

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

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMALARINDA ATP MgCl<sub>2</sub>'ÜN

AKUT DÖNEM ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI.

UZMANLIK TEZİ  
Dr. Ertuğrul Çakır

Trabzon-1998

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

**DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMALARINDA ATP MgCl<sub>2</sub>'ÜN**

**AKUT DÖNEM ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI.**

**UZMANLIK TEZİ**  
**Dr. Ertuğrul Çakır**

**Tez Danışmanı : Doç.Dr. Süleyman BAYKAL**

**Trabzon-1998**

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. MATERYAL VE METOD	12
4. BULGULAR	17
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	29
7. ÖZET	30
8. İNGİLİZCE ÖZET	31
9. KAYNAKLAR	32 - 37

## GİRİŞ

Spinal kord travmaları (SKT) çeşitli fiziksel, sosyal, ekonomik ve psikolojik zorlukları beraberinde taşıyan major bir sağlık problemidir. SKT'ları ekonomik yükünün yanısıra emosyonel travma ve işgücü kaybına da neden olarak büyük yıkımlara yol açabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, her tam kord kesili bir hastanın işgücü kaybı ve sağlık harcamalarının toplamı yaşam boyunca yaklaşık birbuçuk milyon doları bulmaktadır (1). Yurdumuzda spinal kord yaralanması insidansına ait, yurtçapında yürütülen çalışmalar olmakla birlikte bu çalışmaların sonuçları henüz açıklanmamıştır. ABD'de SKT insidansı milyonda 20 ile 40 arasında değişmektedir (1).

Olayın bu denli büyük çaplı olmasından dolayı SKT'nın patolojisi ve tedavisine yönelik birçok deneysel çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. İlk olarak 1908 yılında Allen'in oluşturduğu deneysel SKT'nı takiben myelotomi girişiminden sonra birçok cerrahi yaklaşım ve farmakolojik ajan tedavi amacıyla denenmiştir (2). Bunlar arasında spinal kord dekompresyonu, hipotermi ve lokal soğutma, steroidler, dimetilsulfoksit, isoproterenol, aminofilin, mannitol, kalsiyum kanal blokörleri, endojen opioid blokörleri gibi ajanların verilmesi sayılabilir (1-10).

Bugüne kadar birçok tedavi yönteminin denenmiş olmasının nedeni SKT'nın fizyopatolojisinin tam olarak saptanamamış olmasıdır. Son yıllarda sayısı giderek artan çalışmalarda yeni fizyopatolojik mekanizmalar ve tedavi yöntemleri ileri sürülmektedir.

SKT sonucu spinal kord kan akımındaki azalma hipoksiye neden olur. Laktik asit düzeyinde, hipoksantin ve lipid peroksitlerinde artışa yol açar. Kan akımının yeniden başlamasıyla ksantin oksidaz enzimi varlığında hipoksantinün ürik aside dönüşümü için gereken oksijen sağlanır. Bu esnada bol miktarda serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Bu serbest radikaller, hücre ve mitokondri membranlarındaki lipidlerle reaksiyona girerek, lipid peroksitlerini oluştururlar.

Membranlardaki lipitlerin peroksidasyonu membran bütünlüğünü bozar ve hücre bütünlüğü bozulmuş olur; bu olaya reperfüzyon yaralanması denilir (11-16).

ATP-MgCl<sub>2</sub> deneysel olarak böbrek, karaciğer, ince barsak, akciğer, kalp gibi birçok dokunun iskemi-reperfüzyon yaralanmasında çalışılmış, koruyucu etkisi rapor edilmiş ve reperfüzyon yaralanmasından sonra iyileşme sürecine yardımcı olabileceği gösterilmiştir (13-16).

ATP-MgCl<sub>2</sub> daha önce deneysel SKT da çalışılmamıştır.

Bu çalışma, diğer dokulardaki iskemi reperfüzyon yaralanmasında olumlu etkisi ortaya konulan ATP-MgCl<sub>2</sub>'ün SKT' da oluşan iskemi-reperfüzyon yaralanması üzerine olan etkilerini saptamak amacıyla planlandı.

## GENEL BİLGİLER

### *AKUT SPİNAL KORD YARALANMASI*

#### **Akut Spinal Kord Yaralanmasının Fizyopatolojisi**

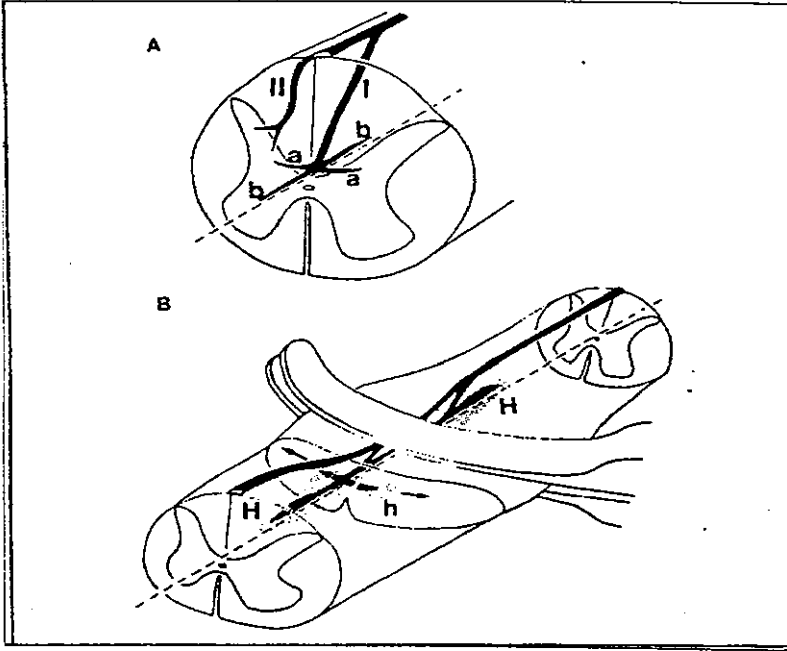
##### ***Primer ve Sekonder Yaralanma Mekanizmaları***

SKT'da göze çarpan en önemli klinik ve deneysel gözlem lezyonun patolojisinin lezyondan sonraki birkaç gün içinde dramatik olarak değişmesidir bu da lezyonda birincil ve ikincil hasar mekanizmalarının etkili olmasına bağlanmıştır (2). En sık rastlanılan birincil hasar mekanizması darbe ile birlikte devam eden kompresyondur. Bu; burst kırıkları, kırıklı çıkıklar, kurşun yaralanmaları ve rüptüre diskler gibi durumlarda gözlenir (Tablo 1). Süren bası olmaksızın tek başına darbe ise servikal spondylozisli hastalarda hiperekstansiyonla görülür (17). Ateşli silah yaralanmaları laserasyon, kompresyon, konküzyon gibi kombine lezyonlar oluşturabilir.

Bu durumların tümüne benzer deneysel akut SKT modelleri geliştirilmiştir. En popüler olanı 1911 yılında Allen tarafından geliştirilen "ağırlık düşürme yöntemi" dir (2). Bu durumda tek başına darbe söz konusudur çünkü düşen ağırlık hemen alınır. Daha sonraki yıllarda "akut extradural klip kompresyon yöntemi" gibi "darbe + süren bası" modelleri geliştirilmiştir (18) (Şekil 1).

Klip kompresyon yaralanmasında; sulkal arterler ve bunların arteryel dallarına olan hasar vasküler hasarın en önemli kaynağıdır. Sulkal arterler ve bunların dallarının besleme alanlarında hemoraji ve iskemi oluşur. Etkilenmiş alanlar gri ve beyaz maddeyi de içerebilir. Dohrrman ve arkadaşları gri cevherde kanamanın yaralanmadan hemen sonra oluşabildiğini göstermiştir. Klip kompresyon yaralanmasında yaralanma bölgesindeki hemorajiler arteriol ve venüllerin hasar görmesi nedeniyle oluşur. Kord

kompresyonundan uzak bölgelerdeki hemorajiler de klip kompresyon yaralanması için karakteristiktir. Bu hemorajiler posterior kolonların bazalinde daha çok görülürler. Özellikle posterior beyaz kolonlarla gri komissür arasındaki bileşkede daha belirgindirler. Posterior kolonlarda bulunan iki adet ven oblik ve kaudal olarak seyrederek dorsal subaraknoid venlere boşalır. Akut klip kompresyonla yüksek intramedüller veya intravasküler basınç oluşur ki bu da kanın venler içinde geri akımına neden olur, bu geri akım ince ven duvarlarından kanın damar dışına sızmasıyla sonuçlanır ki bu da kompresyonun rostralindeki uzak hemorajileri izah eder (19) (Şekil - 1).



**Şekil -1: Klip kompresyon yaralanmasının şematik görünümü (19).**

İkincil hasar mekanizması konsepti ilk kez 1911 yılında Allen tarafından öne sürülmüştür. Allen'e göre korddaki pıhtının içinde kordda daha ileri hasarlara neden olan zararlı bir madde bulunmaktadır. Bu durum daha sonra Nemecek tarafından otodestruksiyon olarak adlandırılmıştır (2).

Fraktür, dislokasyon, kompresyon ile birlikte olan kord yaralanmalarında dekompresyon ve füzyon teknikleri tedavinin temelini oluşturur. Ancak künt travmayı

takiben lezyon seviyesinin altında motor, duyu refleks ve sfinkter kaybı olan hastalarda tedavi yetersiz kalmakta ve bunlara yönelik çeşitli tıbbi tedavi yöntemleri araştırılmaktadır.

MEKANİK KUVVET	İNJURİ MEKANİZMASI
Darbe ve süren bası	Burst kırığı kırık-çıkık disk yırtılması
Tek başına darbe	Hiperekstansiyon
Distraksiyon	Hiperfleksiyon Burst kırığı Lamina kırığı,
Laserasyon, Transeksiyon	kırık -çıkık kurşun yaralanması

**Tablo - 1: İnsan spinal kord travmasında primer mekanizmalar (2).**

Günümüze kadar ensık kullanılan tıbbi tedavi yöntemleri şöyle sıralanabilir: Üre, mannitol, hipotermi, lokal soğutma, antifibrinolitik tedavi, antiserotonin tedavi, katekolamin tedavisi, steroidler, aminofilin, isoproterenol, dimetilsulfoksit, lidokain, kalsiyum kanal blokörleri, endojen opioid blokörler, N-Metil D-Aspartat reseptör antagonistleri, potasyum kanal blokörleri (1,5-10).

İskemi, vücudun sınırlı bir bölgesine gelen kan akımının azalmasına ya da kesilmesine denir. İskemi gelişen bölge, hayati besleyici maddeler ve oksijenden yoksun kalır. Zararlı metabolitler de uzaklaştırılmaz ve olay doku yaralanması ile sonuçlanabilir. Doku yaralanmasının şiddeti, iskeminin oluş hızına, tıkanmanın derecesine, organ veya dokunun iskemiye duyarlılığına ve kollateral dolaşıma bağlıdır. İskeminin gelişmesi yavaş veya tıkanma kısmi ise atrofi ve fibrozis gibi değişiklikler oluşur, buna karşın ani ve tam iskemi nekroz ile sonuçlanır (20).



---

Sistemik etkiler (nörojenik şok)

- Kalp hızı--- kısa artış, daha sonra uzun süreli bradikardi
- Kan basıncı--- kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon
- Periferel direnç---düşer
- Kardiak output--- azalır
- Katekolaminler-----artar, sonradüşer

Kord mikrosirkulasyonundaki lokal vasküler hasar

- Kapiller ve venüllerin mekanik bozulması
- Hemoraji-özellikle gri madde de
- Mikrosirkulasyon kaybı- mekanik, tromboz, vazospazm
- Spinal kord kan akımında azalma--- tromboz, vazospazm
- Otoregülasyon kaybı

Biyokimyasal değişiklikler

- Eksitotoksinite--- glutamat
  - Nörotransmitter birikimi
    - Katekolaminler-- noradrenalin, dopamin
  - Araşidonik asid salınımı
  - Serbest radikal oluşumu
  - Eikosonoid oluşumu
    - Prostaglandinler
  - Lipid peroksidasyonu
  - Endojen opioidler
  - Sitokinler
    - Elektrolit şiftleri
  - Intrasellüler kalsiyumda artma
  - Ekstrasellüler potasyumda artma
  - Intrasellüler sodyumda artma
    - Ödem
    - Enerji metabolizmasının kaybı
  - Azalmış adenozin trifosfat üretimi
- 
- 

**Tablo - 2 : Spinal kord yaralanmasının fizyopatolojisinde yer alan sekonder yaralanma mekanizmaları (2).**

### ***Akut Spinal Kord Yaralanması'nın Lokal ve Sistemik Etkileri***

Tüm deneysel modellerde ve insan SKT'da kordun merkezinde ve özellikle gri maddede erken ve genellikle ilerleyici hemorajiler görülür. Kapiller, venül ve bazı arteriollerin bütünlüğünün direkt mekanik bozulması söz konusudur. Bu başlangıçtaki travmanın mekanik gücü ve dokunun darbe, kompresyon, gerilme veya laserasyonla bozulmasıyla oluşur (21). Bazı deneysel çalışmalarda hemorajinin ve etkilerinin saatlerce sürebildiği gösterilmiştir. İnsanlardaki anjiyografik ve deneysel mikroanjiyografik çalışmalarda büyük arteriol ve arterlerin bütünlüğünün bozulmadığı gösterilmiştir (10,19,22). Kapiller ve venülleri içeren mikrosirkulasyon kaybı sadece yaralanma sahasında oluşmaz. Bunun rostral ve kaudalinde de bu değişiklikler izlenir (2,19). Önemli bir bulgu ise bu değişikliklerin ilerleyici olmasıdır. İlerleyici posttravmatik iskemi değişik SKT modellerinde sıçandan primata kadar değişik deneklerde değişik kan ölçüm teknikleriyle gösterilmiştir (1). Bu çalışmaların diğer bir ilginç yönü ise hemorajik ve iskemik bölgelerin komşuluğudur ki bu da Allen'in kanda biokimyasal hasara neden olabilecek zehirli bir maddenin olduğu yönündeki görüşünü destekler görünmektedir (2).

Vazospazma direkt mekanik etkiden başka katekolaminler, glutamatlar ve prostaglandinler gibi potansiyel zararlı maddelerin de neden olabileceği düşünülmektedir (1). Vazospazm deneysel SKT da hem scanning hem de tranmission elektron mikroskopi yöntemleriyle gösterilmiştir (1,19,22). Bir kısım araştırmacılar ise posttravmatik iskeminin nedeni olarak trombozu ve bundan da Tromboksen A2 gibi bir maddenin sorumlu olabileceğini düşünmektedirler(23).

Nemecek ışık mikroskobuyla posttravmatik trombozu göstermiştir. Tator ve arkadaşları ve Dohrmann ve arkadaşları da elektron mikroskopuyla buna benzer görüntüler elde etmişler ve travmadan sonra otoregülasyonun bozulduğunu göstermişlerdir (19,21,22). Ciddi spinal travmadan sonra görülebilecek olan sistemik hipotansiyon veya nörojenik şok posttravmatik iskemiye ağırlaştırabilir (2).

### **Biokimyasal Değişiklikler**

İskemik yaralanmada, hücre içi aerobik metabolizma hızla anaerobik metabolizmaya dönüşmekte ve bunun sonucunda da ATP sentezi yapan hem glikolitik hem de mitokondriyal yol engellenmektedir (11,12,24). İskemide ATP ve ADP gibi yüksek enerjili fosfatlar birkaç dakika içinde yıkılarak AMP oluşur. AMP nin yıkımı sonucunda da hücre içinde adenozin, inozin ve hipoksantin gibi metabolitler birikir. İskemik hücrelerde laktat, inorganik fosfatların artışı hücre içi asidozisine yol açar. Bu da sodyum potasyum- adenozin trifosfataz (Na-K-ATPaz) pompasının bozulmasına neden olur. İskeminin uzaması ile bu olaylar zinciri sürerek doku hasarı ve ölümüne neden olur (11-16).

İskemik olay doku nekrozu ile sonuçlanmazsa dokuya kan ve oksijenin geri döndüğü reperfüzyon devresinde de ciddi yaralanmanın olduğu saptanmıştır. Bu yaralanmaya reperfüzyon döneminde aşırı olarak ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) neden olduğu gösterilmiştir (25,26).

İskemi sonrası reperfüzyon döneminde hücre içinde glutamat birikir ve bunun sonucunda hücre hasarı oluşur (27,28). Glutamat ile hücre membranının aktivasyonu iskemik hasarın gelişimine, sodyumun intrasellüler birikimi sitotoksik ödeme neden olur. Hücre içi kalsiyumunda artış görülür. İntrasellüler kalsiyumun artışı kalsiyuma bağlı proteazların ve lipazların aktivasyonuna yol açar, bu da nörofilamanların yıkımına, hücre membranlarının çözülmesine neden olur (29) (Şekil 10).

Steroidler, insan SKT'da özellikle lipid peroksidasyonu ve SOR'un oluşumunun önlenmesinde etkili bulunmuştur (30,31).

Araşidonik asid ve prostaglandinler gibi eikosonoidlerin artmış üretimi lipid peroksidasyonu ve SOR ile ilgilidir ve bunlar doku hasarına neden olabilirler. Örneğin hasar görmüş nöronal membranlardan vazoaaktif eikosonoidlerin salınması vazospazmı indükleyerek progresif posttravmatik iskemiye neden olabilir. İkincil hasar mekanizmalarında endojen opioidlerin de lokal veya sistemik sirkulasyon üzerindeki etkileri veya kord üzerindeki direkt etkileriyle yer aldıkları düşünülmektedir (11,12,32).

SOR'un ana kaynağı Ksantin oksidaz (KO) ve yeni saptanan polimorf nükleer nötrofillerde gelişen nikotinamid adenin dinükleotid fosfat-oksidadır (NADPH-oksidad) (34). İskemi sonrası reperfüzyon döneminde de yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin yıkımı devam ederek hücre içinde ksantin birikimine yol açar. Bu dönemde hücre içine sitozolik kalsiyum girişinin artması ile ksantin dehidrogenazı (KD) KO'a dönüştürme yeteneği olan proteazlar aktive olur, bunlar da hücre membran bütünlüğünü bozarak reperfüzyon yaralanmasının ilk basamağını oluştururlar. KD'nin KO'ya dönüşümü travmanın ilk dakikası içinde olur ve beşinci dakikada zirve yapar (26,34,35).

Dönüşüm ATP üretimi için gerekli O<sub>2</sub>'nin hücreye ulaşamaması ile başlar ve reperfüzyon boyunca yüksek kalır. Normal sağlıklı bir dokuda KD oluşmakta ve %90 oranında aktivite göstermektedir, fakat SOR'u oluşturmak için moleküler oksijene elektron transferi yapamamaktadır. Buna rağmen sağlıklı dokuda oluşabilen bir miktar SOR serbest kök süpürücüler tarafından yok edilmektedir (36,37).

İskemi sonrası reperfüzyon döneminde hipoksantin'in KO aracılığıyla ksantin ve ürik aside yıkımı sonucu ortamda bol miktarda SOR oluşmaktadır. SOR'u süperoksit, hidroksil kökü ve hidrojen peroksit oluşturmaktadır. Bunlar toksik ürünlerdir ve hipoksik dokuda bol miktarda SOR oluştuğu ve serbest kök süpürücüler yeterli olmadığı için birikerek doku yaralanmasına yol açarlar (25,26,36-38). SOR'un direkt etkisi hücre yıkımı ve doku ölümüdür (26,35,36,39). SOR hücre içinde serbest hale gelmiş demir iyonu ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturur. Hücrede enerji sistemlerini etkileyerek ATP seviyesini azaltır. Reaktivitesi fazla olan hidroksil radikali ile hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olur, hücre zarını bozar. Hücrenin bütünlüğünün bozulması ile ortamda bol miktarda aldehid ve karbonil bileşikleri birikir (11,29,40). Bu bileşiklerin en önemlisi malondialdehiddir (MDA). MDA lipid peroksidasyonu yıkım ürünüdür ve reperfüzyon yaralanmasının önemli bir göstergesidir (11,12,41).

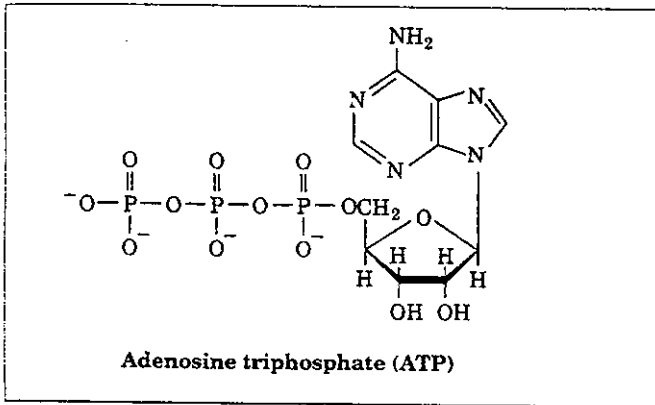
ATP, birçok önemli reaksiyonda enerji kaynağıdır, biyolojik yarılanma süresi kısadır. Etkisi hemen başlar ve kısa sürede yıkılır. Hücreler ATP sentezi için kompleks mekanizmalara sahiptir. ATP vasküler tonus, nörotransmisyon, kardiyak fonksiyon ve kas kontraksiyonunun da dahil olduğu birçok olaya etki edebilir (42).

$Mg^{+2}$  ATP'nin substrat olarak kullanıldığı tüm enzimatik reaksiyonlarda gereklidir (13,14).

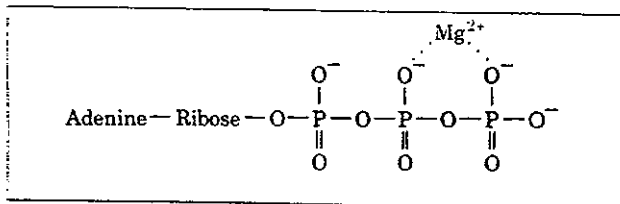
Ciddi oksijen yetmezliği durumlarında nöral dokudaki anaerobik metabolizmaya dönüş nedeniyle ATP katabolize olur. Reoksijenizasyon safhasında hipoksantin ve ksantin KO'ya substrat olurlar ve bunu izleyerek SOR üretimi de artar (43, 44).

Deneysel çalışmalarda iv ATP-MgCl<sub>2</sub> verilmesiyle hemorajik ve endotoksik şok ile yanıkta sistemik mikrosirkulasyonu ve iskemi-reperfüzyonu izleyen hepatik mikrosirkulasyonu düzelttiği ve yaşam oranını arttırdığı gösterilmiştir. Mikrosirkulasyonun düzeltilmesi sadece vazodilatasyon yoluyla değildir, bu etkiyi oluşturan mekanizma tam olarak belirlenememiştir (45,46). Hsu ve arkadaşları ATP-MgCl<sub>2</sub>'ü akciğer iskemi reperfüzyon yaralanmasında çalışmışlar. ATP- MgCl<sub>2</sub>'ün koruyucu etkisinin kısmen de olsa ATP'nin yıkım ürünü olan adenozin üzerinden olduğunu düşünmüşlerdir (45).

İskemi reperfüzyondan sonra, doku ATP düzeyinde; doku ve mitokondrial  $Mg^{++}$  düzeylerinde azalma oluşur. İskemiye takiben ATP-MgCl<sub>2</sub> verilmesi, total ve mikrosirkulatuar kan akımını, doku ve mitokondrial  $Mg^{++}$  düzeylerini, doku ATP depolarını, hücresel fonksiyonları düzeltir (42,43,46).



Şekil – 2: Adenozin trifosfat (ATP) (51).



Şekil – 3: ATP-MgCl<sub>2</sub> (51).

## MATERYAL VE METOD

### **DENEY HAYVANLARI:**

Bu deneysel araştırma KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Enstitüsü Laboratuvarında Ekim 1997 - Şubat 1998 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizler Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma laboratuvarlarında yapıldı. Deneyde ağırlıkları 180-250 g arasında değişen 36 adet Wistar - Albino sıçan kullanıldı.

### **GRUPLAR:**

Sıçanlar 5 ana gruba ayrıldı..

**GRUP I :** 6 sıçandan oluşturulan bu gruba klip kompresyon uygulanmadan spinal kord çıkartılıp biyokimyasal olarak değerlendirildi (Şekil 4).

**GRUP II :** 7 sıçandan oluşturulan bu gruba 1 dakika süre ile klip kompresyon uygulandı. 1 saat sonra spinal kord çıkartılıp biyokimyasal olarak değerlendirildi (Şekil 5).

**GRUP III:** 9 sıçandan oluşturulan bu gruba klip kompresyondan önce ATP-MgCl<sub>2</sub> infüzyonu yapıldı, klip kompresyondan 1 saat sonra spinal kord çıkartılıp biyokimyasal olarak değerlendirildi.

**GRUP IV :** 8 sıçandan oluşturulan bu gruba klip kompresyondan sonra ATP-MgCl<sub>2</sub> infüzyonu yapıldı 1saat sonra spinal kord çıkartılıp biyokimyasal olarak değerlendirildi.

**GRUP V:** 6 sıçandan oluşturulan bu gruba klip kompresyondan 8 saat sonra ATP-MgCl<sub>2</sub> infüzyonu yapıldı ve 1 saat sonra spinal kord çıkartılıp biyokimyasal olarak değerlendirildi.

## METOD

Ameliyat öncesi sıçanlar 24 saat süre ile aç bırakıldı ve bu süre içerisinde sadece su verildi. Sıçanların tümüne 30 mg/kg intraperitoneal ketamin HCl anestezisi uygulandı. Daha sonra sırtları traş edilerek betadin solüsyonu ile temizlendi .

Birinci gruptaki sıçanlara steril şartlar altında T8-T12 total laminektomi yapıldı daha sonra tabakalar usulüne uygun kapatıldı. Bir saat sonra sıçanlar pentobarbital sodyum ile sakrifiye edilerek spinal kordlar yaklaşık 2cm uzunluğunda çıkarılıp biokimyasal analiz için derin dondurucuda saklandılar.

İkinci gruptaki sıçanlara da steril şartlar altında T8-T12 total laminektomi yapıldı ve her bir rat spinal korduna 1 dakika süre ile 50g sıkıştırma kuvveti olan klipe ( Yaşargil FE 693 Anevrizma klipi- Aesculap) kompresyon uygulandı. Tabakalar usulüne uygun kapatıldı. Bir saat sonra sıçanlar sakrifiye edilerek spinal kord kompresyonun 1cm.rostral ve caudalinden olmak üzere yaklaşık 2cm. kesilerek çıkarıldı ve biokimyasal analiz için derin dondurucuda saklandı.

Üçüncü gruptaki sıçanlara klip kompresyondan önce ATP- MgCl<sub>2</sub> uygulandı ve kompresyondan 1 saat sonra sıçanlar sakrifiye edilerek, kompresyonun 1cm. rostral ve caudalinden olmak üzere yaklaşık 2cm. uzunluğundaki spinal kordlar çıkarılıp biokimyasal analiz için derin dondurucuda saklandılar.

Dördüncü gruptaki sıçanlara klip kompresyondan 5 dakika sonra ATP- MgCl<sub>2</sub> uygulandı; 1 saat sonra sıçanlar sakrifiye edilerek, kompresyonun 1cm. rostral ve caudalinden olmak üzere yaklaşık 2cm. uzunluğundaki spinal kordlar çıkarılıp biyokimyasal analiz için derin dondurucuda saklandılar.

Beşinci gruptaki sıçanlara klip kompresyondan 8 saat sonra ATP-MgCl<sub>2</sub> uygulandı ve 1 saat sonra sıçanlar sakrifiye edilerek, kompresyonun 1 cm. rostral ve caudalinden olmak üzere kordlar insize edilerek yaklaşık 2cm. olarak çıkarıldılar ve biyokimyasal analiz için derin dondurucuda saklandılar.

Spinal kordda oluşacak değişiklikler, biyokimyasal olarak spinal kord malondialdehid düzeylerinin ölçülmesiyle değerlendirildi.



### **ATP-MgCl<sub>2</sub> Hazırlanması**

ATP-MgCl<sub>2</sub> Chaudry metoduna göre hazırlandı (46). ATP-Na<sub>2</sub> (Sigma A-2383) tartılarak 200 mmol / ml konsantrasyonda olacak şekilde distile suda eritildi. Solüsyonun pH'sı 7.4 olacak şekilde NaOH ile düzenlendi. MgCl<sub>2</sub> de tartılarak 200 mmol / ml konsantrasyonda olacak şekilde distile suda eritildi. İki solüsyon eşit hacimlerde karıştırılıp ATP-MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu 100 mmol/ml olacak şekilde hazırlandı.

### **Malondialdehid Tayini**

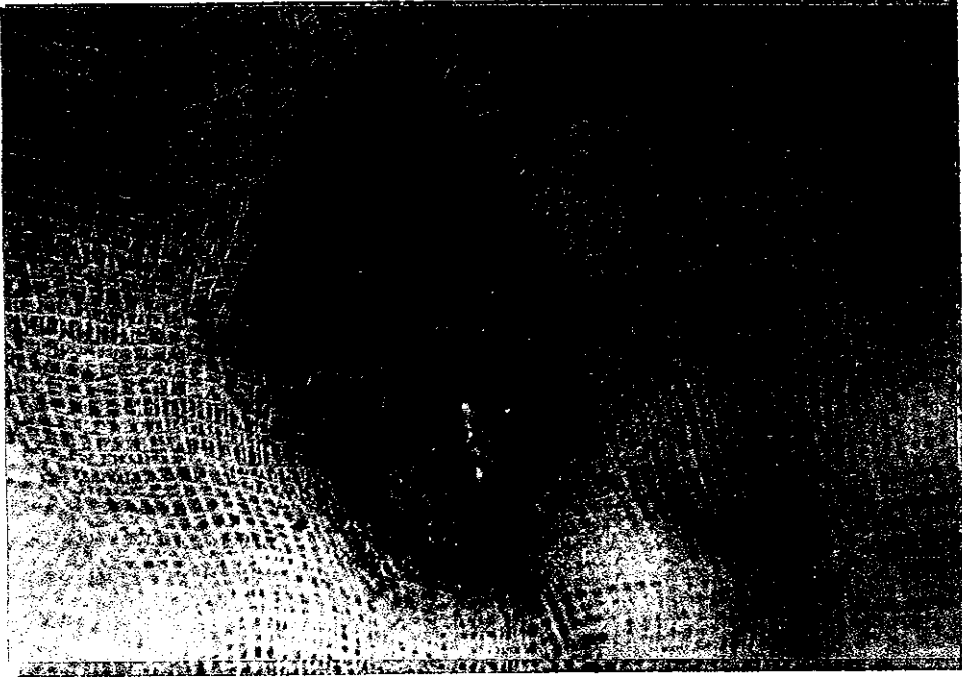
MDA tayini Uchiyama ve arkadaşlarının anlattığı yöntemine göre yapıldı (47). Sıçanların spinal kordundan alınan yaklaşık 0.1-0.2g ağırlığındaki parçalar kuru cam şişe içine konulup -76 derecelik derin dondurucuya yerleştirildi. 24 saat sonra derin dondurucudan çıkarılan doku örnekleri plastik tüplere konuldu ve üzerlerine %10'luk olacak şekilde %1,15 lik KCl eklendi. Daha sonra Ultra-Turrax T25(Janke & Kunkef -KA Labortechnik) homojenizatörde dakikada 20.000 devir ile homojenize edildi. Homojenizasyon buz banyosunda gerçekleştirildi. Homojenattan 0,5 ml alınarak üzerine %0,6'lık tiyobarbitürik asitten 1ml ve %1'lik fosforik asitten 3ml eklendi. Bu karışım 95°C' de 15 dakika bekletildikten sonra soğutuldu ve üzerine 4ml n-butanol ilave edilerek iyice karıştırıldı. 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildikten sonra MDA'nın bulunduğu bütanol fazı alınarak karışımın 535nm ve 520nm dalga boylarında spektrofotometre absorbans değerleri okundu. Absorbans farkı nmol MDA / g doku olarak ifade edildi.

Bütün deney gruplarında spinal kord dokusunda MDA düzeylerine bakıldı.

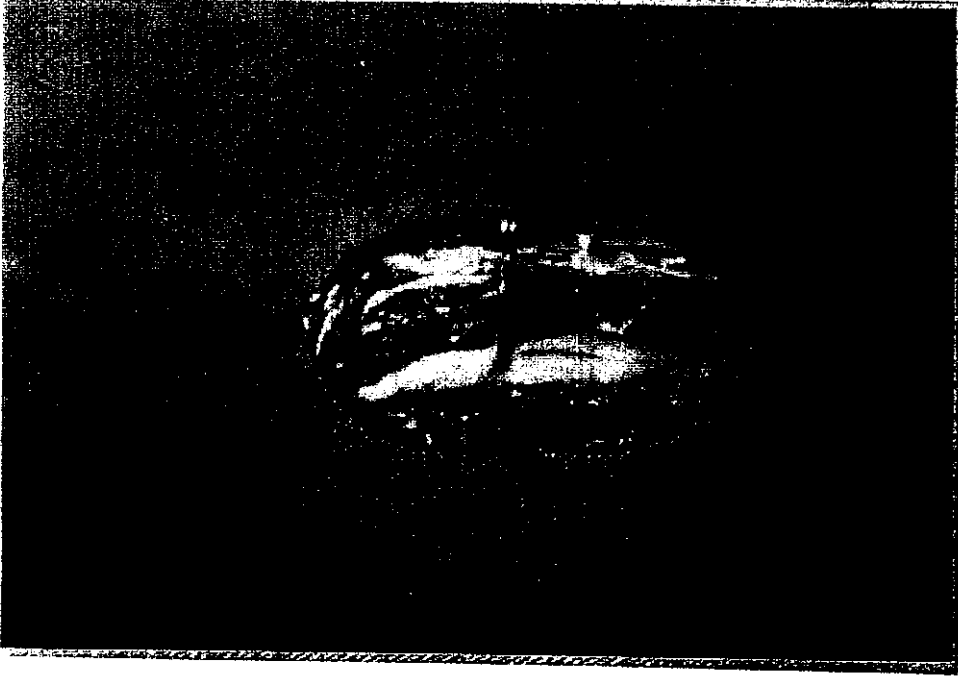
### **İstatistiksel Değerlendirme:**

İstatistiksel değerlendirme Krushhal-Wallis varyans analizi ve Post hoc çoklu karşılaştırma yöntemi olarak yanılma düzeyi aşağı çekilerek Mann-Whitney - U testi uygulandı. p değeri alfa düzeyinin (0.05) karşılaştırma sayısına bölünmesiyle aşağı çekildi (0,05 /10 = 0,005) (48).

K-W varyans analizinde p < 0.001 den, M-W U testinde ise p < 0.005 den küçükse anlamlı olarak değerlendirildi.



**Şekil - 4 : T4 -T8 total laminectomi uygulanmış sıçan**



Şekil - 5: T4 -T8 total laminektomi ve klip kompresyon uygulanmış sıçan.

## BULGULAR

Deneyisel SKİ'de ATP-MgCl<sub>2</sub> uygulamasının akut dönem etkilerinin saptanması amacıyla 36 sıçandan elde edilen biyokimyasal değerler aşağıda sunulmuştur (Tablo 3).

GRUPLAR	ORTALAMA +/- SH MDA (nmol/g doku)	min-mak MDA(nmol/g doku)
I	13,62+/-0,88	12,43 - 14,64
II	41,90 +/- 11,80	25,90 - 57,57
III	31,80 +/- 16,60	13,85 - 68,60
IV	19,70 +/- 4,80	13,71 - 26,10
V	24,20 +/- 2,90	21,67 - 29,32

**Tablo - 3: Doku MDA düzeylerinin (Ort +/- SH) gruplara göre dağılımı .**

### ***Krushal Vallis Varyans Analizi:***

Elde edilen değerlere (Tablo 3) Krushal Vallis varyans analizi uygulandığında grupların birbirinden istatistiki olarak anlamlı şekilde farklı olduğu görüldü (  $p=0,0001$ ).

### ***Mann Whitney - U Testi :***

Post hoc çoklu karşılaştırma yöntemi olarak yanılma düzeyi aşağı çekilerek Mann Whitney - U testi uygulandı. p değeri alfa düzeyinin (0,05) karşılaştırma sayısına bölünmesiyle aşağı çekildi ( $p=0,005$ ) (48),  $p < 0,005$  ise istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

Sham grubuyla klip kompresyon uygulanan grup karşılaştırıldığında iki grubun arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıydı ( $p = 0,0026$ )(Tablo 4) (Şekil 6).

	GRUP I	GRUP II	P - DEĞERİ
MDA	13,62 +/- 0,88	41,90 +/- 11,8	0,0026

**Tablo - 4: Sham ve klip kompresyon gruplarının MDA değerlerinin Mann Whitney - U testi ile karşılaştırılması.**

Klip kompresyon uygulanan gruba, klip kompresyondan önce ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grup karşılaştırıldığında bu iki grup arasında fark olmasına rağmen; bu fark istatistiki olarak anlamlı değildi ( $p = 0,798$ ) (Tablo 5) (Şekil 7).

	GRUP II	GRUP III	P- DEĞERİ
MDA	41,90 +/- 11,80	31,80 +/- 16,60	0,798

**Tablo -5: Klip kompresyon ve klip kompresyondan önce ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grupların MDA değerlerinin Mann Whitney - U testi ile karşılaştırılması.**

Klip kompresyon uygulanan grupla klip kompresyondan 5 dakika sonra ATP-MgCl<sub>2</sub> uygulanan grup karşılaştırıldığında , bu iki grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıydı (p = 0,0017) (Tablo 6) (Şekil 8).

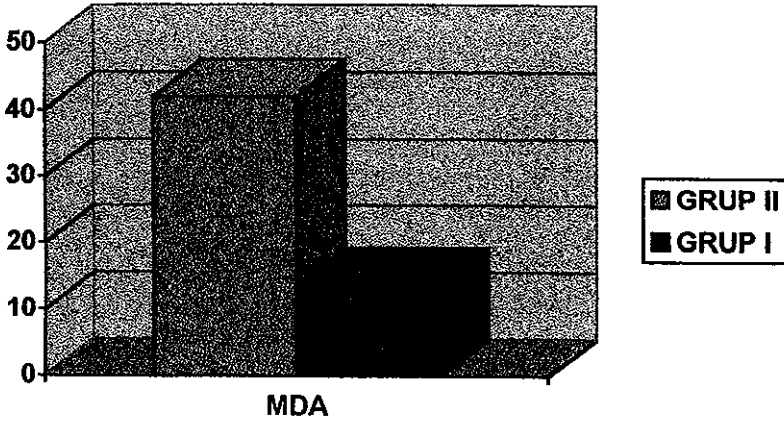
	GRUP II	GRUP IV	P - DEĞERİ
MDA	41,90 +/- 11,80	19,70 +/- 4,80	0,0017

**Tablo- 6 : Klip kompresyon uygulanan grupla , klip kompresyondan sonra ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grubun MDA değerlerinin karşılaştırılması.**

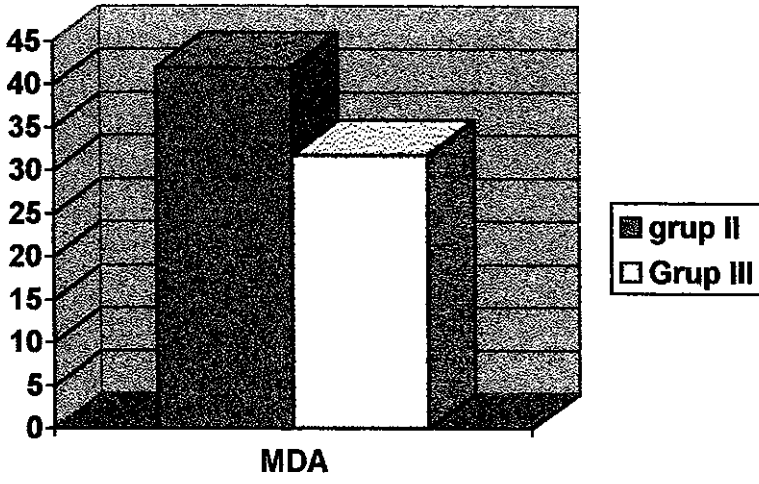
Klip kompresyon uygulanan grupla , Klip kompresyondan 8 saat sonra ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grup Mann Whitney - U testi kullanılarak karşılaştırıldığında iki grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıydı (p = 0,0041) (Tablo 7) (Şekil 9).

	GRUP II	GRUP V	P - DEĞERİ
MDA	41,90 +/- 11,80	24,20 +/- 2,90	0,0041

**Tablo 7: Klip kompresyon uygulanan grupla, klipkompresyondan 8 saat sonra ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grubun MDA değerlerinin karşılaştırılması.**

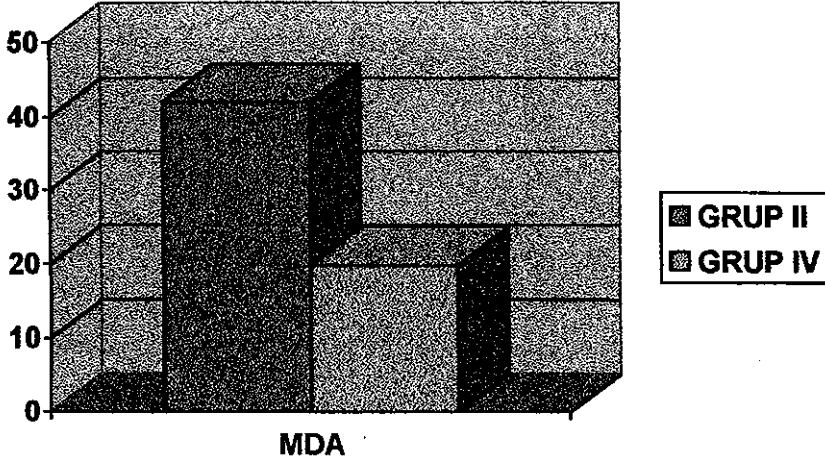


Şekil - 6 : Grup I ve Grup II' nin MDA değerlerinin karşılaştırılması.

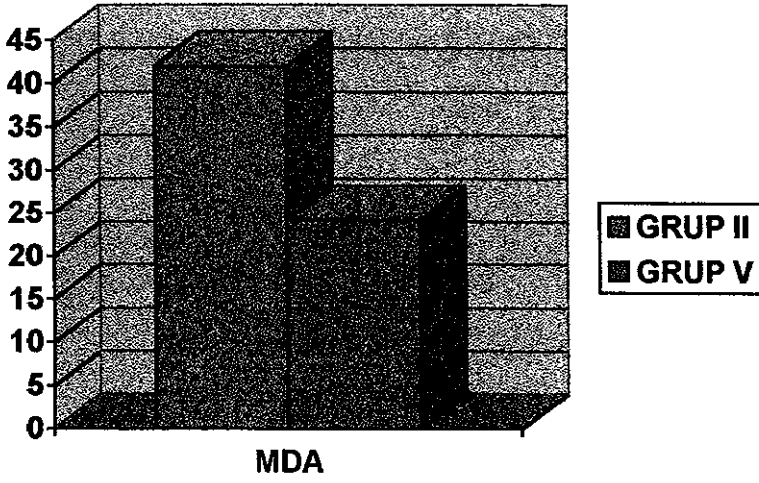


Şekil - 7: Grup II ve Grup III' ün MDA değerlerinin karşılaştırılması .





Şekil -8 : Grup II ve Grup IV'ün MDA değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil -9 : Grup II ve Grup V' in MDA değerlerinin karşılaştırılması.

## TARTIŞMA

Akut spinal kord travmalarını takiben spinal kord kan akımının azaldığı gösterilmiştir. En ilginç bulgulardan biri, posttravmatik iskeminin progressif artışının travmadan sonraki ilk birkaç saat içinde gerçekleşmesidir (1,2,49). Bu da eğer erken tedavi edilirse iskeminin tedavi edilebileceğini göstermektedir. Eğer iskemi ilk 24 saat içinde tedavi edilmezse giderek artmakta ve 24 saat sonra ise kalıcı olmaktadır (49). Spinal kord yaralanmasının metil prednizolonla tedavisinde ilk 8 saatten sonra verilen metil prednizolonun etkili olmadığına dair çalışmalar da mevcuttur (30).

Öne sürülen çeşitli teorilere rağmen posttravmatik iskeminin kesin sebebi tam olarak bilinmemektedir. Mekanik hasardan veya vazoaaktif aminlerin ve diğer vazokonstriktörlerin serbestleşmesinden dolayı vazospazm gelişiyor olabilir (1,2). Diğer bazı çalışmalarda ise iskeminin tromboksan A<sub>2</sub> gibi ajanlardan dolayı oluşan tromboz veya trombosit agregasyonu sonucu olduğu bildirilmiştir (23).

Travmatize spinal kordda travma membran lipazlarını aktive etmekte, bu lipazlar membran fosfolipidlerini hidrolize etmekte, böylece araşidonik asit ve diğer yağ asitleri serbestleşmektedir. Membran yapısı ve geçirgenliğinin değişmesi kalsiyumun hücre içine girmesine ve hücre ölümüne yol açmaktadır (8).

Deneysel tedavilerde kullanılan pekçok farmakolojik ajan, yukarıda ve genel bilgiler bölümünde ayrıntılı olarak anlatılan biokimyasal olayları çeşitli kademelerde durdurarak etki göstermektedirler.

Bizim çalışmamızda kullandığımız ATP MgCl<sub>2</sub> spinal kord travmasında daha önce kullanılmamış olmakla beraber; ATP MgCl<sub>2</sub> ün hipovolemik şoku, hipoksik pulmoner hipertansiyonu, karaciğer ve böbrekte iskemi reperfüzyon travmasını önlediği belirtilmiştir (12-15).

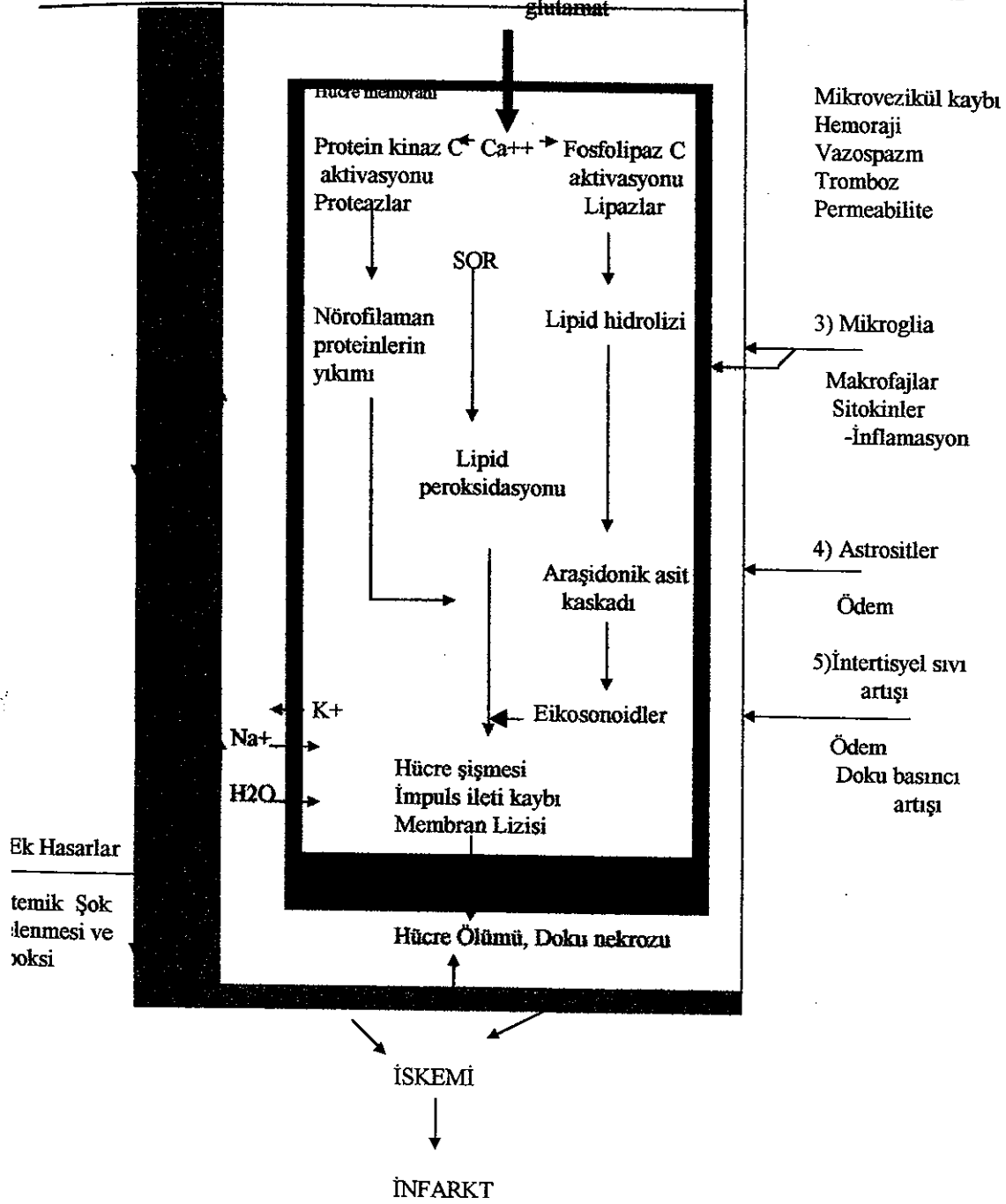
İskemi durumlarında hücre ve doku enerji depolarının boşaldığı, ATP seviyesinin düştüğü bilinmektedir. Spinal kord kültür hücrelerini kısa süreli olarak glutamat ile karşı

**A Yaralanmanın Sistemik Etkileri**  
Nörojenik Şok

**B Yaralanmanın Spinal korddaki lokal Etkileri**

1) Nöron

2) Kan damarları



Şekil -10: Spinal kord yaralanmasındaki fizyopatolojik olayların şeması (2).

arşıya getirilmeleri sonucunda hücre ATP düzeylerinde ileri derecede düşme  
ıptanmıştır. Bu da in vivo olarak hipokampal nöronlarda kısa süreli iskemiden sonra  
örülen ATP düzeylerindeki dramatik düşme ve bundan sonra görülen geçici artışla  
enzerlik göstermektedir (50).

Sürekli veya ciddi oksijen yokluğunda sinir sistemi de anaerobik metabolizmaya  
ğınır. Oksijen yokluğu mitokondriyal fonksiyonları bozar bu da enerji yetmezliğine yol  
çar. ATP ADP ye indirgenir ve defosforilasyondan sonra adenozin inozin ve  
poksantine yıkılır. SOR-süpürücüleri asfiksiden sonraki sekonder hipperfüzyonu önler  
4).

Pürin nükleosid ve bazları (örn. hipoksantin, ksantin, inozin) hücre içi ve dışında  
ırbestçe dolaşabilirlerken; nükleotidler (örn. ATP, ADP, AMP) daha büyüktürler ve  
oğunlukla hücre içinde bulunurlar. Bu nedenle; nükleosid ve bazların ekstrasellüler  
izeyleri intrasellüler nükleotid yıkımının ve hücrenel enerji yetmezliğinin ve hatta  
icresel hasarın göstergesidir. Oksijen yetmezliği ATP, ADP ve AMP nin katabolize  
masına ve adenozin oluşumuna neden olur (44,50).

Yukarıda da belirtildiği gibi ATP nin çoğunun hücre içinde bulunmasına rağmen  
ıstrasellüler mesafede bulunan ATP (ve/veya ADP) düşük mikromolar  
onsantrasyonlarda nörotransmisyon (periferik ve santral), vasküler tonus, kardiyak  
nksiyon ve kas kontraksiyonu gibi birçok mekanizmaya etki eder. Nükleotidler birkaç  
icre tipinin sitoplazmasından salınırlar (nöronlardan ekzositozla salınırlar) (42).

ATP nöroefektör bileşkede direkt nörotransmitter olarak, diğer  
nörotransmitterlerin salınımını artırıp azaltarak ya da etkilerini ayarlayarak etkisini  
österir. ATP, dinlenme potasyum iletimini azaltarak membranı depolarize eder ve  
onomik ganglionlarda membran potansiyellerini ayarlar. ATP nöral dokunun heryerinde  
ılunur ve birçok dokunun sinirle uyarılması esnasında salınır. ATP bazı sinirlerden  
ötransmitter olarak örneğin noradrenalinle birlikte salınır. ATP ile beynin duysal  
ölgelerinin ve spinal kord dorsal hornunun dış tabakalarının eksitasyona uğradığı  
österilmiştir, topikal olarak uygulanan ATP ile kedi pial arterlerinde 0.1nM lük düşük  
onsantrasyonlarda bile vazodilatasyon elde edilmiştir (42).

ATP MgCl<sub>2</sub> mikrosirkulasyonda uzun dönem etkili bir iyileşme yaparak hücre fonksiyonları düzeltir bu etki dopamin, papaverin ve isoproterenolle elde edilen direkt vazodilatör etkiye benzemez (45).

Bu deneysel çalışmada da spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda, iskemi – reperfüzyon döneminde uygulanan ATP MgCl<sub>2</sub> ün doku hasarının önemli bir göstergesi olarak kabul edilen MDA değerlerinde istatistiki olarak anlamlı düşme sağladığı gözlemlendi (p = 0,0017) (Tablo 6 ) (Şekil 8).

İskemi – reperfüzyon döneminde ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grupla sham grubu karşılaştırıldığında; doku MDA değerleri arasındaki fark istatistiki olarak anlamsızdı (p=0,0095). Bu da ATP MgCl<sub>2</sub> ün spinal kord travmasında oluşan lipid peroksidasyonunu önleyerek, hücre bütünlüğünü koruyucu etkisi olduğunun delili olarak kabul edildi.

Klip kompresyon uygulanan grupla, klip kompresyondan önce ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grup karşılaştırıldığında bu iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı fark elde edilemedi (p=0,798) (Tablo 5 ) (Şekil 7). Bunun nedeni ise; ATP MgCl<sub>2</sub>ün vücutta hızlı metabolize edilmesi ve daha iskemi başlamadan tüketilmesi olarak düşünüldü.

Klip kompresyon uygulanan grupla , klip kompresyondan 8 saat sonra ATP MgCl<sub>2</sub> verilen grup karşılaştırıldığında bu iki grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıydı (p=0,0041) (Tablo7) (Şekil 8). Bu da travmadan 8 saat sonra verilen ATP MgCl<sub>2</sub> ün de bütünlüğü tam olarak bozulmamış hücrelere kısmen de olsa etki ederek bu hücrelerin yaşamasını sağladığı; bunun sonucunda da lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kabul edilen MDA değerlerinin bu grupta da düştüğü gözlemlendi.

Akut spinal kord yaralanmasında ATP MgCl<sub>2</sub> ün koruyucu etkisi birkaç mekanizmayla açıklanabilir.

ATP MgCl<sub>2</sub> iskemi sırasında boşalan enerji depolarını doldurur (13,14,37,45).

Toksik oksijen metabolitleri; kısmen pürin yıkım ürünlerinin ksantin oksidazla metabolize edilmesiyle oluşur. İskemi ve bunu izleyen reperfüzyon direkt olarak mikrovasküler yaralanmaya neden olabilir. Nötrofillerle ksantin oksidaz arasındaki etkileşim hasara neden olur. Ksantin oksidazın ürettiği süperoksit radikalleri ek olarak endotelial hasara neden olurlar. Bunlar aynı zamanda nötrofillerin kemoatraktantı ve aktivatörü olarak mevcut hasarı arttırabilirler. ATP nötrofil kemotaksisini ve süperoksit

üretimini inhibe ediyor olabilir. Bu etki ATP nin membrana bağlı ekto-ATP az enzimiyle hidrolizine bağlı gibi görünmektedir (45).

Ekto-ATP az magnezyum bağımlıdır. Bu nedenle ATP nin etkisi  $MgCl_2$  ile birlikte kullanıldığında artar (14,45).  $Mg^{++}$ , ATP nin negatif yükünü azaltarak ATP nin yapısının daha kararlı olmasını ve ATP nin hücre içine girmesini sağlar (169).  $MgCl_2$  iskemik dokuda etkilidir. İskemi- reperfüzyondan sonra hücre sel magnezyum düzeyi azalmakta ve  $MgCl_2$  verilerek bu eksik tamamlanmaktadır. ekto-ATP az ATP den adenzin oluşturur. Adenzin süperoksit anyonunu inhibe etmek için aktive olmuş nötrofillere özgü yüzey reseptörüyle etkileşir. Eksternal adenzin reseptörleri  $A_1$  ve  $A_2$  olmak üzere iki tanedir. Adenzinin nötrofillerin yüzeyinde bulunan  $A_2$  reseptörlerine bağlanarak SOR oluşumunu önlediği düşünülmektedir (45).

ATP  $MgCl_2$ 'ün yukarıda açıklamaya çalıştığımız etki mekanizmaları ve bizim çalışmamızın sonuçları da gözönüne alınarak, ek deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenmek şartıyla, spinal kord travmasında görülen reperfüzyon yaralanmasının hücre üzerindeki zararlı etkilerinin önlenmesinde tek başına veya diğer teavi yöntemleriyle kombine edilerek kullanılabilir bir ajan olduğu düşünüldü.

## SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu deneysel çalışmanın sonucunda; spinal kord travmasında iskemi-reperfüzyon döneminde uygulanan ATP MgCl<sub>2</sub>'ün, reperfüzyon yaralanmasının; hücre bütünlüğü üzerindeki zararlı etkilerini önlediği bulundu. ATP MgCl<sub>2</sub>'ün reperfüzyon yaralanmasından sonra hücrenin iyileşmesine yardımcı olabileceği düşünüldü

ATP MgCl<sub>2</sub>'ün deneysel spinal kord yaralanmasındaki bu etkileri göz önüne alınarak; insan spinal kord yaralanmalarında etkili olarak kullanılabilmesi için bu maddeyle ilgili deneysel çalışmaların arttırılması önerildi.



## ÖZET

Bu çalışmada, karaciğer, akciğer, böbrek ve ince bağırsak iskemi - reperfüzyon injurileriyle; hipovolemik ve septik şokta kullanılıp başarılı sonuçlar alınan ATP MgCl<sub>2</sub>'ün deneysel spinal kord travmalarındaki akut dönem etkileri araştırıldı.

Çalışma için ağırlıkları 180-250 g arasında değişen 36 Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı. 6 adet sıçan sham grubu, 7 adet sıçan klip kompresyon grubu olarak kullanıldı. Klip kompresyondan önce ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grupta 9 sıçan, klip kompresyondan sonra, reperfüzyon döneminde ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grupta 8 sıçan ve klip kompresyondan 8 saat sonra ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan grupta 6 sıçan bulunmaktaydı. Tüm deneklere T4-T8 total laminektomi yapıldı. Taze olarak hazırlanmış ATP MgCl<sub>2</sub> 100 mikromol/kg dozunda iv olarak uygulandı. Tüm deneklerin spinal kordları klip kompresyonun 1cm rostral ve kaudalinden kesilip çıkartılıp derin dondurucuda -76°C de saklandı. ATP MgCl<sub>2</sub>'ün spinal kord lipid peroksidasyonu üzerine etkileri, tüm deneklerin doku MDA düzeylerine bakılarak araştırıldı.

Grupların, MDA değerleri (ortalama +/- SH) Krushall Wallis varyans analizi kullanılarak karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiki olarak anlamlıydı (p=0,0001). Klip kompresyondan hemen sonra ve 8 saat sonra ATP MgCl<sub>2</sub> uygulanan gruplar, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında doku MDA değerleri kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. Mann Whitney-U testi kullanılarak sonuçlar analiz edildiğinde bu farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu görüldü (p=0,0017) (p=0,0041).

Bu çalışmada; ATP MgCl<sub>2</sub>'ün deneysel spinal kord travmalarında akut dönemde olumlu etkilerinin olduğu bulundu. ATP MgCl<sub>2</sub>'ün ileride deneysel ve klinik çalışmalarla da desteklenerek spinal kord travmasının kombine tedavisinde, başarıyla kullanılabilecek bir ajan olduğu sonucuna varıldı.

## SUMMARY

In this study, we studied the acute phase effects of ATP MgCl<sub>2</sub> on experimental spinal cord injury. ATP MgCl<sub>2</sub> was successfully used in ischemia reperfusion -injury of liver, lung, kidney and small intestine. It was also used in hypovolemic and septic shock.

36 Wistar-Albino rats were used for the study. Rats were divided in 5 groups. There were 6 rats in sham-operated , group I and 7 rats in clip compression group, group II. In group III there were 9 rats. In this group ATP MgCl<sub>2</sub> was given prior to clip compression. In group IV there were 8 rats and ATP MgCl<sub>2</sub> was given 5 minutes after the clip compression. In group V there were 6 rats and ATP MgCl<sub>2</sub> was given 8 hours after the clip compression. T4-T8 total laminectomy was performed to all rats. Fresh prepared ATP MgCl<sub>2</sub> (100 micromol/kg) was administered intravenously. The spinal cords were excised approximately 2cm long and deep-frozen at -76°C. The effects of ATP MgCl<sub>2</sub> on spinal cord lipid peroxidation was investigated by tissue MDA levels.

The MDA levels (mean +/- SD) of the groups were compared by using Krushall Vallis variance analysis. The result was statistically significant ( $p=0,0001$ ). When group IV and V were compared with group II the MDA levels of the group IV and V were lower than the group II. The results were compared by Mann Whitney-U test, and they were statistically significant ( $p=0,0017$ ) and ( $p=0,0041$ ) respectively.

In this study, we found that ATP MgCl<sub>2</sub> has attenuated the ischemia-reperfusion injury of the spinal cord. We concluded that ATP MgCl<sub>2</sub> may be used in the treatment of the spinal cord injuries but; further investigation is needed.

## KAYNAKLAR

1. Tator CH, Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. Review article. J Neurosurg 75: 15-26, 1991.
2. Tator CH, Pathophysiology and Pathology of Spinal Cord Injury. Wilkins RH, Rengachary SS (eds) in Neurosurgery Vol 2 New York, Mc Graw Hill, 1996: 2847-2859.
3. Flamm ES, Young W, Collins WF, Piepmeyer J, Clifton GL, Fischer B: A phase I trial of naloxone treatment in spinal cord injury. J Neurosurg 63:390-397, 1985.
4. Faden AI, Jacobs TP, Patrick DH, Smith MT: Megadose corticosteroid therapy following experimental spinal cord injury. J Neurosurg 60:712-717, 1984.
5. Braugher JM, Hall ED: Uptake and elimination of methyl prednisolone from contused cat spinal cord following intravenous injection of sodium succinate ester. J Neurosurg 58:538-542, 1982.
6. Ceylan S, Kaleliođlu M, Aktürk G: Medical treatment of acute spinal cord injuries. Res Exp Med 190: 111-119, 1990.
7. Ceylan S, İlbay K, Baykal S, Ceylan S, Şener U, Özmenođlu M, Kaleliođlu M, Aktürk F, Komsuođlu SŞ, Özorán A: Treatment of acute spinal cord injuries: comparison of thyrotropin releasing hormone and nimodipine. Res Exp Med 192: 23-33, 1992.

8. De la Torre JC, Johnson CM, Goode DJ: Pharmacological treatment and evaluation of permanent experimental spinal cord trauma. *Neurology* 25:508-514, 1975.
9. Seçkin Z, Alp S, Aykol S: Deneysel spinal kord yaralanmalarında farklı ilaç gruplarının etkisi. *Türk Nöroşirurji Dergisi* 2:10-13,1991.
10. Blight AR: Effect of 4-aminopyridine on axonal conduction block in chronic spinal cord injury. *Brain Res Bull* 22: 47-52, 1989.
11. Erden M: Serbest radikaller. *T Klin Tıp Bilimleri* 12:201-207,1992.
12. Akkuş İ: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya .Mimoza. 1995.
13. Hayashi H, Chaudry IH, Clemens MG, Baue AE: Hepatic ischemia models for determining the effects of ATP-MgCl<sub>2</sub> treatment. *J Surg Res* 40: 167-179, 1986.
14. Hirasawa H, Soeda K, Ohtake Y, Oda S, Kobayashi S, Odaka M, Sato H: Effect of ATP-MgCl<sub>2</sub> and ATP-Na<sub>2</sub> administration on renal function and cellular metabolism following renal ischemia. *Circulatory Shock* 16:337-346, 1985.
15. Paidas CN, Dudgeon DL, Haller AJ, Clemens MG: Adenosine triphosphate: A potential therapy for hypoxic pulmonary hypertension. *J Pediatr Surg* 23(12):154-160.
16. Horpacy G, Gal G, Kiss E, Tutsck L, Szabo I: Effect of ATP MgCl<sub>2</sub> treatment on kidney preservation and on recovery of graft function. *Res Exp Med* 178: 3-9,1980.
17. Pang D, Wilberger JE Jr. Spinal cord injury without radiographic abnormalities in children. *J Neurosurg* 57:114- 129,1982.
18. Rivlin AS, Tator CH: Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol* 10: 38-43, 1978.

19. 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: Spinal cord injury. *Neurosurgery* 33:285-292,1993.
20. Anderson WAD, Kissane JM: Anderson Patoloji (Çev. A. Kaancıgil) Güven Yayınları, 1982, 262-267.
21. Dohrmann GJ, Wagner FC Jr, Bucy PC: The microvasculature in transitory traumatic paraplegia. An electron microscopic study in the monkey. *J Neurosurg* 35:263-271,1971.
22. 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 1: Normal spinal cord. *Neurosurgery* 33:277-284,1993.
23. Dela Torre JC: Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 6: 315-335, 1981.
24. Schmelling DI, Caty MG, Oldham KT: Evidence for neutrophil related acute lung injury after intestinal ischemia -reperfusion. *Surgery*, 106:195-202,1989.
25. Parks DA, Bulkley GB, Granger N: Role of oxygen free radicals in shock, ischemia, and organ preservation. *Surgery* 94(3):428-432, 1983.
26. McCord JM: The superoxide free radical : Its biochemistry and pathophysiology. *Surgery* 94(3): 412-414,1983.
27. Faden AI, Simon RP: A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol* 23:623-626, 1988.
28. Panter SS, Yum SW, Faden AI: Alteration in extracellular aminoacids after traumatic spinal cord injury. *Ann Neurol* 27: 96-99,1990.
29. Rothman SM, Olney JW: Glutamate and the pathophysiology of the hypoxic ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19:105-111,1986.

30. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al.: A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 322:1405-1411, 1990.
31. Hall ED: Effects of the 21-aminosteroid U74006F on post-traumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 68:462-465, 1988.
32. Faden AI, Jacobs T, Mougey E, et al.: Endorphins in experimental spinal injury: therapeutic effects of naloxone. *Ann Neurol* 10:326-332, 1981.
33. Musemeche CA, Henning SJ, Baker JL, Pizzini RP: Inflammatory enzyme composition of the neonatal rat intestine: Implications for susceptibility to ischemia. *J Pediatr Surg* 28:788-791, 1993.
34. Punch J, Rees R, Cashner B, Wilkins E: Xanthine oxidase: its role in the no-reflow phenomenon. *Surgery* 111:169-176, 1992.
35. Linas SL, Whittenburg D, Repine JE: Role of xanthine oxidase in ischemia reperfusion injury. *Am J Physiol* 258:711-716, 1990.
36. Roy RS, McCord JM: Superoxide and ischemia: Conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. Greenwald R, Cohen G (eds) in *Oxygen radicals and their scavenger system*. Vol 12 Cellular and molecular aspects, New York, Elsevier Science, 145-153, 1983.
37. Bulkley GB: The role of oxygen free radicals in human disease process. *Surgery* 94: 407-411, 1983.
38. Dormondy TL: An approach to free radicals. *The Lancet* 29: 1010-1014, 1983.
39. McCord JM: Oxygen derived free radical in post-ischemic tissue injury. *New Engl J Med* 312:159-163, 1985.
40. Langer JC, Sohal SS, and Blenner Hasset: Mucosal permeability after subclinical intestinal ischemia reperfusion injury: An exploration of possible mechanisms. *J Pediatr Surg* 30: 568-572, 1995.

41. Arıcıoğlu A, Aykol Ş, Yenikaya E, Baykaner K, Alp MS, Türközkan N: Investigation of serum and tissue lipid peroxidation and serum ascorbic acid, and iron levels in human brain tumour. *Turkish Neurosurgery* 3:150-153, 1993.
42. Gordon JL : Extracellular ATP: Effects sources and fate. *Biochem J* 223: 309-319, 1986.
43. Krause SM: Effect of increased free [ Mg+2] with myocardial stunning on sarcoplasmic reticulum Ca+2-ATPase activity. *Am J Physiol* 251:229-235, 1991.
44. de Haan HH, Ijzermans AC, de Haan J, Van Belle H, Hasaart TH: Effects of surgery and asphyxia on levels of nucleosides, purine bases, and lactate in cerebrospinal fluid of fetal lambs. *Pediatr Res* 36:595-600, 1994.
45. Hsu K, Wang D, Wu SY, Shen CY, Chen HI: Ischemia reperfusion lung injury attenuated by ATP-MgCl<sub>2</sub> in rats. *J Appl Physiol* 76: 545-552, 1994.
46. Chaudry IH: Preperation of ATP-MgCl<sub>2</sub> and precautions for its use in the study and the treatment of shock and ischemia. *Am J Physiol* 242: 604-605, 1982.
47. Uchiyama M, Mihara M: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *An Bioch* 86:271-278, 1978.
48. Hayran M, Özdemir O: İki kiden fazla ortalamanın karşılaştırılması: Bilgisayar İstatistik ve Tıp 2. baskı, Bölüm 22, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1996, s 301-341.
49. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD: The effect of nimodipine and dextran on axonal function and blood flow following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 71:403-406, 1989
50. Tsuji K, Nakamura Y, Ogata T, Shibata T, Kataoka K: Rapid decrease in Atp content without recovery phase during glutamate induced cell death in cultured spinal neurons. *Brain Res* 662: 289-292, 1994.

51. Voet D, Voet J: Biochemistry. John Wiley & Sons, inc. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 1995.