00

### Ranks

grupgr	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 saat iskemi grubu	6	6,33	38,00
1 saat barnidipin grubu	8	8,38	67,00
1 saat Total	14		
24 saat iskemi grubu	6	5,50	33,00
24 saat barnidipin grubu	8	9,00	72,00
24 saat Total	14		
mda iskemi grubu	6	5,83	35,00
mda barnidipin grubu	8	8,75	70,00
mda Total	14		

### Test Statistics<sup>b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Mann-Whitney U	17,000	12,000	14,000
Wilcoxon W	38,000	33,000	35,000
Z	-1,041	-1,686	-1,291
Asymp. Sig. (2-tailed)	,298	,092	,197
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,414 <sup>a</sup>	,142 <sup>a</sup>	,228 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: grupgr

İskemi grubu ile barnidipin grubu arasında yapılan karşılaştırma, her üç parametre açısından anlamsız bulundu.

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1 saat	28	2,96	,793	2	4
24 saat	28	3,18	,819	2	4
mda	28	,2273	5,32954	85,58	28,80
grupgr	28	,4286	1,13622	1,00	4,00

### Ranks

grupgr	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 saat iskemi grubu	6	5,50	33,00
1 saat prednol grubu	6	7,50	45,00
1 saat Total	12		
24 saat iskemi grubu	6	4,67	28,00
24 saat prednol grubu	6	8,33	50,00
24 saat Total	12		
mda iskemi grubu	6	3,50	21,00
mda prednol grubu	6	9,50	57,00
mda Total	12		

### Test Statistics<sup>b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Mann-Whitney U	12,000	7,000	,000
Wilcoxon W	33,000	28,000	21,000
Z	-1,106	-1,903	-2,882
Asymp. Sig. (2-tailed)	,269	,057	<b>,004</b>
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,394 <sup>a</sup>	,093 <sup>a</sup>	,002 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: grupgr

İskemi grubu ile prednol grubu arasında yapılan karşılaştırmada 1. Saat ve 24.saat motor muayene açısından anlamsız MDA değerleri açısından anlamlı sonuçlar bulundu.

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1 saat	28	2,96	,793	2	4
24 saat	28	3,18	,819	2	4
mda	28	,2273	5,32954	85,58	28,80
grupgr	28	,4286	1,13622	1,00	4,00

### Ranks

grupgr	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1 saat barnidipin grubu	8	7,38	59,00
1 saat prednol grubu	6	7,67	46,00
1 saat Total	14		
24 saat barnidipin grubu	8	7,13	57,00
24 saat prednol grubu	6	8,00	48,00
24 saat Total	14		
mda barnidipin grubu	8	5,25	42,00
mda prednol grubu	6	10,50	63,00
mda Total	14		

### Test Statistics<sup>b</sup>

	1 saat	24 saat	mda
Mann-Whitney U	23,000	21,000	6,000
Wilcoxon W	59,000	57,000	42,000
Z	-,155	-,421	-2,324
Asymp. Sig. (2-tailed)	,877	,674	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,950 <sup>a</sup>	,755 <sup>a</sup>	,020 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: grupgr

Barnidipin grubu ve prednol grubu arasında yapılan karşılaştırmada her üç parametre açısından da anlamsız bulundu.

## 5-TARTIŞMA;

Omurilik yaralanması geçiren hastalar, sıklıkla sağlıklı genç hastalar (15-25 yaş) olmaları nedeniyle toplumsal açıdan önemlidir. Komplet spinal kord yaralanması sonrası işgücü kaybı ve tedavi masrafları göz önünde bulundurulduğunda, ortalama yıllık vaka başına Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre 1,5 milyon dolarlık harcamaya neden olmaktadır. Bu nedenle etkin tedavi yöntemlerinin bulunması toplumsal açıdan ciddi ekonomik, psikososyal ve fiziksel faydalar sağlayacaktır (5).

Akut spinal kord hasarı oluşumunda, primer-mekanik ve sekonder hasarlanma olmak üzere iki mekanizma olduğu hipotezi mevcuttur. Sekonder hasarlanma primer-mekanik hasarlanma tarafından tetiklenen birçok mekanizmanın rol oynadığı hasarlanma olarak tanımlanır (5). Mekanik doku tahribatı nekrotik hücre ölümüyle sonuçlanır. Sekonder hasar ise primer-mekanik hasarın tetiklediği metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasardır (5, 6, 7). Sekonder hasarın oluşumunda iskemi önemli bir yere sahiptir. İskemi sonrası enerji yetersizliği olur ve dokular anaerobik solunumla bu olayı kompanse etmeye çalışır. Bu da birçok patolojik olayı tetikler (5, 6, 7). Sekonder hasarlanmanın önemli sebeplerinden birinin posttravmatik iskemi olduğu birçok araştırmada vurgulanmaktadır. Bazı araştırmacılar spinal travma sonrası spinal kordun kan akımını artırmak amacıyla; dopamin, adrenalin, nimodipin, dekstran ve kan transfüzyonu gibi yöntemler kullanmışlar ve bu yöntemlerin aksonal fonksiyonları düzelttiğini göstermişlerdir (5). Aynı amaçla yüksek doz steroid tedavileri de sekonder hasarın önlenmesinde yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemlerindedir (8, 9). Metilprednizolon'un nöroprotektif etkisi ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi nedeniyle spinal kord yaralanmasında yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (8). Kalsiyum kanal blokörlerinin belirgin nöroprotektif etkisi olmasa da spinal kord yaralanmasında mikrosirkülasyon ve omurilik perfüzyonu üzerine olumlu etkileri olduğu bilinmektedir.

Primer spinal kord hasarı önlenemediği için günümüzde yapılan tüm deneysel çalışmalar, sekonder hasarı önlemeye yönelik yapılan çalışmalardır. Spinal kordda iskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisini araştırmak ve etkin tedavi yöntemleri bulmak amacıyla birçok deneysel hayvan modeli geliştirilmiştir. Bu modellerin çoğu in vivo hayvan modelleri olup, in vitro şartlarda hipoksik veya hipoglisemik ortamlar oluşturarak hücre kültürleri ve izole sinir dokuları da incelenmiştir (67, 68). Hayvan modellerinde birçok hayvan türü kullanılmakla birlikte, elde edilebilmesi, ulaşılabilirliği, maliyeti, transgenik potansiyelleri açısından sıçanlar ve fareler en uygun olanlarıdır.

Spinal iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturmak için yapılan hayvan modellerinin günümüzde en fazla ilgi göreni, Zivin ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu modelde tavşan abdominal aortu, sol renal arter distalinden kliplenerek 1 saat süreyle kapatılmıştır. Daha sonra bu işlem Zivin ve arkadaşları tarafından modifiye edilerek; abdominal aort etrafına sarılan ve dışardan



sıkılıp, genişletilebilen bir kateter yerleştirilip, 10-60 dakika arasında oklüzyon yapılarak nörolojik ve histopatolojik bulgular incelenmiştir. Kalsiyum kanal blokörlerinin birçok çalışmada travma sonrası spinal kordda kan akımını arttırdığı gösterilmiştir. Hasarlanma sonrası oluşan vazospazmda mikrovaskülariteyi düzenleyerek faydalı etki gösterirler. Selektif olarak SSS damarlarına etki ederek periferik vazodilatasyonu engelleyerek, iskemik defisit oluşmasını engellerler. Nöral dokularda perfüzyonu arttırırlar. Motor ve somatosensorial uyarılmış potansiyeller ölçülerek artmış perfüzyonun, aksonal perfüzyonu iyileştirdiği gösterilmiştir (24).

Deneyssel spinal kord hasarlanma çalışmalarında kalsiyum kanal blokörlerinin nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmemiş, fakat birçok çalışmada travma sonrası spinal kord kan akımında artış olduğu gösterilmiştir (60,61).

Kalsiyum kanal blokörlerinin antihipertansif etkisi dışında vazoprotektif etkisi de mevcuttur.

Dihidropiridin türevi olan barnidipin daha çok periferik vasküler yapı üzerine etkilidir(66).

Spinal kord iskemi modellerinin, insan iskemi tablosundan bazı yönleriyle farklı olmaları nedeniyle hiçbiri mükemmel değildir. Bunun en önemli sebeplerinden birisi spinal kord beslenmesinin tüm canlılarda, hatta türler içinde farklılıklar göstermesidir.

Biz bu çalışmamızda metilprednizolonun spinal kord yaralanmasında bilinen olumlu etkilerini, Grup A kalsiyum kanal blokörü olan barnidipinle karşılaştırdık.

Çalışmamızda kullanılması güvenilir, kolay ve ucuz olan Zivin ve arkadaşlarının sol renal arter altından abdominal aort kliplenmesi yöntemi kullanılmıştır. Bizim çalışmamızda da literatürle paralellik gösteren, değişik derecelerde nörolojik defisit sağlanmıştır.

Doku örneklerinin yapılan histopatolojik değerlendirilmesinde, grup-1 (kontrol)'de normal spinal kord yapısı ile uyumlu görünüm mevcuttur. Diğer tüm gruplarda polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve hafif aksonal şişme izlenmiş ve bu görünüm gruplar arasında belirgin farklılık veya üstünlük saptanmamıştır. Barnidipin uygulanan grupta iskemi grubunun aynı histopatolojik görünüme sahip olması, barnidipin'in spinal iskemi-reperfüzyon yaralanması sonrası nöroprotektif etkinliğe sahip olmadığı yönünde yorumlanmıştır.

Birinci ve 24. Saatlerde yapılan motor muayene skorları karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olması tüm gruplarda yeterli nörolojik defisit oluşturulduğunun göstergesi olarak kabul edildi. Kontrol grubu dışındaki gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Çalışmamızda biyokimyasal değişiklikleri değerlendirebilmek için ölçülen MDA değerlerinin istatistiklerine göre; kontrol-prednol grubu arasında ve iskemi-prednol grubu arasında istatistiksel değerlendirme anlamlı bulundu. Barnidipin uygulanan grupta kontrol grubu arasında

farklı sonuçlar elde edilmesine rağmen istatistiksel olarak bu farklılık anlamsızdı. Aynı şekilde barnidipin ve metil-prednizolon uygulanan gruplar arasında farklı sonuçlar olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsızdı. Barnidipin verilen deneklerde MDA değerinde düşüş olmasına rağmen istatistiksel olarak, bu düşüş anlamlı bulunmadı. Fakat metilprednizolon uygulanan deneklerde doku MDA değişikliği, kontrol ve iskemi gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlıydı. MDA değerindeki bu değişiklikler, metil prednizolon'un spinal kord iskemi reperfüzyon yaralanmasında faydalı etkileri olduğu yönünde yorumlandı. Barnidipin uygulanan deneklerde MDA değerinde azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamsız bulundu.

Bizim çalışmamızda süre 24 Saatte sınırlı tutulmuş ve barnidipin sadece ilk gün tek dozda 10 mg/kg şeklinde verilmiştir. Barnidipin verilen ve verilmeyen gruplar arasında fark izlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. İlaç verdikten sonraki gün bekleme süresi daha uzun tutulsaydı ve barnidipin tekrarlayan dozlarda verilseydi belki de anlamlı sonuçlar elde edilebilirdi.

## 6-SONUÇ;

Çalışmamızda; Abdominal Aort üzerine anevrizma klibi ile geçici kompresyon uygulanarak, spinal iskemi ve ardından reperfüzyon hasarı oluşturuldu. Sınıflandırılan gruplar arasında yaptığımız karşılaştırmada, değişik derecelerde nörolojik hasar olduğu görüldü. Spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesindeki etkinliği araştırılan Barnidipin'in diğer gruplarla karşılaştırıldığında etkinliğinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Metil prednizolon uygulanan grupta ise özellikle MDA değerleri baz alınarak yapılan değerlendirmede, diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildi.

Sonuç olarak; barnidipin'in spinal iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde, bizim verdiğimiz doz ve sürede yeterli etkinliğe sahip olmadığı görüldü.

## 7-ÖZET;

Biz bu çalışmamızda spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarında Barnidipin'in etkinliğini ölçmeyi amaçladık. Bu amaçla 32 adet dişi sıçan 4 gruba ayrılarak çalışma yapıldı. 1. Grup kontrol grubu olarak kabul edildi. Kontrol grubu dışındaki diğer 3 grupta Abdominal Aort'a 45 dakika klip kompresyonu yapıldı. Grup-2'ye sadece klip kompresyonu yapıldı ve hiçbir ilaç uygulanmadı. 3. Gruba 10mg/kg Barnidipin, 4. Gruba 30 mg/kg metil prednizolon intraperitoneal yoldan verildi. Tüm gruplara 1. ve 24. saatte Tarlov skalasına göre motor muayene yapıldı. 24 saat sonra tüm deneklerin spinal kordları Histopatolojik ve biyokimyasal inceleme amacıyla çıkarıldı.

Sonuç olarak; Barnidipin'in, bizim verdiğimiz doz ve sürede spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarlanmasını azaltmada veya önlemede yeterli etkinliğe sahip olmadığı anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler; spinal kord, iskemi, reperfüzyon, Barnidipin, Metilprednizolon

## 8-İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY);

In this study, our aim was to analyse the effects of barnidipine in spinal cord ischemia reperfusion injury. 4 groups of 32 female rats were used in this study. The Group 1 was considered as sham group. In the other 3 groups clip compression, was performed for 45 minutes on the abdominal aorta. Group 2 was clip compression only group, and no treatment was given. Group 3 was Barnidipine group, and in this group 10 mg/kg barnidipine was administered intraperitoneally. In Group 4, 30mg/kg metiprednizolon was administered intraperitoneally. In all of the groups motor examination by Tarlov scale was performed at the 1st and 24th hours after the injury. At the 24th hour spinal cords of the all subjects were excised for biochemical and histopathological examinations.

In conclusion, we found that barnidipine does not have enough activity on spinal cord ischemia reperfusion injury in the doses and time span we used.

KEYWORDS; spinal cord, ischemia, reperfusion, , metilprednizolon

## 9-KAYNAKLAR;

- 1-Sekhan LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics and pathophysiology of acute spinal cord injury. Spine 26;s2-s12
- 2-Karaahmetoğlu SS. Unal S, Karacan I, Yılmaz H, Togay HS, Ertekin M, Dosoglu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T, Travmatic spinal kord injuries
- 3-HO CH, Wuermser LA, Priebe MM, etal. ; Spinal cord injury medicine
- 4-Pearse DD, Sanchez AR, Preriera FC, et al. ; Transplantation of schwan cells and/or olfactory ensheathing glia into the contured spinal kord; Glia 55:976- 1000,2007
- 5-Tator CH, FRCS, Fehlings MG ; Rewiew of the secondary injury theory of acute spinal kord travma with emphasis on vaskuler mechanisms; J Neurosurg, 75:15-26,1991
- 6-İpçioğlu C ; Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi . omurilik omurga cerrahisi, Ed M. Zileli, Fahir Özer 1. Baskı İzmir saray med. Yayıncılık 2002 sy;459-465
- 7-Kwen BK, Oxland TR, Tetzlaff; Animal models used in spinal cord regeneration research. Spine 27:1504-1510,2002
- 8-Kokoszka JE, Coşkun P, Esposito LA, Wallacc DC ; Increased mitochondrial axydative stressin the sod2 mouse results in the agerelated decline of mitochondrial function in increased appopitozis. Proc.natl.Acad.Sci.USA; 98:2278-2283,2001
- 9-Topsakal C, Erol FS, Özveren MF, et al. ; Effects of methylprednizolone and dextromethorphan on lipid peroxidation in an experimental model of spinal cord injury, neurosurg. Rev, 25:258-266,2002
- 10-Agrawal SK, Fehlings MG: Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons invitro: Role of Na, Na-K ATPase, the NA-H exchanger and the Na-Ca exchanger. Neuroscience, 16 (2): 545-552, 1996.
- 11-Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the spine in ancient times. Spine, 28 (13): 1481-1484, 2003
- 12-Koozekanani SH, Vise WM, Hashemi RM et al: Possible mechanisms for observedpathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. JNeurosurg; 44: 429-434, 1976.

- 13-Ohnishi ST, Barr JK, Katagi C, et al: Protection of rat spinal cord against contusion injury by new prostaglandin derivatives. *Amzneim-Forsch/drug Res.* 39: 236-239, 1989.
- 14-Anderson T: Spinal cord contusion injury: Experimental dissociation of hemorrhagic necrosis and subacute loss of axonal conduction. *J Neurosurg*, 62: 115-119, 1985.
- 15-Guyton and hall tıbbi fizyoloji
- 16-Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918, Newyork Bartleby. com. 2000
- 17-Netter FH: Beyin ve omurluğun anatomisi, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, ElsevierSaunders, 2007, pp: 36-66
- 18-Deneyisel spinal kord yaralanma modelinde clopidogrel'in koruyucu ve tedavi edici etkisinin araştırılması, uzmanlık tezi, İstanbul 2007.
- 19-Bir sıçan modelinde iskemi reperfüzyon hasarlanmasında doksisiklinin etkilerinin araştırılması. Uzmanlık tezi. Trabzon 2013
- 20-Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C: The role and timing of decompression in acute spinal cord injury. *Spine* 2001; 26: s 101-s110.
- 21-Kaptanoğlu E: Omurilik yaralanması ve değerlendirilmesi, Ed. Aksoy K, Temel Nöroşirürji, Türk Nöroşirürji Derneği yayınları, Ankara, 2005, s: 1144-1162
- 22-Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology*, 24 (5): 265-279, 2001
- 23-Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG: Role of L-and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience*, 99: 179-188, 2000.
- 24-Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*, 44: 1027-1040, 1999.

- 25-Bethea JR, Dietrich WD: Targeting the host inflammatory response in traumatic spinalcord injury. *Current Opinion in Neurology*, 15: 355-360, 2002
- 26-Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal cord*, 36: 683-690, 1998
- 27-Li M, Ona VO, Chen M, et al: Functional role and therapeutic implications of neuronalcaspase-1 and -3 in a mause model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience*, 99: 333-342, 2000
- 28-Hall ED, Yokers PA, Andrus PK: Biochemistry and Pharmacology of Lipid Antioxidant Inacute Brain and Spinal Cord Injury. *J Neuro Trauma*, 9 (1): 165-172, 1992
- 29-Fujimoto T, Nakamura T, İkedada T, et al: Effects of EPC-K On lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine*, 25 (1): 24-29, 2000.
- 30-Heffner JE, Repine JE: Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Rev Respir Dis*, 140: 531-554, 1989
- 31-Barut Ş, Canbolat A, Bilge T, Aydın Y, Çokneşeli B, Kaya U: Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: time-level relationship. *Neurosurgery Rev*, 16: 53-59,1993
- 32-Cheeseman KH, Salter TF: An introduction to free radical biochemistry. *Brit.Med Bul.* 49: 481-493, 1993
- 33-Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T, et al: Relationship between free radicalproduction and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the ratbrain. *Brain Res.* 554: 186-192, 1991
- 34-Görgülü A, Kırış T, Ünal F, et al: Superoxide dismutase activity and the effects onNBQX and CPP on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Res Exp Med* 199: 285-293, 2000
- 35-Zileli M: Omurilik yaralanmasının farmakolojik tedavisi. *Omurilik ve Omurga Cerrahisi*. Ed. Zileli M, Özer AF, 2. Baskı, Saray Medikal yayıncılık, İzmir, 2002, s: 833-840.



- 36-Joseph J.J, Pillai A, Bramley D: Clopidogrel in orthopedic patients: A Review of Current Practice in Scotland. *Thrombosis Journal*, 5: 6, 2007,
- 37-Uzan M: Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji, *Medulla Spinalis Yaralanmaları*, Ed. Hancı M, Aydingöz Ö, Logos Yayıncılık, istanbul, 2000, s:152-161
- 38-Ellison D: *Neuropathology. A reference text of CNS pathology.* 1998 Mosby International Ltd. Grafos SA. Barcelona, Spain, pp 1121-1123
- 39-Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ: Acute spinal cord injury, Part I: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology*, 24 (5): 254-264, 2001
- 40-Zhang Z, Guth L: Experimental spinal cord injury: Wallerian degeneration in the dorsal column is followed by revascularization, glial proliferation, and nerve regeneration. *Experimental Neurology*, 147: 159-171, 1997
- 41-Grossman S, Wolfe BB, Yasuda RP, Wrathall JR: Alterations in AMPA receptor subunit expression after experimental spinal cord injury. *The journal of neuroscience* 19(14): 5711-5720, 1999: 200-209, 2000.
- 42-Schwab M. E: Repairing the injured spinal cord, *Science*, 295: 1029-1031, 2002
- 43-Delamarter RB, Sherman J, Carr J: Pathophysiology of spinal cord injury. *J Bone Joint Surg Am*, 77: 1042-1049, 1995
- 44-Fehlings MG, Tator CH: An evidence-based review of surgical decompression for acute spinal cord injury: rationale, indications and timing based on experimental and clinical studies. *Neurosurg Focus*, 6 (1): Article 1, 1999
- 45-Tator CH: Strategies for recovery and regeneration after brain and spinal cord injury. *Injury Prevention* 8: 33-36, 2002
- 46-Duh MS, Shepard MJ, Wilberger JE, Bracken MB: The effectiveness of surgery on the treatment of acute spinal cord injury and its relation to pharmacological treatment. *Neurosurgery*, 35: 240-249, 1994.

- 47-Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Solaroğlu İ, et al: Magnesium sulfate treatment in spinalcord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurg. Rev*, 26:283-287, 2003
- 48-Rosenberg LJ, Teng YD, Wrathall JR: Effects of the sodium channel blockertetrodotoxin on acute white matter pathology after experimental contusive spinal cord injury. *The Journal of Neuroscience*, 19(14): 6122-6133, 1999
- 49-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.*The journal of neuroscience*, 17 (11): 4359-4366, 1997
- 50-Schwats G, Fehlings M: Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury:improved behavioral and neuroanatomical recovery with riluzole. *J Neurosurg (Spine2)*, 94: 245-256, 2001
- 51-Fu ES, Tummala RP: Neuroprotection in brain and spinal cord trauma. *Current opinion in anaesthesiology*, 18: 181-187, 2005
- 52-Vanicky I, Marsala M, Galik J, Marsala J: Epidural perfusion cooling protection against protracted spinal cord ischemia in rabbits. *J Neurosurg*, 79: 736-731, 1993
- 53-Gorio A, Gökmen N, Erbayraktar S, et al: Recombinant human erythropoietin caunteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. *PNAS*, 99: 9450-9455, 2002
- 54-Barros Filho TEP, Oliveria RP, Tsanaclis AM, et al : An experimental model for he transplantation of fetal central nervous system cells to the injured spinal cord in rats. *Rev.Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paolo*, 57 (69): 257-264, 2002
- 55-Tachibana T, Noguchi K, Ruda MA: Analysis of gene expression following spinalcord injury in rat using complementary DNA microarray: *Neuroscience Letters*, 327: 133-137, 2002

56-Sharma H, Badgaiyan RD, Alm P, et al: Neuroprotective effects of nitric oxide synthase inhibitors in spinal cord injury-induced pathophysiology and motor functions. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1053: 42-434, 2005

57-Davis AE, Campbell SJ, Wilainam P, et al: Post conditioning lipopolysaccharide reduces the inflammatory infiltrate to the injured brain and spinal cord: a potential neuroprotective treatment. Journal of Neuroscience, 22: 2441-2450, 2005

58-Kellogg EW 3rd, Fridovich I: Superoxide, hydrogen peroxide and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. J. Biol. Chem. 250: 8812-8817, 1975.

59-Kanko M, Hale M, Akbaş M.H, et al: Protective effects of clopidogrel on oxidant damage in a rat model of acute ischemia. Tohoku J. Exp Med. 205:133-139, 2005

60-Fehlings MG, Tator CH, Linden RD: The effect of nimodipin and dextran on axonal function and blood flow experimental spinal cord injury. J Neurosurgery, 71: 403-416, 1989.

61-Imamura H, Tator CH: Effect of intrathecal nimodipin on spinal cord blood flow and evoked potentials in the normal and injured cord. Spinal cord, 36: 497-506, 1998.

62-Pointillart V, Petitjean ME, Wiart L, et al: Pharmacological therapy of spinal cord injury during the acute phase. Spinal cord, 38: 7-16, 2000.

63-Ross IB, Tator CH: Spinal cord blood flow and evoked potential responses after treatment with nimodipine or methylprednisolone in spinal cord injured rats. Neurosurgery, 33: 470-477, 1993.

64-Opie LH. Clinical use of calcium channel antagonist drugs. second ed. Boston, Kluwer Academic Publishers; 1990, 28-69

65-Opie LH. Clinical use of calcium channel antagonist drugs. second ed. Boston, Kluwer Academic Publishers; 1990, 28-69

66-Braunvald E. Mechanism of action of calcium channel-blocking agents. N Engl J

Med 1982;307:1618

67-Bonmann E, Suschek C, Spranger M, Kolb-Bachofen V: The dominant role of exogenous or endogenous interleukin-1 beta on expression and activity of inducible nitric oxide synthase in rat microvascular brain endothelial cells. *Neurosci Lett* 230: 109-112, 1997.

68-Sawada M, Suzumura A, Hosoya H, Marunouchi T, Nagatsu T: Interleukin-10 inhibits both production of cytokines and expression of cytokine receptors in microglia.