

31275

T.C.
İ.Ü.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRURJİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL MEDULLA SPİNALİS YARALANMASINDA
ANTİOKSİDAN ENZİMLERİN (GPx, SOD, CAT) İNCELENMESİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Mehmet Yaşar Kaynar



İSTANBUL, 1993

**BU TEZİN KONUSU PROF.DR.CENGİZ KUDAY TARAFINDAN VERİLMİŞ VE İ.Ü. CERRAHPAŞA TIP
FAKÜLTESİ NÖROŞİRURJİ A.B.D. DENEYSEL CERRAHİ ARAŞTIRMA LABORATUARINDA VE
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ BİOKİMYA A.B.D. DA GERÇEKLEŞTİRİLMİŞTİR.**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

TEŐEKKÜR

Uzun ve zorlu bir eğitimi, sıcak bir ortamda, çok g¼zel anılarla tamamlarken, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, klinik dışı problemlerimde de her t¼rl¼ desteğini g¼rd¼đ¼m Anabilim Dalı BaŐkanımız Sayın Prof.Dr.CENGİZ KUDAY'a; anısı derin izler bırakan sevgili hocamız Prof.Dr.ERTUğRUL SAYIN' a; bilgi ve birikimleri ile yol g¼steren Sayın Prof.Dr.ALİ ÇETİN SARIOğLU'na; her zaman her konuda yardımlarını ağabey yakınlığı ile sunan sevgili hocamız Doç.Dr.NEJAT ÇIPLAK'a; cerrahi disiplin ve beceriyi iyi iliŐkiler içerisinde aŐılayan Doç.Dr.EMİN ÖZYURT, Y.Doç.Dr.HALİL AK, Y.Doç.Dr.SAİT AKÇURA, Y.Doç.Dr.B¼LENT CANBAZ, Y.Doç.Dr.ZİYA AKAR'a; Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon konularında değerli katkılarından dolayı Sayın Doç.Dr.T¼LAY KUDAY'a; tezimin hazırlanmasında yoğun emekleri geçen Uz.Dr.Őöhret Ali OğUZOğLU, Uz.Dr.Murat HANCI, Dr.Pamir ERDİNÇLER, Dr.Mustafa UZAN, Dr.İlyas TADAYYON'a; N¼roanestezi ve Yoğun Bakım gibi özel bir alanda çok özel bir yeri bulunan Sayın Prof.Dr.MOİS BAHAR'a ve Y.Doç.Dr.Erc¼ment YENT¼R'e saygı ve ő¼kranlarımı sunarım. Tezimdeki biokimyasal analizlerin yapılmasında ¼zenli çalıŐmalarından dolayı Biokimya A.B.D.'dan Kim.Dr.Ahmet BELCE ve Kim.Dr.Koray G¼M¼ŐTAŐ'a; istatistik iŐlemlerini yapan Bilgi İŐlem Uzmanı M¼h.Emre DENİZCİ' ye teŐekk¼r ederim. Uzmanlık eğitimim s¼resince zamanımın çoğunu birlikte geçirdiğim, acı tatlı g¼nleri paylaŐtıđım sevgili doktor arkadaşlarıma, kliniğimizin t¼m hemŐire ve personeline en içten teŐekk¼rlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ	3
1.1.TARİHÇE	3
1.2.SPİNAL KORD TRAVMALARINDA GÖRÜLEN DEĞİŞİKLER	5
1.2.1.PATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	5
1.2.2.NÖROLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	9
1.2.3.NÖROFİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	9
1.2.4.FİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ve SPİNAL KORD İSKEMİSİ	10
1.2.5.METABOLİK DEĞİŞİKLİKLER	12
1.2.6.İYONİK DEĞİŞİKLİKLER	12
1.2.7.SPİNAL KORD TRAVMASINDA KALSİYUMUN ROLÜ	13
1.2.8.LİPİD PEROKSİDASYONU ve EİKOSANOİDLER	15
1.2.9.RESEPTÖR ARACILIĞI İLE SEKONDER HASAR	16
1.2.10.DİĞER NON-RESEPTÖR MEKANİZMALARLA SEKONDER HASAR	18
1.3.TEDAVİ YAKLAŞIMLARI	18
1.3.1.FARMAKOLOJİK TEDAVİLER	18
1.3.2.NON FARMAKOLOJİK TEDAVİLER	22
1.4.SERBEST RADİKALLER VE HÜCRESEL KORUNMA MEKANİZMALARI	23
1.4.1.OKSİJEN SERBEST RADİKALLERİN TEMEL MEKANİZMALARI	24
1.4.2.SERBEST RADİKALLERİN HARABİYETİNE KARŞI HÜCRESEL SAVUNMA ...	26
1.4.3.SERBEST RADİKALLER VE SANTRAL SİNİR SİSTEMİ HASARI	28

2.MATERYAL VE METOD	29
2.1 DENEKLER	29
2.2.CERRAHİ GİRİŞİM	29
2.3.ÖRNEKLERİN ALINMASI	30
2.4.ENZİM AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ	30
3.BULGULAR	31
4.TARTIŞMA	39
5.SONUÇ	46
6.KAYNAKLAR	47

1.GİRİŞ

Spinal kord yaralanmaları, hem hasta hem hekim açısından çözümü oldukça zor veya imkansız problemler doğurur. Travmanın spinal kordda yarattığı, aksonal ve vasküler harabiyet gibi primer etkileri büyük oranda geri dönüşümsüzdür. Ödem, iskemi, iyonik değişiklikler ve serbest radikal hasarı gibi sekonder veya progressif etkileri ise önlenebilir veya geri dönüşümlüdür. Spinal kord lezyonlarının farmakolojik tedavisinin temelini, travmanın sekonder etkilerinin önlenileceği fikri oluşturmaktadır. Spinal kord travmalarında sekonder doku hasarı ile ilgili yapılan yoğun araştırmalara rağmen, bu mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Son yıllarda, ilk olarak Demopoulos ve arkadaşlarının öne sürdükleri, spinal kord yaralanmasında serbest radikaller ve lipid peroksidasyonunun önemini ortaya koyan araştırmalar bildirilmiştir.Bu çalışmamızda sekonder hasarın progresyonunda rol aldığı belirtilen serbest oksijen radikallerin ortamdaki temizlenmesini üstlenen üç antioksidan enzimin (SOD, GPx, CAT) aktivitesinin zaman içindeki değişimini inceledik.

1.1.TARİHÇE

Spinal kord travmaları ile ilgili ilk yazılı belge Edwin Smith papirusudur. MÖ 3000-2500 yılları arasında yazıldığı belirtilen, 1930 yılında Bearsted'in tercümesini yaptığı Edwin Smith papirusunda, eski Mısırlı cerrahların spinal kord travmalarını tedavi edilemez hastalıklar olarak sınıflandırdıkları anlatılmaktadır (26). Yunanlı filozof Hipokrat(MÖ 460-377) vertebra dislokasyonuna eşlik eden ekstremitelerdeki paralizileri ile ilgili detaylı bilgiler vermiş ve vertebra dislokasyonlarında gibbusa önden kuvvet uygulanırken aksiyel distraksiyonla vertebral redüksiyonu sağladığı yöntem yüzyıllarca kullanılmıştır (93). Travma sonrası spinal kordda gelişen histolojik değişikliklere ilişkin bilgilerin çoğu post-mortem çalışmalarla elde edilmiştir. M.S. 1. yüzyılda Galen, kordda longitudinal kesilerin fonksiyon üzerine önemli etkilerinin olmadığını, halbuki transvers ensizyonun bu seviyenin altında parapleji oluşturduğunu göstermiştir (66). Travmanın, spinal kord üzerine etkileri ile ilgili bu ilk deneysel bulguların önemi yüzyıllarca gözden kaçmıştır. 1890 yılında Schmaus, ilk kez deneysel olarak spinal kord konküzyonunu, vertikal

olarak asılmış tavşanların sırtına bağladığı tahtaya vurduğu darbeler sonrası araştırmıştır. 1895'de Bikeles benzer bir deneyde Schmaus'un bulgularını destekler sonuçlar bildirmiştir. 1907'de Stcherbak, titreşim uyguladıktan sonra spinal kord'un gri maddesinde nekroz saptamıştır. 1918'de Marinesco, patlayıcı kuvvet uyguladığı köpeklerin spinal kord'larında intramedüller hemorajiler tesbit etmiştir. 1923'de Mc Veigh köpeklerin ekspozite edilmiş spinal kordlarına parmağı ile basarak gri maddede hemoraji, lateral ve anterior ak maddede ödem oluşturmuştur. Thompson travma alanından rostrale ve kaudale uzanan koni şeklinde hemoraji ve dejenerasyon tarif etmiştir. 1927'de Ferraro, tavşanların sırtına demir çubukla vurarak travma oluşturmuş ve 6 gün içindeki değişik zaman dilimlerinde incelemiştir. Bir saat içerisinde gelişen akson şişmesini, oniki saat içerisinde miyelin kılıfındaki değişikliklerin izlediğini ve 4 gün içerisinde ak maddede dejenerasyon, ön boynuz hücrelerinde değişiklik ve reaktif gliozis oluştuğunu tesbit etmiştir. Ferraro bu değişiklikleri serebrospinal sıvı yolu ile spinal korda geçen şok dalgalarına bağlamıştır. Craig, kompresyon seviyesinde posterior kolonlarda dejenerasyon, kompresyonun kaudalinde vakuolleşme ve kistik dejenerasyon saptamıştır. 1967'de Harvey ve Serebnik spinal kord travması oluşturdukları ve levotiroksinle tedavi ettikleri farelerin sinir liflerinde rejenerasyon ve sinir liflerinde düzelme olduğunu bildirmişlerdir (26). Spinal kord travmalarının standardize edilmeleri ve kantitatif olarak ölçülmesi ilk kez 1911 yılında Allen tarafından uygulanmıştır. Allen köpeklerin torasik spinal kordlarını dura mater intakt olmak üzere ekspozite etmiş ve spinal korda dik olarak yerleştirilen bir tüp içerisinde belli bir ağırlığı değişik yüksekliklerden düşürmek sureti ile gm/cm cinsinden değişik derecelerde kontüzyon oluşturmuştur. 300 gm/cm'lik kontüzyonun geçici parapleji, 400 gm/cm'nin kalıcı parapleji oluşturduğunu saptamıştır (4,26). 1953'te Freeman ve Wright miyotominin, fonksiyonların geri dönmesinde yardımcı olduğu sonucuna varmışlardır. Tarlov ve arkadaşları, köpeklerin spinal kordlarının epidural mesafelerine hidrolik balon yerleştirilerek miktarı ölçülebilir kompresif kuvvet tatbik etmişlerdir. Akut ve kronik kompresyondan sonra yapılan histolojik tetkikler epidural balon seviyesinde rostrale ve kaudale uzanan dejenerasyonun varlığını ortaya koymuştur. Gelfan ve Tarlov, kanin spinal kordlarında

kompresyonla oluşturdukları geri dönüşümlü ileti bloğunun anoksiye değil de mekanik deformasyona sekonder geliştiği sonucuna varmışlardır (26). Deneysel spinal kord kompressif travmalarında çeşitli tedavi yöntemleri denenmiştir. 1965'de Maeda dekompressif laminektomi, 1953'de Freeman ve Wright durotomi ve posteior miyelotomi, 1960'da Scorff intravenöz hipertonic glüköz, 1963'de Joyner ve Freeman üre, 1968'de Albin, 1970'de Kelly ve arkadaşları rejional hipotermi, 1971'de Richardson ve Hakamura lokal hipotermi ile beraber kortikosteroidleri, 1965'de Maeda ve 1970'de Kelly hiperbarik oksijenizasyon yöntemlerini ortaya koymuşlardır. Özellikle ilk 3 saat içerisinde uyguladıklarında bu tedavi yöntemlerinin sonuçları cesaret vermekle birlikte altta yatan mekanizmaları yeterince anlayamamıştır (93).1978'de Rivlin ve Tator sıçanlarda ekstradural klip uygulayarak, ekstradural balonun büyük hayvanlar gerektirmesinin getirdiği sakıncaları ortadan kaldırmışlardır (98).1979 ve 1982 yıllarında Demopoulos ve arkadaşları sekonder hasarda serbest radikallerin rolüne dikkat çekmişlerdir (24).

1.2.SPİNAL KORD TRAVMALARINDA GÖRÜLEN DEĞİŞİKLER

Deneysel spinal kord travmalarından sonra ortaya çıkan patolojik değişiklikler ile ilgili çalışmalar, spinal kordun travmanın tipi ve sebebine bakmaksızın benzer reaksiyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Kontüzyon, kompresyon, iskemi veya toksik maddeler dahi santral hemorajik nekroza yol açarak spinal kordda benzer patolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler oluştururlar. Bu bulgular sekonder hasar mekanizmaları ile ilgili yeni hipotezlerintemelidirler (56).

1.2.1.PATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Hem klinik, hem de deneysel spinal kord travmalarında en erken görülen gros patolojik değişiklik, primer olarak santral gri maddedeki peteşiyal kanamalardır. Darbeye maruz kalan yerlerdeki küçük venler travmaya en duyarlı yapılardır (66,94,103,118).İlk 15 dakikada nörolojik lezyon oluşmuştur. Hücrelerin ve sinir liflerinin çoğu lezyon bölgesinde intakt olmasına rağmen travma bölgesinden geçen impuls iletisi kaybolmuş ve hayvan paraplejik hale

gelmiş olabilir. Bununla beraber doku kesitlerindeki morfolojik değişikliklerin azlığı yanlış değerlendirilebilir. Fokal aksonal harabiyet dağılıp kaybolabilir ve bu yüzden spinal kordun tek bir kesiti bütün aksonal bozulmayı sağlıklı bir şekilde ortaya koymaz. Zaman içerisinde dejeneratif hadise oturdukça, daha fazla aksonal hasar belirginleşir (56). İlk saat içerisinde, damarların intakt görüldüğü alanlarda bile ödem gelişir. Bu, kendisini hem ak hem de gri maddede ekstrasellüler mesafenin artışı ile ortaya koyar ve santrifugal olarak gri maddeden ak maddeye, longitudinal olarak spinal kordun aksı boyunca yayılma eğilimindedir. Belirli kuvvetlerdeki travmalarda, ödem oluşumunun yaygınlığı travmanın şiddetine bağımlı görülmektedir. Bununla beraber yeni yapılan bir çalışmada, ağırlık düşürme ile spinal kordlarında kontüzyon oluşturulan sıçanlarda, 6 saat içerisinde gelişen ödemin travma şiddetinden bağımsız olduğu tesbit edilmiştir (56). Bazı hayvan çalışmalarında nörolojik fonksiyonların travma dozuna bağımlılığı gösterilmiştir (97). Nörolojik defisitlerin oluşumunda veya devamında ödemin oynadığı kesin rol tam olarak açıklanamamıştır. Spinal kordun ödemi dakikalar içerisinde oluşmaya başlar, travma sonrası 2 ve 3. günlerde pik yapar ve 4, 7. günlerde çözülmeye başlar (124). Bu vazojenik ödem, kapiller endotelial hücreler arasındaki sıkı birleşme yerlerinin gevşemesine, pinositik aktivitenin artmasına ve kapillerlerin fiziksel bozukluğuna bağlı olabilir (56). Aksonlarda, erken devrede, aksolemmanın parçalanması ve aksonal membranın aksoplazma içerisinde tuboveziküler invajinasyonu görülür (9). Dakikalar içerisinde norofilamentin kaybolduğu gözlenebilir. Ek olarak miyelin bazik protein kaybının eşlik ettiği büyük miyelin değişiklikleri izlenebilir (10). Travma bölgesinde, erken devrede gri maddede nöronal kayıp dikkati çeker. Ak maddenin progressif dejenerasyonu uzun traktus liflerini kapsar (9). Ultrastrüktürel ve elektroforetik analizler, travmayı takiben ilk birkaç saat içerisinde nöronal sitoskeletal proteinin yıkıldığını göstermektedir (10,64). Miyelin kılıfında lokal infiltrasyon gösteren inflamatuvar hücrelerin, sağlam aksonların sekonder hasarlarında önemli rollerinin olup olmadığı veya sadece doku artıklarını mı temizledikleri hakkında kesin bir sonuca varılamamıştır. Bu hücreler tarafından, kemotaktik ve pro-inflamatuvar faktörlerin ve histolitik ve proteolitik enzimlerin serbestleşmesi doku nekrozunu daha arttırabilir (56). En erken post

travmatik 9. günde gelişen santral kavitenin oluşumunda muhtemelen makrofajların önemli rolleri vardır. Bu santral kavite zamanla büyüyebilir ve bazen post travmatik siringomiyeli olarak da adlandırılabilir. 6- 24 saatten az yaşayan vakalarda, santral gri maddedeki peteşiyal hemorajilerin dışında belirgin değişiklik genellikle görülmez. Makroskopik olarak, travma bölgesinde kord yassılaşabilir veya yumuşak ve şişmiş olabilir, mavi-kırmızı renktedir. Pia-araknoid hemorajik, fakat genellikle intakttır. Kesitte, gri maddede küçük hemorajik odaklar vardır. Bunlar genellikle santral kısımdadır fakat bir veya her iki posterior hornlarda veya tüm gri maddede olabilirler. Gri ve ak madde arasındaki sınır genellikle kaybolmuştur. Massif fraktür dislokasyonlarda dahi pia-araknoidin bozulması kordun ekstrüzyonu veya tamamen yırtılması nadirdir. Lezyonun sadece darbe yerindeki bir veya iki segmenti içermesi seyrek, sıklıkla lezyonun altına ve üstüne doğru gittikçe incelerek uzanır (58,66). Erken devrede histolojik olarak, küçük hemorajilerin arka boynuzların ön kısmında ve santral kanalın çevresinde yerleştiği görülür. Bu küçük hemorajiler, ince damarlarda eritrositlerin ekstrasvazasyonu ile oluşur (25,31). Santral gri maddenin zedelenebilirliği hem lokal yapılara hem de gri ve ak maddenin damarlanmasıyla ilgili farklı olmasına bağlı olabilir. Spinal kord kontüzyonundaki ilk değişikliklerin santral gri maddedeki aksonların ve kapiller endotel hücre bileşeklerinin bozulması olduğuna inanılmaktadır. Santral kanal yakınındaki santral gri maddedeki küçük damarların harabiyeti "santral kavite etkisi" ile benzer bir mekanizma ile olmaktadır (31,118). Genişlemiş intramedüller venüllerin yırtılması ile ek kanamalar gelişir. Travma alanında küçük intramedüller damarlarda ve pial venlerde sıklıkla fibrinoid nekroz, endotelial şişme ile daralma, oklüzyon ve tromboz vardır. Meninks ve spinal korddaki arterlerin yeni fibrin trombusu ile tıkanması travmadan sonraki ilk 24 saat içerisinde gözlenir. Kordun santral alanında da mekanik olarak hasar görmüş sinir dokusu bölgesi bulunur. Aksonlar ve hücre membranlarının çözülüp, bozulması likefikasyon nekrozuna gittiği görülür. Travma bölgesinde tam segmental nekroz oluşturan ağır travmalarda travma sonrası birkaç saat içerisinde santral lezyon gri maddenin büyük kısmını kapsar. 8-24 saat içerisinde hem nekroz, hem de hemoraji gri maddeden santrifugal olarak komşu ak maddeye ve kordun periferine ve travma bölgesinden

rostrale ve kaudale ilerler. Sonunda tüm kord kesiti etkilenir, yuvarlak ve gergin bir hal alır. Subaraknoid ve subdural mesafeler oblitere olur. Ağır hasar görmüş alanda hemorajik nekroz gelişir. Bazen hemoraji ve hemorajik nekrozun travma bölgesinde olmasına rağmen kanama sıklıkla bölgenin altına ve üstüne füziform kitle gibi yayılır (58,66,118). Marburg travma sonrası oluşan hemorajik kord lezyonlarını 4 gruba ayırmıştır. 1- Diapedeze bağlı peteşiyal tipte multipl küçük hemorajiler; 2- Damarların yırtılması sonucu büyük primer travmatik tübüler veya füziform hemorajiler; 3- Reaktif venoreksise ve mikrosirkülasyon bozukluğuna bağlı komşu yapılara sekonder kanamalar; 4- Hem primer mekanik olarak, hem de sekonder lezyonlar sonucu hemorajik nekroz. Gri maddenin değişen uzunlukta yayılan santral hemorajik nekrozu, insan ve eksperimental spinal kord travmalarında görülen, sık ve en karakteristik tipte kord lezyonudur (31,118). Ağır eksperimental travmalarda, travmayı takiben 5-30 dakika içerisinde hemoraji ve nekroz santral gri maddeyi içine alır. Daha sonra perifere yayılmaya başlar, 4 saat içerisinde tüm gri maddeyi kapsar ve 8-24 saat kadar sonra ak madde dahil bütün kord kesidinde nekroz oluşur. Yaklaşık 48 saat içerisinde lezyon rostrale ve kaudale gittikçe incelerek yayılır (32,58,118). Işık ve elektron mikroskopik çalışmalar erken doku hasarının mekanik olduğunu göstermiştir. Doku membranlarında bozulma, aksonlarda yırtılma, intramedüller damarlardaki hasarların oluşturduğu peteşiyal kanamalar ve kan-beyin bariyerinde değişiklikler saptanmıştır. Travmadan hemen sonra, hemorajiler, fibrinoid nekroz ve küçük ve büyük damarların endotelial hücre bileşkelerinde bozulma izlenmiştir. Bunları endotelial hücrelerin pinositatik aktivitesindeki artışın ve ekstraselüler mesafenin artışının takip ettiği travmadan 15 dakika sonra ultrastrüktürel olarak gösterilmiştir (66). Vasküler hasara bağlı travmatik hemorajileri, staz ve perfüzyon bozukluğuna bağlı sekonder kanamalar izler. Bu lezyonlar parenkimal nekroz ve iskeminin gelişimine öncülük ederler. Hasar bölgesinde ilk görülen perivasküler ödem ve nekrozdur ve radyal ve longitudinal yönde yayılırlar. Travmadan 24 saat kadar sonra, kord hemorajik nekroz ve küçük bir intakt ak madde parçasından ibarettir. En erken oluşan hasar mekaniktir fakat bu çeşitli faktörlerin birleşimi ile agrave olur. Bu faktörler iskemi, enerji disfonksiyonları ve mikrosirkülasyon ve biyokimyasal

bozukluklara (örneğin elektrolit dengesizliği, serbest radikal oluşumu, nöromedyatör değişiklikler ve kalsiyum toksitesisi) bağlı gelişen ödemdir (31,118,124).

1.2.2.NÖROLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Eksperimental spinal kord travmalarının çoğunda lezyon, insanda en sık görülen servikal travma olmasına rağmen, lomber ve torakal bölgelerde oluşturulmaktadır.Torasik ve lomber travmalarda solunum bozulmadığı için böyle modellerde respiratuvar komplikasyonlar dikkate alınmamaktadır. Torasik spinal kord travmalarında gri madde hasarının minimal etkisi olmasına rağmen servikal segmentlerde gri madde kaybı majör motor ve sensoryel sonuçlar doğurmaktadır.Kontüzyonlar hafif, orta veya şiddetli olsun, patolojik değişiklikler için saatler gerekse de, lezyon bölgesinde aksonal ileti kaybı çok hızlı gelişir. Başlangıçta ileti kaybı kontüzyondan sonra saniyeler içerisinde gelişen, ekstraselüler potasyum aktivitesinin aşırı artışı ile ve diğer iyonik düzensizlikler ile açıklanabilir. Spinal kord travmasından sonra gelişen nörolojik fonksiyon kayıplarında 3 değişken göz önüne alınmalıdır. Birincisi, travma spinal kordda iyonik ve metabolik düzensizliklere yol açarak aksonal iletide ve travmadan uzaktaki segmental reflekslerde bile blokaja sebep olur. İkincisi, primer ve sekonder doku hasarı aksonların kaybına neden olur. Üçüncüsü, oligodendroglionlar gibi destek yapıların kaybı uzun süreli aksonal disfonksiyona sebep olur. Bu faktörler nörolojik fonksiyonun kaybında ve düzelmesinde olaya değişik zamanlarda iştirak ederler.

1.2.3.NÖROFİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Hareketlerin test edilmesinin sınırlılığı karşısında birçok araştırmacı nörofizyolojik testlere yönelmişlerdir. En yaygın kullanılan monitorize yaklaşım somatosensoryel uyarılmış potansiyellerdir (SEP). Bu, direkt olarak elektrik impulslarının dorsal kolonlardan (propriosepsiyonu sağlayan uzun traktuslar) iletimini ölçer. Spinal kordda sensoryel fonksiyonun tüm uzun traktus fonksiyonlarına genellenebileceği farz edilmektedir. Kortikospinal yolları direkt olarak monitorize eden yöntem olan motor uyarılmış potansiyeller (MEP), SEP kadar yaygın kullanılmamaktadır. Spinal kordun şiddetli travmalarında SEP hızla kaybolur. Birçok hayvan ve klinik çalışmada belirtildiği gibi SEP kaybına

klirik olarak parapleji eşlik eder. Tersini her zaman doğru değildir, düşük amplitüdü olsa da SEP'in, klinik paraplejide olabileceği gösterilmiştir. Azalmış olsa da eğer SEP varsa, nörolojik düzelme için bir şans var demektir. Orta şiddetli kontüzyonu olan hayvanlarda uyarılmış potansiyeller travmadan 1-3 saat sonra geçici olarak geri dönebilir, bu uyarılmış potansiyeller progressif santral hemorajik nekrozun başlaması ile kaybolur. Hafif kontüzyonda uyarılmış potansiyeller geç kayıp olmadan geri dönerler (7,56). Blight ve Young, akut spinal kord travması çalışmalarında dalga şeklindeki anormalliğin derecesinin nörolojik fonksiyonla yakından ilgili olduğunu tesbit etmişlerdir. Raines ve arkadaşları, sıçanlarda SEP'in amplitüd ve entegre alanlarının travmanın dördüncü haftasında gelişebilecek hareket yeteneği hakkında fikir verebileceği fakat yanıt latanslarının veremeyeceğini göstermişlerdir. SEP'ler geçici olarak düzelebilir daha sonra saatler veya günler boyunca kaybolur. Uzun süreli parapleji oluşturmeyen travmalarda nörofizyolojik yanıtların bu sekonder kaybı olmaz. Sep'in primer kaybolması muhtemelen aksonal membranların mekanik harabiyetine ve intrasellüler ve ekstrasellüler iyonik konsantrasyonların hızlı değişikliğine bağlı olabilir. SEP'in sekonder kaybindan, ak madde iskemisi gibi daha kademeli gelişen prosesler sorumlu olabilir (56). Kronik spinal kord travmalarında, hayvanlarda ve insanlarda komplet ve inkomplet spinal hasarın kaba ayırımı dışında SEP, nörolojik durumla korelasyon göstermez. Çeşitli çalışmaların bildirdiğine göre, travmadan sonra 4 saat içerisinde alınan SEP'ler gelişebilecek tablo hakkında fikir verebilir fakat travmadan sonra geçen zamanla korelasyon gittikçe azalır (56).

1.2.4.FİZYOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ve SPİNAL KORD İSKEMİSİ

Spinal kord veya beyin travması, kardiyak aritmiler ve kan basıncında belirgin değişikliklere yol açan otonom sinir sistemi bozuklukları oluşturur. Başlangıçtaki hipertansif yanıt uzun süreli hipotansiyon takip eder. Spinal kord travmalı hastalarda genellikle bu şekilde hipotansiyon görülür. Guha ve Tator, klip kompresyonu ile sıçanlarda oluşturdukları spinal kord travmalarında, hemen travma sonrası mean arteryel basınçta (105 ± 8 mm Hg'den 178 ± 11 mm Hg'ye) gelişen yükselmeyi takiben en az 135 dakika süren bir hipotansif (46 ± 15 mm Hg) faz

bildirmişlerdir. Buna paralel kardiyak output'da düşüş gözlenmiştir. Total periferik direnç, santral venöz basınç veya kalp hızında değişiklik yoksa kardiyak output'daki düşüşün sempatik tonus kaybından daha çok miyokardiyal değişikliklere bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir (43). Young ve arkadaşları, kedilerde başlangıçtaki hipertansif yanıtta sempatik sinir sisteminin rolüne değinmişlerdir. Beyinde olduğu gibi, spinal kord damar yapısı, sistemik kan basıncındaki değişiklikleri kompanse ederek spinal kord kan akımının nisbeten sabit kalmasını sağlar. Spinal kord oksijenizasyonunu, spinal kord kan akımı tayin ettiği için, spinal kord kan akımı ve kordun otoregülasyon yeteneği çok geniş bir şekilde araştırılmıştır. Sonuçlar birbirleri ile çelişmektedir. Bu da muhtemelen deney protokolünün, hasar oluşturma metodlarının veya spinal kord kan akımı ölçüm tekniklerinin farklılığına bağlı olabilir. En sık kullanılan yöntemler hidrojen klirens tekniği ve otoradyografi tekniğidir (60,71,84,99,100,102). Spinal kord kan akımı ile ilgili birçok çalışmada, patolojik tetkiklerde görülen direkt vasküler hasarla ilgili olabilecek, santral gri maddede kan akımında hızlı bir düşüş saptanmıştır (84,99,103). Şiddetli kontüzyonlarda, lateral kolon akımındaki maddekan akımı ilk 2-3 saat içerisinde değişkendir, fakat 3 saatten sonra travma öncesi değerlerin % 50'sine düşer (103). Bununla beraber bazı araştırmacılar daha az şiddetli travmalarda hiperemi bildirmişlerdir (72). Bir çok faktör spinal kord kan akımını etkiler: sistemik kan akımına otoregülasyonun azalması (70,103), anestezi ajanları, travma şiddeti, fokal hemoraji alanları veya ödem veya harap nöronlardan norepinefrin gibi vazokonstriksiyon yapan nörotransmitterlerin serbestleşmesi. Travma bölgesinde katekolamin birikmesine dayanan katekolamin hipotezi, daha sonraki çalışmalarda bu bulguların tekrarlanmaması ile çürütülmüştür (55,86,88,89,95,96,116,117). Bununla beraber, opiatlar, eksitatör aminoasitler, substance P ve diğer vazoaaktif maddeler gibi serbestlenen nörotransmitterlerin potansiyel rolü daha çok ilgi toplamış ve terapötik çalışmaları stimüle etmiştir (34). Birçok yeni çalışmada prostoglandinlerin ve lökotrienlerin serbestleşmesi bildirilmektedir. Monoamin ve diğer vazoaaktif maddeler kan akımını düşürürler fakat hem de lipid peroksidasyonunu indükleyerek spinal kord hücrelerini direkt etkilerler (78). Tüm vazoaaktif etkilerin toplamı spinal kord kan akımını tayin eder. Bununla beraber, post travmatik

iskeminin kesin rolü hala spekülasyon konusu olarak kalmaktadır.

1.2.5.METABOLİK DEĞİŞİKLİKLER

Kan akımının azalması ve spinal kord iskemisi, sekonder hasara yol açsın veya açmasın, travmadan sonra spinal kordlarda önemli metabolik ve ionik düzensizlikler oluşur. Bu düzensizlikler hücre ölümünde majör rol oynayabilirler fakat sadece onun sonucu da olabilirler.En önemli metabolik değişiklik, travma bölgesinde yüksek enerjili fosfat bağlı substratların ve diğer enerji kaynaklarının hızla azalmasıdır. ATP ve fosfokreatin seviyeleri ilk 15 dakikada % 70'den fazla düşer ve en az 24 saat düşük kalır. AMP (adenozin monofosfat) seviyelerinde artış olur. Ek olarak pirüvat seviyesindeki düşüklük, doku laktat seviyesindeki artış, NAD/NADP oranındaki oksidatif değişme, oksidatif metabolizmanın anaerobik glikolize döndüğünü düşündürür. İskemi, ödem veya hipoksi temelinde dayanarak, bu değişikliklerin hızını ve büyüklüğünü açıklamak zordur. Yüksek enerjili substratların kaybı, travma bölgesinde, sodyum-potasyum ATP ase dahil bütün enerji bağımlı selüler fonksiyonların yetersizliğini göstermektedir (56).

1.2.6.İYONİK DEĞİŞİKLİKLER

Özellikle potasyum, sodyum ve kalsiyumun spinal kord travmalarındaki değişikliklerin ölçülmesi, bunların aksonal ileti, nörotransmitter serbestleşmesi ve kalsiyumun hücrenin yaşama yeteneği üzerindeki etkileri nedeni ile oldukça ilgi çekmiştir. Travmatik hasarda, hücrelerin parçalanması veya potasyuma membran permeabilitesinin artması ile, saniyeler içerisinde, ekstraselüler potasyum konsantrasyonu hızla artar. Ekstraselüler potasyumun 10 mmol'un üzerine çıkması aksonal iletiyi bloke eder ve nörotransmitterleri serbestler. İyon selektif mikroelektrodlar kullanılarak ekstraselüler potasyum konsantrasyonundaki değişiklikler direkt olarak ölçülebilmektedir. Lateral ak madde kolonlarında potasyum travma öncesi 4 mmol'den travmadan hemen sonra ortalama 50 mmol'a yükselmekte ve 1-2 saat içerisinde temizlenmektedir. Uyarılmış potansiyeller, ekstraselüler potasyumun artışı ile kaybolur ve potasyum temizlenince geri döner. Potasyumun temizlenme hızı, ak maddenin kan akımına bağlı görünmektedir. Paravertebral sempatektomi ile post-travmatik hipoperfüzyonun engellenmesi, temizlenme hızını artırır fakat

başlangıçtaki potasyum artışı üzerine etkisi yoktur. Total doku potasyum ölçümleri, travma bölgesinde önemli kayıp olduğunu göstermiştir. Travmadan 2-3 saat sonra, kan akımı ve uyarılmış potansiyellerin (ikinci defa) azaldığı devrede ekstraselüler potasyumda ikinci bir artış görülmez. Potasyumun tersine ekstra selüler sodyum düşer, travma bölgesinde total doku sodyum iyonları artar (ilk 1-3 saat içerisinde iki katına çıkar). Bunlara göre, lezyon bölgesine kandan ve etraf damarlardan gelen sodyum iyonları burada hücreye girmektedir (5,56). Kalsiyum iyon değişiklikleri ile ilgili çalışmalar, spinal kord travmasının patofizyolojisine yeni anlayışlar getirmiştir. Santral sinir sisteminde, tamamen iyon transport mekanizmaları ile sağlanan, ekstraselüler (> 1 milimolar) ve intraselüler (< 1 micromolar) kompartmanlar arası kalsiyum gradyant farkı normalde 1000 kattan fazladır. Bu nöronal fonksiyon için gereklidir. Membranın kalsiyum permeabilitesinde travmaya bağlı değişiklik sonucu kalsiyum, hasarlı hücrelerin içine hücum eder. Bu kendisini ekstraselüler kalsiyumdaki düşüşle gösterir.

1.2.7.SPİNAL KORD TRAVMASINDA KALSİYUMUN ROLÜ

Çeşitli dokularda, hücre ölümünde kalsiyumun kontrolsüz hücre içerisine girişinin rolü olduğu ve travmatize spinal kordda nöron ölümündeki ana faktörlerden biri olduğu öne sürülmektedir. Çeşitli gözlemler bu hipotezi desteklemektedir: Happel ve arkadaşlarının, travmatize spinal dokuda intraaksonal kalsifikasyon ve total doku kalsiyum seviyelerinde 2 saat sonra 2 kat, 8 saat sonra 5 kat artış bildirmeleri; Balentine ve Hilton'un spinal kordu hiperkalsemik solüsyonla süperfüze ederek travmadan sonra görülen patolojik değişikliklere benzer sonuçlar elde etmeleri; son olarak da ekstraselüler kalsiyum seviyesindeki travmayı takiben aşırı ve uzun süreli düşüş ($1,0-1,3$ mmol'dan $0,01-0,1$ mmol'a), travma bölgesinde kalsiyumun hücre içine hızla girdiğini düşündürmektedir. Bu düşüklük gri maddede devam eder fakat ak maddede kısmen düzelir, sonra 2-3 saat içerisinde tekrar düşer (15,56). Kalsiyumun hücre içerisine girişi ile nöronal hücre ölümü arasında direkt sebep-etki ilişkisi tam olarak açıklanamamıştır. Açıklanan kalsiyum değişikliklerinin çoğu nöronal hücre ölümünün sebebi değil de sonucu olabilir. Travma bölgesinden 1 cm. uzakta da geçici de olsa ekstraselüler kalsiyumda düşüş görülür fakat bu alanlarda

anlamli bir doku hasari yoktur. Kalsiyumun baslangicta hucre icerisine girmesini takiben hucrenin yasaması mumkun olabilir fakat bunu takib eden intraseluler yuksek kalsiyumun etkiledigi olaylar hucrenin duzelmesini engelleyebilirler. Ekstraseluler kalsiyumun uzun sureli dususune ragmen tum doku kalsiyum seviyesinde artış vardır ve ultrastruktürel calışmalarda kalsiyum birikintileri bildirilmiştir. Kalsiyum birikintileri, kalsiyum'un inorganik fosfat gibi anyonlarla baglanarak hidroksiapatit tuzu şeklinde cokmesine bagli olabilir. Inorganik fosfat havuzları eksilir ve ATP rejenerasyonunda kullanılacak olan inorganik fosfat azalmış olur. Eđer mitokondrilerin kalsiyum-ekstrüzyon mekanizmaları aşırı yuklenirse, kalsiyum mitokondriyal enzimlere baglanır ve elektron transport zincirleri ayrılarak ATP'nin oksidatif fosforilasyon yolu ile oluşunu azalır. Yuksek ekstraseluler potasyum konsantrasyonu Na-K ATP ase'yi uyararak ATP tuketimini arttırır (56). Hucreye giren kalsiyumun, bir cok biyolojik fonksiyonu duzenleyen intraseluler "messenger" gibi hareket ettigi bilinmektedir. Bunlar arasında iyonlara karşı membran permeabilitesinin artışı, protein sentezinin ve fosforilasyon mekanizmalarının inhibisyonu yolu ile metabolizmanın artışı, butun nörotransmitterlerin serbestlenmesi, seluler transport ve hucre ici pH'ının duzenlenmesi sayılabilir. Aşırı kalsiyum girişi bu seluler fonksiyonları bozabilir ve hucre olumüne sebep olabilir. Ek olarak, kalsiyumun girişi, hucre destrüksiyonuna yol ačan patolojik mekanizmaları harekete geirebilir. Orneđin, kalsiyum, kalsiyuma bagımlı fosfolipaz A'yı aktive eder, bu da membran lipidlerini yıkarak araşidonik asidi oluşturur. Arařidonik asit metabolitleri prostaglandinler, lökotrienler, tromboksanlar ve serbest radikal çeşitleridir. Bunlar sıra ile bir cok zararlı olaya iştirak ederler; trombosit agregasyonu, vazospazm, nörotransmitterlerin serbestlenmesinin inhibisyonu, lizozomal enzimlerin serbestlenmelerinin uyarılması ve normal seluler mambranların destrüksiyonu (15,44,56). Yuksek doz kortikosteroidin, travma bölgesindeki ak maddede ekstraseluler kalsiyumun ikinci dususunu engelledigi deneysel calışmalarda gosterilmiştir. Bu istenmeyen bir etkidir, cunku böylece yuksek bir gradyant oluşarak kalsiyumun kısmen hasar görmüş fakat iyileşebilir hucrelere girişi kolaylaşacaktır. Bu hipoteze göre, ekstraseluler kalsiyumdaki dusuş, travmadan sonra kurtarılan hucreler için koruyucu bir rol oynamaktadır. Ekstraseluler

kalsiyumun hızla eski seviyesine getirilmesi, nöron ve glia hasarını arttırabilir. Bu hipotez, miyokardiyal hücreler için açıklanan "kalsiyum paradox" a benzemektedir.

1.2.8.LİPİD PEROKSİDASYONU ve EİKOSANOİDLER

Membran entegrasyonu üzerindeki zararlı etkileri ve araşidonik asit metabolitleri oluşumundaki etkileri ile membran lipid peroksidasyonu, hücre içine aşırı kalsiyum girişinin en önemli zararlı yan etkilerinden biridir. Lipid peroksidasyonu için ikinci yol, spinal kord iskemisine sekonder serbest radikal oluşumudur. Sekonder hasar mekanizmaları ile ilgili teori Demopoulos ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (24). Serbest radikaller dış elektron yörüngesinde tek, eşleşmemiş elektron bulunan moleküllerdir. Bu molekküller kimyasal olarak çok aktiftirler, diğer moleküllerle reaksiyona girerek daha fazla serbast radikal oluştururlar. Serbest radikaller normal selüler oksidatif ve lipid metabolizmasında rol oynarlar. Endojen enzim sistemleri ve antioksidanlar, serbest radikallerin etkisini ve üretimini kontrol ederler (51,65,68,83,110). En yaygın çalışılan serbest radikal sistemi oksijendir. Aktif oksijen serbest radikal çeşitleri süperoksid anyonu, hidrojen peroksit hidroksil radikalidir. Oksidatif metabolizma esnasında, sitokrom oksidaz superoksid radikali ve hidrojen peroksid oluşumunu engeller, fakat bu arada çok az miktarda radikal oluşur. Aerobik organizmalar, aşırı serbest radikali temizlemek için katalaz, superoksit dismutaz ve peroksidazlar gibi enzimler ve membranlar arasında (E vitamini, betakaroten ve kolesterol) ve sitozolün içinde (askorbik asit, sistein ve redükte glutatyon) yerleşmiş maddeleri kullanır. Bu sistemler yetersiz kalınca sekonder hasar oluşabilir (47,48,52,53). Serbest radikallerin çoğunun üretiminde oksijenin varlığı gereklidir. Örneğin total anoksi, oksijen serbest radikallerin oluşumunu engelleyebilir (51). Bununla beraber spinal kord travmasında iskemi parsiyeldir ve yavaşça gelişir. Ekstravaze kandaki bakır ve demir de serbest radikal üretimini katalizler. Bu yüzden, hasarlı spinal kordun bulunduğu ortam, kalsiyumun hasarlı hücreye girişi ile de zararlı serbest radikallerin oluşumuna sebep olur. (24,46,50,51,65). Serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonun spinal kord travmasına karıştığıının önemli biyokimyasal belirtileri vardır. Hasarlı spinal kordlarda kolesterol gibi askorbik asit

ve vitamin E seviyeleri düşer. Serbest radikal reaksiyon ürünleri okside kolesterol, siklik GMP ve malonildialdehid'i arttırır. Sodyum/Potasyum ATPase gibi bazı mambrana bağlı, fosfolipide bağımlı enzimler de inhibe olur (24,56,90). Lipid peroksidasyonu ile araşidonik asit ve onun eikosanoid metabolitlerinin (prostglandinler, tromboksanlar ve lökotrienler) oluşumu spinal kord kan akımını daha da azaltır. Eikosanoidlerin etkileri karmaşıktır. Tromboksanlar A2 ve B2, travma sonrası ortamda birikirler vazokonstriksiyon ve trombosit agregasyonuna aracılık ederler ve prostasiklinin (PGI2) oluşumu, travmatize dokuda böyle etkilenmez ve hatta PGI2 sentezi serbest radikallerce inhibe edilmiş olabilir. PGI2, TxA2'nin tersi etki eder. Kafa travması, serebral iskemi ve spinal kord travmasında araşidonik asit metabolizmasının aktivasyonu mikrodamarların duvar bütünlüğünü de etkiler ve vazojenik ödem oluşumuna iştirak eder. Değişik eikosanoidlerin nispi seviyesi zaman içerisinde değişkenlik gösterir; tromboksan-prostasiklin dengesi travmadan 18 saat sonra prostasiklin lehine döner. Spinal kord travmasında eikosanoid aktivitesini azaltan ilaçlar tedavide kullanılırken bu değişiklikler göz önüne alınmalıdır. Diğer eikosanoid ailesi olan lökotrienler potent düz kas kontraktörleridir ve vazokonstriksiyona yol açarlar. Aynı zamanda hücre membran permeabilitesini de değiştirirler. Araşidonik asit metabolitlerinin ödem formasyonu, inflamasyon, oligodendrogliaların nekrozu ve demiyelinizasyon üzerinde direkt etkileri vardır. Kortikosteroidlerin araşidonik asit metabolizmasını inhibe edici etkisi, santral sinir sistemi travmalarında kullanılmasındaki en önemli sebeptir (23,45,63,85).

1.2.9.RESEPTÖR ARACILIĞI İLE SEKONDER HASAR

Spinal kordda yüksek düzeyde endorfinler, enkefalinler ve dinorfinler vardır (122). Başlangıçta, bir opiyad reseptör antagonisti olan nalokson'un endotoksik, hemorajik ve spinal şoktan sonra oluşan hipotansiyonu etkin bir şekilde azalttığını gösteren çalışmalarla bu nörotransmitterlere ilgi artmıştır. Kısa süre sonra birbirinden bağımsız iki hayvan çalışmasında, çok yüksek dozlarda verildiğinde naloksonun nörolojik tabloyu ve kan akımını düzelttiği bildirilmiştir (56,125).Faden, Jacobs ve Holaday, yüksek doz nalokson gerektiğini çünkü kappa veya delta

reseptörler gibi non-mu-reseptörlerin sekonder hasara aracılık ettiğini öne sürmüşlerdir. Kappa reseptörlerin endojen ligandi olan dinorfinA, travmatize spinal kordda yükseldiği için çalışmalar bu reseptörler üzerine yoğunlaşmıştır. Kademeli spinal kord travmalarında, dinorfin A progressif artarken, enkefalin düzeyi değişmemektedir. Sıçanlarda, Kappa reseptör agonisti, özellikle dinorfin A'nın intratekal verilmesi ile parapleji oluşturulmuş ve kappa-reseptör antagonistleri bu paraplejiyi engellemiştir. Opioidler aracılığı ile doku hasarı ve spinal kord fonksiyonlarını etkileme mekanizmaları tartışmalıdır, çünkü daha sonraki çalışmalar, opioid reseptörler için stereospesifik olmayan dinorfinin dextro formlarının da paralizasyonu oluşturabildiğini ortaya koymaktadır. Opiadların spinal kord kan akımı üzerinde sekonder etkileri yolu ile mi veya nöronal fonksiyon üzerindeki direkt etkileri ile mi hareket ettikleri bilinmemektedir. Hasarlı spinal kordda faydalı etkisi olabilmesi için gereken nalokson dozu, santral sinir sistemindeki mu-reseptörleri bloke edebilecek dozun 1000 kat veya daha fazlasıdır. Bu görülmemiş yüksek dozlarda, bu drogların membranlar üzerinde halen yeterince anlaşamamış yan etkileri olabilir (54,56). Faden ve arkadaşları sıçanlarda oluşturdukları spinal kord travması modelinde, santral sinir sistemindeki N-methyl-D-aspartat (NMDA) reseptörünün selektif kompetitif blokörü olan MK 801'in doku hasarının histolojik ve nörolojik bulgularını anlamlı şekilde azalttığını göstermişlerdir. NMDA reseptörleri, glutamat, kainik asit ve diğer eksitatör amino asitlerle aktive olur. Doku kültürü çalışmalarında, eksitatör amino asitlerin nöronları öldürdüğü ve bunların letal etkilerinin MK801 gibi droglarla bloke edilebildiği saptanmıştır (108). NMDA reseptör aktivasyonu ile doku magnezyum seviyesindeki zararlı değişiklikler arasında bağlantı olduğu öne sürülmüştür. Reseptör aracılığıyla oluşan sekonder hasarla ilgili tüm hipotezlerin ortak problemi, aksonların üzerinde opioid, NMDA veya katekolamin reseptörlerinin olmayışdır. Bu ajanlar, indirekt mekanizmalarla etkilenmedikçe aksonlar üzerindeki etkileri minimal olacaktır. Bundan da öteye, spinal kord travmasının sonucu, genellikle uzun spinal traktus fonksiyonlarını yansıtan ekstremiteler hareketleri ile veya nörofizyolojik testlerle değerlendirildiği için, bunların, gri maddedeki nöronlar üzerinde ne gibi etkilerinin olduğu belli değildir. Bütün bu reseptör blokerlerinin çalışmalarındaki ortak mekanizmaları, spinal

kord kan akımının artışı yoluyla. Ek olarak, lipid peroksidasyonun inhibisyonu gibi şüphenilmeyen yan etkileri yoluyla hareket ediyor olabilirler. Faydalı bir etki elde edebilmek için, bu drogların çoğunu nisbeten yüksek dozlarda kullanmak gerektiği bildirilmiştir.

1.2.10.DİĞER NON-RESEPTÖR MEKANİZMALARLA SEKONDER HASAR

Bazı çalışmalar progressif membran destrüksiyonunda, asit glikozidazlar gibi lizozomal enzimlerin salgılanmasının rolü olduğunu ortaya koymuştur. Bu enzimlerin birikimi geç devrede olur, bu yüzden bir sekonder fenomen olabilir. Travmatize spinal kordlarda nötral proteinaz, katepsin-B-benzer ve katepsin-D gibi non-lizozomal proteolitik enzimlerin aktivitesi artar. Hasar bölgesinde aksonlar, glia, miyelin ve daha sonra ortama gelen inflamatuvar hücrelerin bu enzimatik aktivitelere katılımı belirgin değildir. Nörofilament ve miyelin protein yıkılımının bu enzimlerin serbestleşmesi sonucu olduğu öne sürülmektedir (10,56). Son zamanlarda, travmatize kordun korunmasında "heat shock response"ın potansiyel rolü dikkatleri çekmektedir. Bu yanıt, subletal selüler travmaların bir çok formunda hayvanlarda her zaman oluşmaktadır. Başlangıçta, termal yaralanmalarda adaptif yanıt olarak tarif edilen ısı şoku veya stres proteinlerinin sentezi diğer tipte metabolik streslerde de görülmektedir. Isı şoku proteinlerinin sentezinin uyarıcısı tam olarak anlaşılammıştır. Gower ve arkadaşlarının sıçanlarda spinal kord travmasını takiben spinal kordda 70 kD proteinin sentez, birikim ve yayılımını göstermeleri, bu yanıtın post-travmatik spinal kord iyileşmesini arttıracığı ihtimalini yükseltmiştir (56).

1.3.TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

Eksperimental spinal kord travmalarında denenen değişik tedavi yaklaşımları 3 ayrı kategoriye ayrılabilir: 1- Farmakolojik 2- Non - farmakolojik 3- Rejeneratif

1.3.1.FARMAKOLOJİK TEDAVİLER

Laboratuvarda ümit veren tedavilerin çoğu klinikte kullanılmaya başlanmışsa da hiçbirinin klinikte spinal kord travmasına etkili olduğu ispatlanmamıştır. Bu konudaki çabaların ilerlemesini, eksperimental modellerin çeşitliliği,

tedavilerin değerlendirilmesinin yetersizliği, tedavi sonuçlarını ölçen yöntemlerin yetersiz standardizasyonu engellemektedir. İnsan spinal kord travmasının tabiatındaki farklılık ve klinik denemelerin geliştirilmesindeki güçlükler durumu zorlaştırmaktadır. Kortikosteroidler : Spinal kord travmasının tedavisinde en yaygın kabul gören ilaçlardır. Hayvan modellerinde steroidlerin faydalı etkilerini bildiren çok sayıda çalışma vardır. Bunlar, nörolojik fonksiyonlarda, fizyolojik ve patolojik parametrelerde düzelmeden bahsetmektedirler. Buna rağmen bazı çalışmalarda böyle düzelmeler gösterilememiştir. Daha önemlisi, sentetik bir kortikosteroid olan ve deneysel çalışmalarda kullanılan metilprednizolonun 1 gramlık dozunun bazı klinik çalışmalarda kesin faydası saptanmamıştır. Daha detaylı çalışmalar, daha yüksek dozda metilprednizolonun faydalı olabileceğini ortaya koymuştur (17,33,39,57,126). Steroidlerin kullanılmasının teorik dayanağı olan birçok fizyolojik ve biyokimyasal etkileri vardır. Bunlar, ödemin baskılanması, spinal kord kan akımının düzelmesi, enflamatuvar yanıtın inhibisyonu, lipid peroksidasyonunun azalması, Na-K ATPase aktivitesinin artması ve ekstraselüler kalsiyumun düzelmesidir. Son zamanlarda, glukokortikoid ve mineralekortikoid aktivitesi olmayan bir 21-aminosteroid, U- 74006F'in etkinliğini gösteren birçok çalışma bildirilmiştir. Bu madde muhtemelen lipid peroksidasyonunu spesifik olarak inhibe ederek etkili olmaktadır (6). Serbest radikal temizleyicileri ve anti-oksidanlar spinal kord travmasından sonra serbest radikal oluşumu, farmakolojik tedavinin hem direkt hem de indirekt hedefidir. İndirekt olarak, mean arteryel kan basıncı ve spinal kord kan akımını düzelten ajanların kullanımının iskemiye bağlı serbest radikal oluşumunu azaltacağı düşünülmektedir. Direkt olarak, hemorajik, post-travmatik spinal korddaki ekstrasvaze kanın, iskemi yokken dahi, serbest radikal yapımını katalizleyeceği düşünülerek, serbest radikalleri temizleyici böylece lipid peroksidasyonunu ve membran destabilizasyonunu önleyici ajanlar kullanılmaktadır. Megadoz steroidlere ilaveten, vitamin C ve E (alfa tokoferol), selenyum, koenzim Q, yüksek doz opiat antagonistleri bu ajanlar arasında sayılabilir. Alfa tokoferol ve selenyumun spinal kord akımındaki düşüşü engellediğini bulan Hall ve Wolf, bunların nöronal membran stabilitesi üzerindeki direkt etkilerine ilaveten mikrovasküler lipid peroksidasyonunu engellediklerini ne srmuşlerdir (6,45,56).

Opiat antagonistleri : Bir opiat antagonisti olan nalokson, mean atreryel kan basıncında düşüşü önleyerek bölgesel spinal kord kan akımını düzelttiği düşünülerek kullanılmaktadır. Bir çok otöre göre bu etki, opiatların santral aksiyonuna ve otonomik tonus üzerindeki antagonist etkilerine bağlıdır. Spinal kord travmasındaki sekonder hasar mekanizmalarında özellikle kappa reseptör ve ligandı olan dyn A önemlidir. Kappa reseptörleri bloke etmek için yüksek doz nalokson gerekmektedir. Selektif bir kappa reseptör blokörü olan norbinaltorfimin'in etkisini araştıran Faden ve arkadaşları anlamlı nörolojik düzelmeler bildirmişlerdir. Opiat reseptör blokörleri, kappa reseptörleri bloke ederek çalışıyorsa bile, bu reseptörlerin sekonder hasarla ilişkisi halen belirgin değildir (54,125,126). Opiat antagonistlerinin sekonder hasarı azaltıcı mekanizmaları bilinmemektedir. Yüksek doz nalokson spinal kord travmasından sonra oluşan post-travmatik hipotansiyonu bloke eder, fakat bu etkiler spinal kord kan akımındaki düzelmeyi açıklamaya yetmemektedir. Naloksonun spinal mikrosirkülasyon üzerine direkt etkisi olduğu öne sürülmüştür. Ek olarak, naloksonun yüksek dozlarda anti- oksidan özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Hasarlı spinal kordlarda naloksonun ekstraselüler kalsiyum iyonik aktivitesini düzelttiği ileri sürülmektedir (54,56). TRH, endojen opioidlerin antinosiseptif aktivitesini azaltmadan bazı etkilerini antagonize eder. Bu, eksperimental spinal kord travmalarında kullanılmasının temelini oluşturmaktadır. Faden ve arkadaşları TRH'nın travmadan 24 saat sonra uygulandığında bile en az nalokson kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir. Salman ve arkadaşları TRH tedavisinin endojen TRH-serotonin dengesini travma öncesi hale getirdiğini ve vazojenik ödem azalttığını öne sürmüşlerdir (3,35,36). Araşidonik asit metabolizması inhibitörleri: Araşidonik asit metabolitlerinin sekonder spinal kord hasarında çeşitli etkileri vardır. Bunların oluşumunu inhibe eden ajanlar, metabolik yolun değişik basamaklarında etkilidirler. Serbest radikal temizleyici olarak bildirilen vitamin E ve selenyum bu yüzden lipid peroksidasyon inhibitörleridir. Diğer droglar, eikosanoid dengesini, TxA2 gibi vazokonstrüktif ve trombojenik metabolitlerin aleyhine, vazodilatatör prostasiklin veya PGI2 lehine değiştirirler. Siklooksijenaz inhibitörleri ibuprofen ve meklofenamat; tromboksan A2 sentetaz inhibitörü furegrelate sodyum ve PGI2 analogu ciprostone kalsiyum bu

tür droglardır. Bu drogların klinikte spinal kord travmalarında kullanılmaları tereddütlüdür çünkü denendikleri hayvan modellerinde çoğunlukla spinal kord travmasından önce uygulanmışlardır. Bununla beraber, bu drogların post-travmatik kan akımını arttırdığının saptanması, eikosanoid dengesinin sekonder hasar ve post-travmatik iskemi patofizyolojisinde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Kalsiyum kanal blokerleri : Spinal kord travması modellerinde, nifedipine, nimodipine, verapamil, diltiazem ve nifedipine gibi kalsiyum kanal blokerleri kullanılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda bu ajanların spinal kord kan akımı, elektrofizyolojik değişiklikler veya histolojik ve nörolojik sonuç üzerine anlamlı etkisi olmadığı gösterilmiştir. Guha, Tator ve Piper kalsiyum kanal blokerlerinin sistemik arteryel basınçta düşüşe sebep olduğundan hareketle nimodipin'in epinefrin (adrenalin) gibi bir hipertansif ajanla verilmesini önermişlerdir (15,30,41,42,44). Diğer farmakolojik tedaviler : Deneysel spinal kord travmalarında kullanılan diğer farmakolojik ajanların çoğunun etkileri ya minimal ya da yoktur. Hayvan modellerinde faydalı olduğu bildirilen bazı ajanların klinik uygulamada etkinlikleri ispat edilememiştir (19,37). Spinal kord travmalarında düşük moleküler ağırlıklı dekstran, mannitol, gliserol ve üre ödem formasyonunu azaltamamışlardır. Bu hipertonsik ajanların başarısızlığı, ödemin, sekonder hasar mekanizmaları kaskadının sadece bir komponenti olduğuna bağlanmakta ve kombine tedavi önerilmektedir. Bununla beraber, bu drogların ödem oluşumunu azalttığı tam olarak gösterilememiştir. Dimetilsulfoksit'in, diüretik ajan, antiinflamatuvar ajan, vazodilatatör ve serbest radikal temizleyici olarak hareket ettiği için spinal kord travmalarında kullanılması önerilmektedir. Kajihara'nın kanin modellerde histolojik görünümde düzelme bildirmesine rağmen diğer hayvan modellerinde aynı sonuçlar elde edilememiştir (126). Aminofilin ve isoproterenol spinal kord kan akımını düzeltmek amacı ile kombine olarak kullanılmaktadır. Serotonin antagonistleri, fenitoin ve tiroid hormonları laboratuvarlarda çalışılmaktadır. Bu drogların hiç birisinin spinal kord travmalarında etkili oldukları kesin olarak bildirilmemiştir. Lidokain, magnezyum ve thiopental nöronal aktiviteyi bloke ederek doku metabolizmasını azaltacağı umudu ile kullanılmaktadır (90). Kobrine ve arkadaşları sistemik lidokain ile tedavi ettikleri hayvanlarda uyandırılmış potansiyellerin kaybının engellediğini ve

tedavi olmayan grupla kıyaslandığında histopatolojik görünümde düzelme saptadıklarını bildirmişlerdir. Haghghi ve arkadaşları ise ağırlık düşürme modelinde sistemik veya subaraknoid lidokain uyguladıkları hayvanlarla tedavi etmedikleri arasında fark bulamamışlardır (56). Faden ve arkadaşları NMDA reseptörü selektif antagonisti olan MK801'in sıçanların spinal kord travmasında histolojik ve nörolojik sonucu düzelttiğini saptamışlardır. Travmadan 15 dakika sonra 1 mg/kg IV verilen MK801'in uzun dönemde anlamlı şekilde nörolojik iyileşmeyi arttırdığı ve histolojik görünümü düzelttiğini ortaya koymuşlardır. İwasaki ve arkadaşları, post-travmatik, kalsiyumun aktive ettiği, nörofilament proteinlerin yıkımını süprese etmek amacı ile nötral proteaz inhibitörleri olan leupeptin ve E-64c'yi sıçanlarda travmayı takiben 3 gün boyunca intraperitoneal uygulamışlardır. Bu droglar, motor fonksiyonlarda düzelme ve aksonal dejenerasyonda azalma sağlamışlardır (56).

1.3.2. NON FARMAKOLOJİK TEDAVİLER

1- Kord şişmesini düzeltmeye ve doku basıncını düşürmeye yönelik cerrahi girişimler; 2- Spinal kordu soğutarak hücrel metabolizmayı azaltmaya yönelik çalışmalar; 3- Spinal kordun oksijenlenmesini arttırmaya yönelik çabalar. İlk uygulanan cerrahi girişimlerden birisi santral hemorajiyi temizleme amacı ile yapılan orta hat miyelotomisidir (56,66). Bu yöntem, nispeten elastik olmayan pial sınırları içindeki kordun ekspansiyonu sonucu artan doku basıncını azaltmanın yanında, serbest radikal oluşumunu katalizleyen demir ve kalsiyum iyonlarının fazlasını da ortamdaki temizler. Klinik çalışmalar bu yöntemle fonksiyonlarda düzelme fakat yüksek mortalite oranı ortaya koymuştur. Basıncın azaltılması için sadece orta hat dura insizyonu yapılmış fakat sonuçlar başarılı olmamıştır. Dekompresyon amacı ile laminektomi en yaygın kullanılan yöntem olmuş fakat bunun da faydası gösterilememiştir. Bununla beraber, bu problemler çift kör randomize klinik serilerle yeterince araştırılmamıştır (12,28). Travmatize veya iskemik spinal kordun soğuk izotonik solüsyonla perfüzyonu hayvanlarda ve insanlarda denenmiş ve bazı umutlar doğurmuştur. Bu yöntemin potansiyel faydalı etkileri, spinal kordun metabolizmasını azaltması, birikmiş toksinlerin uzaklaştırılması ve serebro-spinal sıvı sirkülasyonunu arttırarak hasar görmüş alanın daha iyi

beslenmesini sağlamasıdır. Kordun non-perfüziv, epidural yerleştirilmiş silastik soğutma ünitesi ile soğutulması yöntemi de denenmiştir. Bu alet şişmiş kordun etrafında bile konveksiyon yaratarak serebro-spinal sıvı sirkülasyonunu anlamlı şekilde arttırmaktadır. Hayvanlarda ve kontrollü insan serilerinde daha ileri çalışmalarla soğutmanın optimal zamanı, süresi ve derecesi belirlenmelidir. İnsan serilerinde steroidlerin kullanımı sonuçların yorumunu zorlaştırmaktadır (18,101). Osterholm ve arkadaşları oda ısısında salin ile hasarlı spinal kordun perfüzyonunun hasarlı bölgede ödem oluşumunu ve kord nekrozunu azaltabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarında daha önemlisi oksijene edilmiş flurokarbon solüsyonu kullanıldığında bu faydalı etkinin arttığını ve post-travmatik ATP seviyesinin ve ön boynuz hücrelerinin yaşama oranının yükseldiğini öne sürmüşlerdir. Yüksek konsantrasyonda oksijen taşımalarının yanında, bu solüsyon, glikoz ve esansiyel amino asitler içermekte ve biraz da hiperozmolardır. İskemik, post-travmatik spinal korda daha fazla oksijen sağlamanın diğer bir yolu hiperbarik oksijen kullanmaktır (69). Balentine bir çalışmasında hiperbarik oksijenin santral nekrozu arttırdığını göstermiştir. İlk insan çalışmalarının sonuçları ümit vermekte ise de o kadar dramatik değildir. Ford ve Malm, eksperimental spinal kord travmasından sonra hiperkarbi ve hipokarbinin nörolojik ve histolojik sonuç üzerine etkilerini araştırmışlar ve hiçbir şey bulmamışlardır. Wallace ve Tator tam kan, albümin, eritrosit süspansiyonu veya düşük moleküler ağırlıklı dekstran ile kan hacmini arttırmışlar. Bu manipülasyonlarla kardiyak verimin artmasına rağmen spinal kord kan akımı üzerine etkileri değişmektedir. Bu çalışmalarda hayvanlar akut devrede sakrifiye edildiği için uzun dönemdeki sonuçları yoktur (29). Tator'un grubu akut spinal kord travmasında iyileşmeyi arttırmak amacı ile kordun uzun süreli direkt veya alternan akımla stimülasyonunu denemişler ve daha ağır travmalarda direkt akımın faydalı, alternan akımın faydasız olduğu sonucuna varmışlardır (119).

1.4.SERBEST RADİKALLER VE HÜCRESEL KORUNMA MEKANİZMALARI

1970'lere kadar, serbest radikaller, radyasyon kimyagerleri, polimer araştırmacıları ve gıda teknolojistlerinin ilgi alanında idi. 1970'lerde insan vücudunun devamlı serbest radikal oluşturduğu ve bunları bir dizi anti-oksidan

savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırdığı ortaya konuldu. Süperoksit dismutaz'ın (SOD) McCord ve Fridovich tarafından keşfedilmesi ile, oksijen serbest radikallerin araştırılmasında önemli aşamalar kaydedilmiştir. Son on yılda birçok patolojik süreçte, oksijen serbest radikallerinin zararlı etkileri ile ilgili bulgular belirgin şekilde artmıştır (47,52,65,83,111).

1.4.1.OKSİJEN SERBEST RADİKALLERİN TEMEL MEKANİZMALARI

Bir serbest radikal, dış yörüngesinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan atom veya moleküldür. Bütün aerobik hücrelerin metabolizması esnasında oksijen serbest radikalleri oluşur (51,52,68,110). Normal şartlarda, biyolojik sistemlerdeki moleküler oksijenin çoğu, mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimi gibi etkin intraselüler sistemlerle tetravalen redüksiyona uğrar. Bir molekül oksijenin tamamen indirgenebilmesi için 4 elektron gereklidir. Bu indirgenme eğer tek değerli reaksiyon adımları yolu ile ilerlerse süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi ara ürünler meydana gelir.

Oksijen serbest radikallerinin kaynakları : Aerobik hücrelerde oksijen serbest radikallerin oluşumuna neden olan çeşitli yollar vardır. Bu kaynaklardan hangisinin daha önemli olduğu halen tartışmalıdır. a) Mitokondri: Oksijen serbest radikallerinin oluşumunda intraselüler bir kaynaktır, selüler oksidasyonun ana yeridir ve moleküler oksijenin suya tetravalen indirgenmesini etkin bir şekilde arttırır. Oksijenin suya mitokondriyal sitokrom C oksidazla indirgenmesinde 4 elektron transferi gerçekleşir ve bu arada serbest radikal ara ürünleri oluşmaz. Bununla beraber, normal mitokondriyal respirasyonda elektron akımının yaklaşık %1'i süperoksit ürününe dönüşür. Bu süperoksit kaçağı süperoksit dismutaz ve glutatyon ile etkin bir şekilde zararsız hale getirilir. b) Katekolaminler: Katekolaminlerin oto-oksidasyonu, özellikle in-vitro şartlarda, oksijen serbest radikallerin önemli bir kaynağını oluşturur. İskemi, iskemik zondaki sempatik sinir uçlarından norepinefrin ve dopamin-Beta- hidroksilaz'ın bölgesel serbestlemesi ile karakterizedir. Bu katekolamin, monoamin oksidaz enzimi ile yıkılır, bu esnada aşırı elektron üretimi gerçekleşir. Moleküler oksijen elektron alıcı gibi davranabilir ve hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri

oluşur. c) Ksantin oksidaz: Oksijen serbest radikallerinin potansiyel bir kaynağıdır. Hipoksantin ve ksantinün ürik aside ksantinoksidazla oksidasyonu, moleküler oksijenin süperoksite redüksiyonunu artırır. Bu yöntem deneysel serbest radikal oluşturmakta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu enzim, kapiller endotel hücrelerde, araştırılan diğer hücrelerden 1000-10000 kat fazla bulunur. Betz, beyin kapillerlerinin diğer dokuların kapiller endotel hücreleri gibi ksantin oksidaz enzimini içerdiğini ve beyin kapillerlerinin serbest radikallerin aracılık ettiği hasara hassas olduğunu bildirmiştir. d) Nötrofiller: Serbest oksijen radikallerinin diğer bir potansiyel kaynağıdır. Nötrofilin yüzeyinde, süperoksit radikal oluşumundan sorumlu indirgenmiş nikotinamid-adenin- dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz bulunur. Nötrofilde hidrojen peroksit yoluyla ClO oluşturarak miyeloperoksidaz da bulunur. İskemi/reperfüzyonun enflamatuvar komponentinin, enfarktın genişlemesinde önemli rolü olduğu öne sürülmektedir. Nötrofiller, iskemik periyodun sonunda endotelyuma bağlı olarak bulunmuşlardır. Bu, oksijen serbest radikallerinin ortaya çıkması için bir mikro ortam oluşturur ve yoğun lokal hasara neden olur. e) Araşidonik asit kaskadı: Araşidonik asit, siklooksijenaz veya lipooksijenazla metabolize olabilir ve prostaglandinler, prostasiklin, tromboksan ve lökotrienler gibi bazı vazoaktif maddeler oluşturur. Prostaglandinler, tromboksan ve prostasiklin, siklooksijenaz enziminin ürünleridir. Siklooksijenaz, doymamış yağ asidine iki molekül oksijen eklenmesini katalizler. Bu, prostaglandin G'yi (PGG) oluşturur, PGG hızla prostaglandin H'ya (PGH) perokside olur, bu esnada süperoksit radikalleri ortaya çıkar. PGG oluşumu sırasında serbestleyen süperoksit radikali ferritinden demiri ayırır ve lipid peroksidasyonuna yol açar. Lökotrienler, lipooksijenaz ürünleridir. Lipooksijenaz yoluyla hidroksil radikaller oluşabilir (51,53,65,68,110).

Serbest radikal harabiyeti riski altındaki hücresel komponentler: 1- Proteinler: Membran bileşenlerinden monoamin oksidaz ve membran transport proteinlerine radikallerin hasar yapıcı etkileri çok önemlidir. Proteinler üzerine radikallerin etkileri, radikallerin oluşum yerine, hedef moleküllere ve antioksidanlara bağımlıdır. Lipid peroksidasyonuna yol açan radikaller, membranların veya lipoproteinlerin hidrofobik kısımlarının proteinleri üzerine

etkili olabilirler. Hidrofilik radikaller, çözüner haldeki veya membrana bağlı proteinlerin üzerine daha etkilidirler. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metyonin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler radikallerden kolayca etkilenirler (52,65,68,110). Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz gibi aktiviteleri yukarıdaki aminoasitlere bağımlı olan enzimler radikaller tarafından inhibe edilirler. Proteinlerin, radikallerden ne derecede etkileneceği onların amino asit içeriklerine bağımlıdır. Proteinin hücreSEL lokalizasyonuna ve radikalın sitotoksik gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir. 2- Nükleik asitler ve DNA: Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar. 3- Membran lipidleri: Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Lipid peroksidasyonu sırasında çok doymamış yağ asitleri hidrojenini kaybeder ve moleküler oksijenle reaksiyona girer. Bazı metallerin varlığında peroksidasyonun şiddeti arttırılabilir. Plazma membran lipidlerinin peroksidasyonu sonucu hücre permeabilitesinde değişiklikler meydana gelir. 4- Sitolik moleküller: Sitolik proteinleri, sitoplazmik serbest radikaller etkisi ile değişime uğrarlar. Hemoproteinler, örneğin oksihemoglobin, süperoksit radikallerinin ya da hidrojen peroksidin demirle reaksiyonu sonucu methemoglobine dönüşür. Bir diğer önemli sitoplazmik hemoprotein olan katalaz, süperoksit radikali tarafından inhibe edilir. Süperoksitin dismutasyon ürünü olan hidrojen peroksid CuZn-süperoksit dismutaz enziminin +2 değerli Cu'ını +1 değerliye indirgeyerek enzimi inhibe edebilir.

1.4.2.SERBEST RADİKALLERİN HARABİYETİNE KARŞI HÜCRESEL SAVUNMA

Aerob hücrelerin tümünün, serbest radikallerin oluşumunu en az düzeye indirecek veya serbest radikal oluşur oluşmaz bunları hızla parçalayacak koruyucu mekanizmalar geliştirdiklerini biliyoruz (52,65,68,110,111). Klasik enzimolojiye göre, biyolojik oksidasyonlar esnasında hücredeki oksijenin önemli bir kısmı sitokrom taşıyıcıları ve diğer redoks sistemleri tarafından iki elektron transferi ile indirgenir. Fakat son yıllarda alternatif bir yol tarif edilmiştir. Buna göre, hücredeki moleküler oksijenin bir kısmı tek değerlikli reaksiyon yolları ile oldukça reaktif

serbest radikaller meydana getirerek indirgenebilir. Bir molekül oksijenin tamamen indirgenbilmesi için dört elektron gereklidir. Bu indirgenme eğer, tek değerlikli reaksiyon adımları yolu ile ilerlerse süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi ara ürünler meydana gelecektir. Hücreyi radikallerin zararlı etkilerinden koruyan antioksidan enzim sistemi CuZnSOD, MnSOD, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve glikoz-6-fosfat dehidrogenazdan (G6PD) ibarettir. Superoksit Dismutaz: İlk kez 1969'da McCord ve Fridovich tarafından bulunan bu enzim iki molekül süperoksit anyonunu dismutate ederek hidrojen peroksit ve oksijen oluşturur.

SOD enziminin aerob hücrelerin tümünde bulunduğu bilinmektedir. Enzimin fizyolojik fonksiyonu aerob metabolizma reaksiyonları yoluyla süperoksit anyonu radikallerinin hasar yapıcı potansiyel etkilerine karşı hücreyi korumaktır. Fridovich ve arkadaşları, SOD enzimlerinin farklı metaller içeren metallo proteinler olduklarını göstermişlerdir. İnsan hücrelerinin mitokondri ve sitozelleri süperoksit dismutaz enzimi içerirler.

Katalaz: Bilinen en eski enzimlerdendir. 1901 yılında Loew tarafından bu ad verilmiştir. Katalazlar hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalarlar. Aerobik hücrelerin çoğunda katalaz enzimi bulunur. Hücre alt fraksiyonları düzeyinde, katalaz, peroksidomlarda %80 oranında, sitozolde ise yaklaşık %20 oranında bulunur. Molekül ağırlığı 240000 olup dört alt birimi vardır. Herbir alt birim aktif merkezine bağlı bir hem grubu içerir. Molekülün alt birimlerine ayrılması enzim aktivitesinin kaybına neden olur. Kono ve Fridovich süperoksit radikallerinin katalazı inhibe ettiğini bildirmişlerdir. H₂O₂'nin katalaz'ı inhibe ettiği uzun zamandan beri bilinmektedir. NADPH, katalazın H₂O₂ tarafından inaktivasyonunu engeller. İndirgenmiş glutatyon (GSH) katalaz'ı doza bağımlı inhibe eder.

Glutatyon peroksidaz: 1957 yılında Mills tarafından bulunmuştur. GSH'nın GSSG'ye oksidasyonunu H₂O₂'yi harcayarak katalizler. Sitozolde %70 oranında, mitokondride ise %30 oranında bulunur. Enzimin bir çok fonksiyonu olup en önemlileri ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu ve karsinogenlerin detoksifikasyonundaki işlevleridir. Aktiviteleri selenyuma bağımlı ve bağımsız olan GPx enzimleri vardır. Süperoksit radikalının

dismutasyonuyla oluşan hidrojen peroksit, süperoksit radikali göre daha az reaktif bir moleküldür. Fakat hücre için hala toksik etkilidir. Çünkü, hidrojen peroksit, süperoksit radikali ile veya +2 değerlikli demir iyonlarıyla reaksiyona girerek ileri derecede reaktif olan serbest hidroksil radikali oluşumuna yol açar. Oluşan hidrojen peroksit için savunma sistemi katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleridir. Hidrofilik ve hidrofobik bölgelerde diğer endojen defans mekanizmaları bulunur. Hidrofilik bölgelerde askorbik asit, sistein, serüloplazmin ve transferrin antioksidan maddelerdir. Hidrofobik bölgelerdeki antioksidan maddeler çeşitli yağ asitleri ve E vitamini dir.

1.4.3.SERBEST RADİKALLER VE SANTRAL SİNİR SİSTEMİ HASARI

Beyin ve spinal kordun travmatik ve iskemik hasarının sonuçları önemli klinik problemlerdir . Serbest radikal reaksiyonlarının, başlangıçtaki doku hasarını arttırdığı sıklıkla öne sürülmektedir. Gerçekten de çok yıllar önce, beyin tampon solüsyona gömülünce oluşan homojenatın çok hızla peroksidasyona uğradığı gösterilmiştir. Travma veya iskeminin selüler entegrasyonu tahrib ederek aslında kısmi homojenizasyona neden olduğu düşünülebilir.Beyin ve spinal kord çeşitli nedenlerden dolayı oksidatif strese eğilimli olabilirler: - membran lipidleri PUFA (polyunsaturated fatty acids) açısından zengindirler; - beyinde antioksidan savunma sistemlerinin aktiviteleri orta derecededir; - beyinin çeşitli alanları, hücre hasarı ile kolayca serbestleşen, intraselüler demir açısından zengindir. Beyin homojenatlarının peroksidasyonu, deferoksamin gibi kelat ajanlarla hemen hemen tamamen inhibe olmaktadır. Deferoksamin demir iyonlarına bağlanarak onların serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırmasını engeller; - serebrospinal sıvı, plazmanın aksine, çok az transferrin içerir, bu yüzden serbestleşmiş demir iyonlarını kolayca bağlayamaz. - sinir sistemi, epinefrin, norepinefrin ve dopamin açısından zengindir, bunların hepsi O₂ ile reaksiyona girerek süperoksit radikali oluştururlar ve demir iyonları bu oksidasyonları hızlandırır.Beyin ve spinal kordun iskemik veya travmatik hasarı serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasına yol açar, bu da hasarı çevre alanlara yayar ve sonuçları kötüleştirir. Çeşitli çalışmalarda, hasardan önce hayvanların alfa tokoferol ile tedavisi ile, bu antioksidanın doku seviyesinin yükseltilmesinin, iskemik veya travmatik beyin ve spinal kord

zedelenmelerinden sonra gelişen sekonder hasarı azalttığı bildirilmiştir. Bununla beraber, sinir sisteminde alfa tokoferol seviyesinin yükseltilmesi haftalar alacağı için travmadan sonra uygulanması faydasızdır. Eğer kan-beyin bariyerini aşabilirlerse belki diğer antioksidanlar kullanılabilir. Demir-kelat ajanlar, demire bağımlı serbest radikal reaksiyonlarını engellemek için kullanılabilirler fakat onların da kan-beyin bariyerini geçmesi gerekir (47,52,65,76,80,105,111).

2.MATERYAL VE METOD

2.1 DENEKLER

Yaptığımız çalışmada, Sprague-Dawley cinsi, dişi, sağlıklı, yaklaşık bir yaşında, 230-310 gr. ağırlığında toplam 16 sıçan kullandık. Hayvanların dördü çeşitli nedenlerle (2'si anestezi komplikasyonuna, 2'si de cerrahi komplikasyona bağlı olarak kaybedildiler) çalışma dışı bırakıldılar.12 hayvan, travma sonrası enzim aktivitelerinin tayinin yapılacağı saate göre (1 saat, 4 saat, 24 saat) üç gruba ayrıldı. Her grupta spinal korddan 6-7 mm'lik 3 ayrı doku parçası (lezyon bölgesinden, lezyonun rostralinden ve kaudalinden) alınarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) aktivitelerinin tayini yapıldı. 1. grup; 30 sn klip uygulandıktan 1 saat sonra doku örneği alındı. 2. grup; 30 sn klip uygulandıktan 4 saat sonra doku örneği alındı. 3. grup; 30 sn klip uygulandıktan 24 saat sonra doku örneği alındı.

2.2.CERRAHİ GİRİŞİM

Genel anestezi amacı ile denek hayvanlarına 30 mg/kg thiopentone sodyum BP (pentothal sodyum-Abbott) intraperitoneal uygulandı. Genel anestezik uygulandıktan yaklaşık 15-20 dakika sonra yeterli anestezi derinliği (1) elde edildikten sonra sıçanlar platformun üzerine yüzükoyun pozisyonda tesbit edildi. Alt servikal-üst dorsal bölgede 2-3 santimetrekarelik alan traş edildi ve dezenfektan solüsyonla temizlendi. C7 prosesus spinozu palpasyonla tespit edilip, orta hatta 1,5 cm.lik cilt-ciltaltı insizyonu yapıldı. Cerrahi mikroskop altında, mikroşirurjikal aletler kullanılarak, paravertebral adaleler iki yana künt disseksiyon ile sıyrılarak, üç seviyede laminalar ortaya koyuldu.

Bir seviyeli (C7)
laminektomi yapıldı.
Ekstradural olarak,
Yaşargil anevrizma
klipi ile (Aesculap FE
752, kapanma
kuvveti 192 gr.
(tolerans 162-198
gr.), uzunluğu 9 mm
açıklığı 6,8
mm., kıvrık klip) 30



RESİM 1: Bir seviye laminektomi yapıldıktan sonra medullaya FE 752 klipin uygulanması.

sn ve 60 sn süreyle uygulandı (Resim 1) (27,98,112). Klip konulduğu anda yaygın tonik spazm (1-2 sn süreli) ortaya çıktı, 20-30 sn sonra flask parpalejinin yerleştiği gözlemlendi. Klip çıkartıldıktan sonra, uygulanan yerde sirküler hemorajik kontüzyon alanı saptandı. Çalışma sırasında medulla spinalisde istenmeyen travma gelişmemesine özellikle dikkat edildi. Durası açılan ve manipülasyon esnasında travmatize edildiği düşünülen hayvanlar çalışma dışı bırakıldı.

2.3.ÖRNEKLERİN ALINMASI

Girişimi takiben 1, 4, 24 saat sonra intrakardiyak yüksek doz pentothal verilerek kurbanların spinal kordları mikroskop altında çıkarıldı (Resim 2). Lezyon bölgesi, lezyonun rostrali ve kaudalinden 6-7 mm.lik üç ayrı doku parçası alınarak, konulacağı deep-freeze (-20 C) gidene kadar kısa süre buz içine yerleştirilmiş kaplarda muhafaza edildiler. Enzim aktivitelerinin çalışılacağı zamana kadar deep-freeze'de (- 20 C) saklandılar.

2.4.ENZİM AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ

Spinal korddan alınan doku örnekleri çalışma gününe kadar -20 C de muhafaza edildi. Dokular tartılarak 0.05 M fosfat tamponu içinde %5 W/V homojenat hazırlandı.



Homojenizasyon

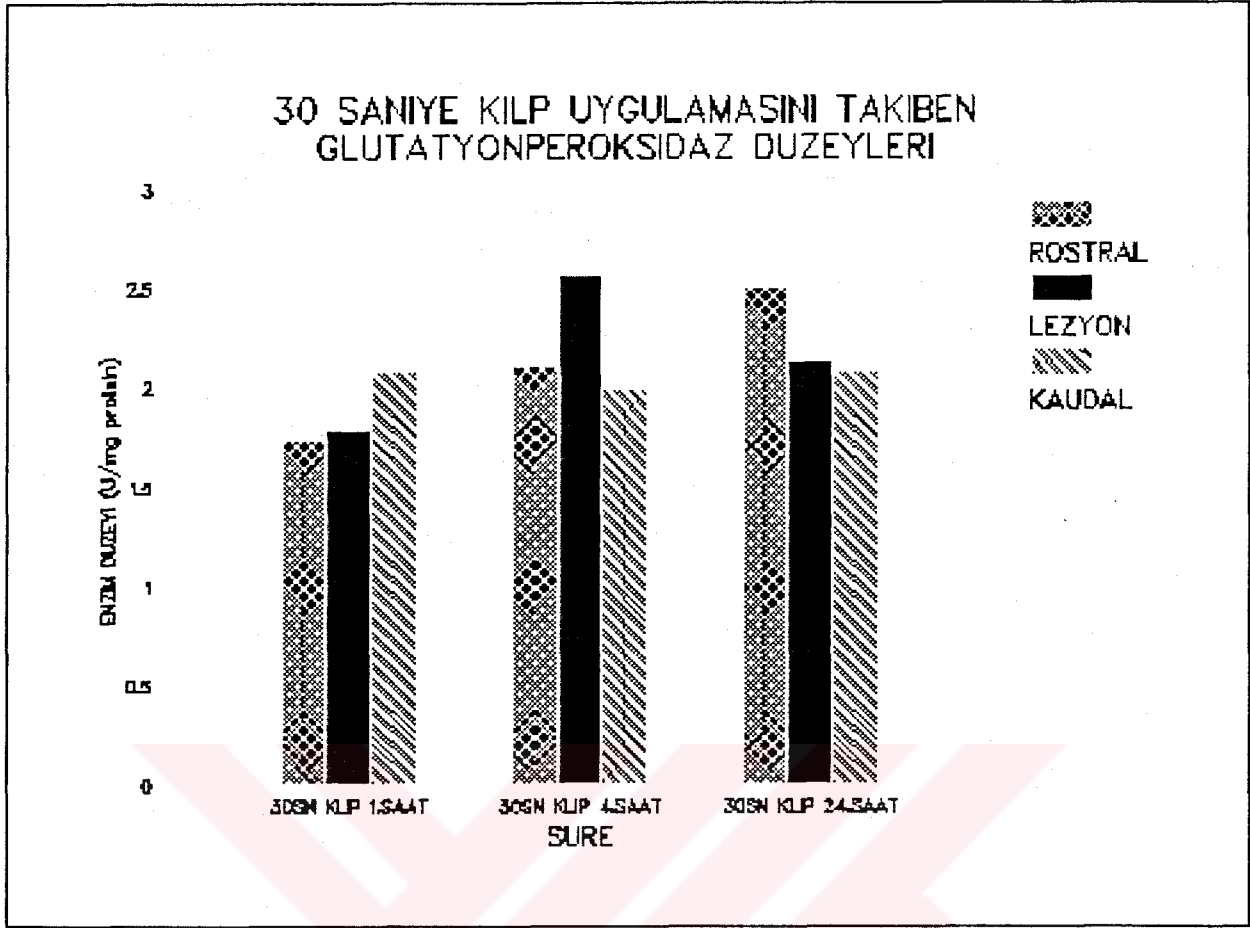
işlemi +4 C de yapıldı. MSE model

RESİM 2: Eksplore edilmiş medulla spinaliste sirküler hemorajik kontüzyon alanı görülmekte (OK).

sonikatör kullanılarak dokular +4 C de 15 saniye ara ile üç kez sonikasyon işlemine tabi tutuldu. Homojenat 15 dk. süre ile 10.000 rpm de santrifüj edilerek üst faz enzim ve protein tayinleri için kullanıldı. SOD aktivitesinin tayini için Nitroblue tetrazolium (NBT) yöntemi (113), Katalaz aktivitesinin tayini için Beers ve Sizer'in yöntemi (11), Glutatyon peroksidaz tayini için Ransel RS504 (Randox) kiti kullanarak Plagia ve Valentin yöntemi (92), protein tayini için Folin-Lowry yöntemi (81) kullanılarak, sonuçlar Ünite enzim/mg protein olarak elde edildi.

3.BULGULAR

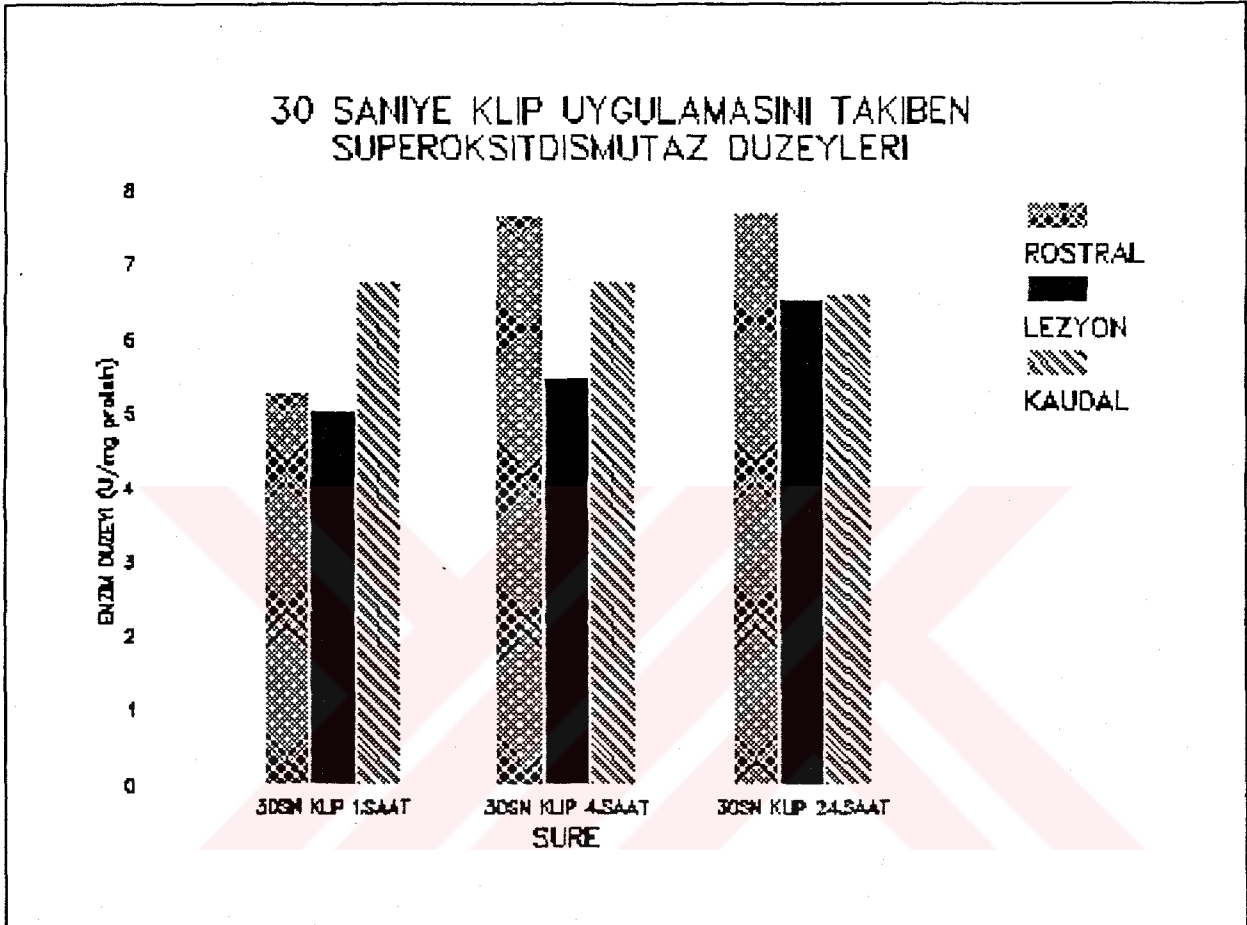
Medulla spinalis rostral, lezyon ve kaudal olmak üzere üç bölüme ayrılarak zaman bazında antioksidan enzim aktiviteleri incelendi. İncelemelerde SPSS PC+ istatistik çözüm paketi kullanıldı. Her segmentteki enzim değerlerinin zaman içinde değişimleri temel alınarak ve olgu sayısı göz önünde tutularak ANOVA (Analysis of Variances) testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.



Glutatyon peroksidaz (GPx): 1.Rostral segment: Rostral segmentte GPx'in zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (1.732 +/- 0.423) Ü/mg protein, 4.saat (2.105 +/- 0.905) Ü/mg protein, 24.saat (2.510 +/- 0.191) Ü/mg protein olarak bulundu. Zaman içindeki bu farklılaşmanın incelenmesinde F=1.751, Sig f(p)=0.227 bulunmuş olup, ortaya çıkan farkın anlamlı boyutta olmadığı saptanmıştır. 2.Lezyon segmenti: Lezyon oluşturulan segmentte GPx'in zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (1.792 +/- 0.328) Ü/mg protein, 4.saat (2.567 +/- 1.080) Ü/mg protein, 24.saat (2.130 +/- 0.419) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon bölgesinde, zaman içinde GPx aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=1.208, Sig f(p)=0.332). 3. Kaudal segment: Kaudal segmentte GPx'in zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (2.077 +/- 0.546) Ü/mg protein, 4.saat (1.997 +/- 0.714) Ü/mg protein, 24.saat (2.087 +/- 0.173) Ü/mg

protein olarak bulundu.Kaudal segmentte, zaman içinde GPx aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=0.034, Sig f(p)=0.965).

Superoksid dismutaz (SOD): 1.Rostral segment: Rostral segmentte SOD'ın zaman içindeki değişimi incelendiğinde

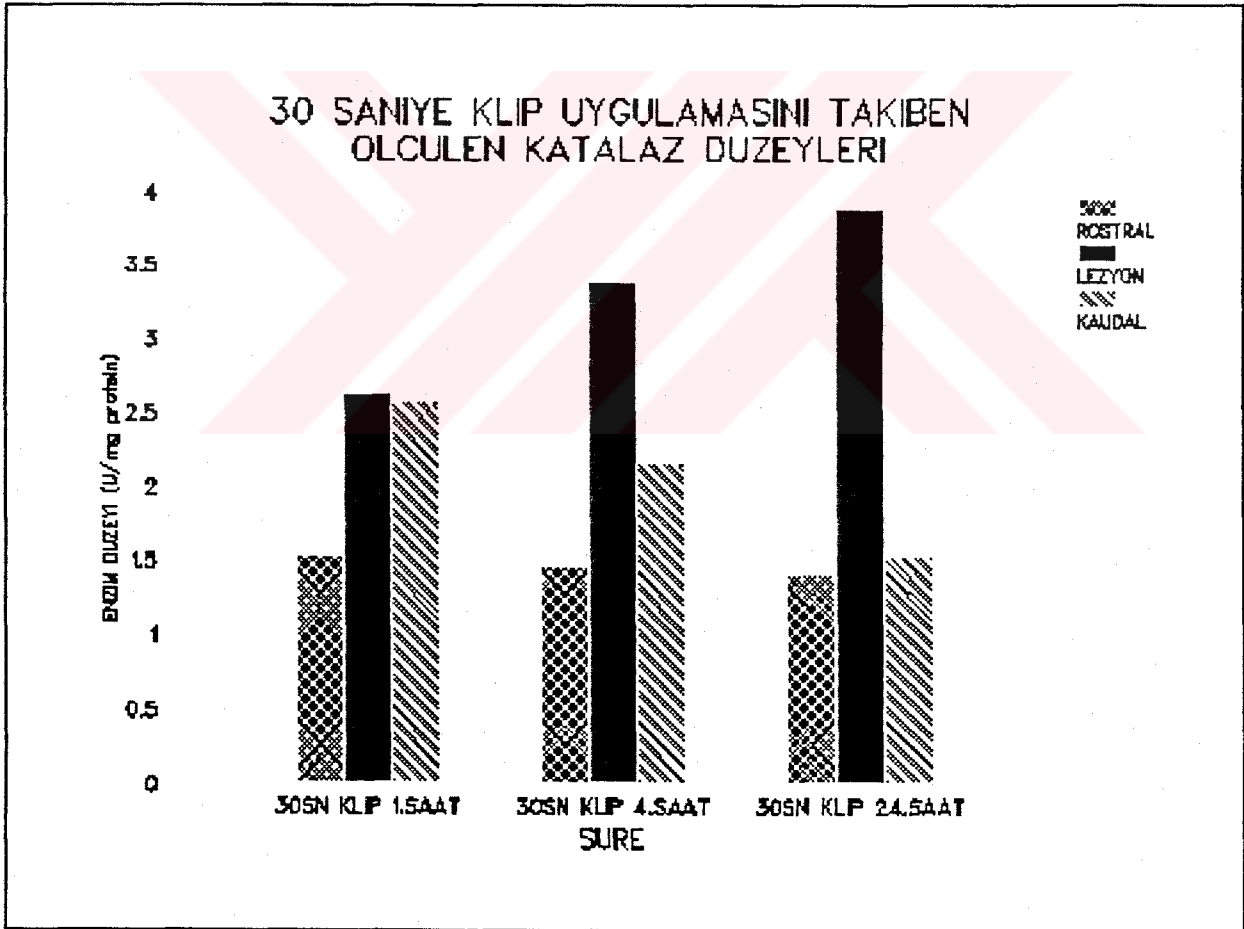


(Ort +/- Std): 1.saat (5.277 +/- 1.518) Ü/mg protein, 4.saat (7.667 +/- 2.108) Ü/mg protein, 24.saat (7.695 +/- 1.636) Ü/mg protein olarak bulundu. Rostral segmentte, zaman içinde SOD aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=2.451, Sig f(p)=0.141). 2.Lezyon segmenti: Lezyon oluşturulan segmentte SOD'ın zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (5.022 +/- 1.319) Ü/mg protein, 4.saat (5.487 +/- 0.856) Ü/mg protein, 24.saat (6.547 +/- 2.048) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon bölgesinde,

zaman içinde SOD aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($F=1.098$, Sig $f(p)=0.374$).

3.Kaudal segment: Kaudal segmentte SOD'ın zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (6.760 +/- 1.859) Ü/mg protein, 4.saat (6.765 +/- 1.067) Ü/mg protein, 24.saat (6.627 +/- 0.552) Ü/mg protein olarak bulundu. Kaudal segmentte, zaman içinde SOD aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($F=0.014$, Sig $f(p)=0.985$).

Katalaz (CAT): 1.Rostral segment: Rostral segmentte CAT'ın zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (1.537 +/- 0.260) Ü/mg protein, 4.saat (1.455 +/- 0.806) Ü/mg protein, 24.saat (1.410 +/- 0.396) Ü/mg protein olarak bulundu. Rostral segmentte, zaman içinde CAT aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($F=0.057$, Sig $f(p)=0.944$). 2.Lezyon segmenti: Lezyon oluşturulan segmentte CAT'ın zaman



çindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (2.630 +/- 0.710) Ü/mg protein, 4.saat (3.385 +/- 0.873) Ü/mg protein, 24.saat (3.875 +/- 1.587) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon bölgesinde, zaman içinde CAT aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=1.246, Sig f(p)=0.332). 3.Kaudal segment: Kaudal segmentte CAT'ın zaman içindeki değişimi incelendiğinde (Ort +/- Std): 1.saat (2.577 +/- 0.636) Ü/mg protein, 4.saat (2.165 +/- 1.047) Ü/mg protein, 24.saat (1.527 +/- 0.735) Ü/mg protein olarak bulundu. Kaudal segmentte, zaman içinde CAT aktivitesinde oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=1.643, Sig f(p)=0.246).

Yukarıda ayrıntılarına değindiğimiz gibi standart travma uygulanan deneklerin medülla spinalisinde segment bazında (rostral, lezyon, kaudal), zaman içinde (1., 4., 24.saat) ortaya çıkan enzim (GPx, SOD, CAT) aktivite değişiklikleri anlamsız bulunmuştur.

Aynı deneklerden elde edilen enzim düzeylerinin segmentler arasındaki değişiminin incelenmesinde ANOVA yöntemi kullanılmış olup, $p < 0.05$ anlamlılık sınırı kabul edilmiştir. Bu incelemede zaman sınırı konulmamış olup, her üç segment ikili gruplar halinde (Rostral/Lezyon, Lezyon/Kaudal, Rostral/Kaudal) değerlendirmeye alınıp her üç enzim (GPx, SOD, CAT) açısından ayrı ayrı çalışılmıştır. 24 saatlik zaman diliminde ilgili segmentten elde edilen enzim değerleri (Ort +/- Std) esas olarak alınmıştır.

Glutasyon peroksidaz:

1.Rostral/Lezyon: GPx enzim aktivitesi için, 30 saniye süre ile klip uygulanarak standart travma oluşturulmuş deneklerin medülla spinalisinin rostral ve lezyon segmentlerinin karşılaştırılmasında, enzim düzeyleri (Ort +/- Std): Rostralde (2.115 +/- 0.626) Ü/mg protein. Lezyonda (2.163 +/- 0.711) Ü/mg protein olarak bulundu. Rostral ve lezyon segmentleri arasındaki farkın analizinde, oluşan GPx aktivite değişikliği istatistiksel olarak

GLUTATYON PEROKSİDAZ			
Ü/mg PROTEİN			
GRUP	ROSTRAL	LEZYON	KAUDAL
POSTTRAVMATİK 1.SAAT	2.35	2.14	2.16
	1.39	1.76	2.69
	1.62	1.36	1.36
	1.57	1.91	2.10
POSTTRAVMATİK 4.SAAT	3.46	3.09	3.06
	1.74	1.68	1.77
	1.58	1.66	1.60
	1.64	3.84	1.56
POSTTRAVMATİK 24.SAAT	2.72	2.00	2.10
	2.28	1.60	1.84
	2.44	2.38	2.23
	2.60	2.54	2.18

anlamsız bulundu ($F=0.030$, Sig f (p)=0.863). 2.Lezyon/Kaudal: Lezyon ve kaudal segmentlerin GPx aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Lezyonda (2.163 +/- 0.711) Ü/mg protein. Kaudalde (2.054 +/- 0.480) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan GPx aktivite değişikliği istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($F=0.194$, Sig f (p)=0.663). 3.Rostral/Kaudal: Rostral ve kaudal segmentlerin GPx aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Rostralde (2.115 +/- 0.626) Ü/mg protein. Kaudalde (2.054 +/- 0.480) Ü/mg protein olarak bulundu. Rostral ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan GPx aktivite değişikliği istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($F=0.732$, Sig f (p)=0.789).

Superoksid dismutaz: 1.Rostral/Lezyon: Rostral ve lezyon segmentlerin SOD aktivitesi açısından

karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Rostralde (6.880 +/- 1.993) Ü/mg protein. Lezyonda (5.685 +/- 1.504) Ü/mg protein olarak bulundu. Rostral ve lezyon segmentler arası farkın analizinde, oluşan SOD aktivite değişikliği istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=2.743, Sig f (p)=0.111). 2.Lezyon/Kaudal: Lezyon ve kaudal segmentlerin SOD aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Lezyonda (5.685 +/- 1.504) Ü/mg protein. Kaudalde (6.717 +/- 1.158) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan SOD aktivite değişikliği istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=3.542, Sig f (p)=0.073). 3.Rostral/Kaudal: Rostral ve kaudal segmentlerin SOD aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Rostralde (6.880 +/- 1.993) Ü/mg protein. Kaudalde (6.717 +/- 1.158) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan SOD aktivite değişikliği istatistiksel olarak anlamsız bulundu (F=0.059, Sig f (p)=0.809).

SÜPEROKSİD DİSMUTAZ			
Ü / mg PROTEİN			
GRUP	ROSTRAL	LEZYON	KAUDAL
POSTTRAVMATİK 1.SAAT	7.50	6.78	6.80
	4.72	4.65	9.17
	4.82	3.61	4.65
	4.07	5.05	6.42
POSTTRAVMATİK 4.SAAT	10.31	6.65	7.44
	8.34	5.60	7.72
	6.46	4.74	6.55
	5.56	4.96	5.35
POSTTRAVMATİK 24.SAAT	6.20	4.70	6.05
	9.79	4.89	6.42
	6.61	7.92	7.36
	8.18	8.68	6.68

Katalaz:

CATALAZ			
Ü /mg PROTEİN			
GRUP	ROSTRAL	LEZYON	KAUDAL
POSTRAVMA TİK 1.SAAT	1.33	2.45	2.15
	1.34	2.38	3.44
	1.60	2.03	2.67
	1.88	3.66	2.05
POSTRAVMA TİK 4.SAAT	2.27	4.67	3.62
	2.01	3.20	1.24
	0.91	2.83	2.20
	0.63	2.84	1.60
POSTRAVMA TİK 24.SAAT	1.97	3.42	2.17
	1.40	1.83	1.52
	1.19	5.27	0.50
	108	4.98	1.92

1.Rostral/Lezyon: Rostral ve lezyon segmentlerin CAT aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Rostralde (1.467 +/- 0.491) Ü/mg protein. Lezyonda (3.296 +/- 1.148) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan CAT aktivite değişikliği istatistiksel olarak çok ileri düzeyde anlamlı bulundu (F=25.727, Sig f (p)=0.0000). 2. Lezyon/Kaudal:Lezyon ve kaudal segmentlerin CAT aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi (Ort +/- Std) Lezyonda (3.296 +/- 1.148) Ü/mg protein. Kaudalde (2.090 +/- 0.872) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan CAT aktivite değişikliği istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu(F=8.401, Sig f (p)=0.008). 3.Rostral/Kaudal: Rostral ve kaudal segmentlerin CAT aktivitesi açısından karşılaştırılmasında, enzim aktivitesi

(Ort +/- Std) Rostralde (1.467 +/- 0.491) Ü/mg protein. Kaudalde (2.090 +/- 0.872) Ü/mg protein olarak bulundu. Lezyon ve kaudal segmentler arası farkın analizinde, oluşan CAT aktivite değişikliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu (F=4.639, Sig f (p)=0.042).

Segmentler arası enzim düzeyleri farklılığı, 24 saatlik dilim içerisinde incelendiği zaman, GPx ve SOD aktivitesi açısından lezyon ile perilezyoner segmentler arasında anlamlı bir farkın olmadığı fakat CAT aktivitesinde ise rostral ile lezyon segmenti arasında istatistiksel açıdan çok ileri düzeyde anlamlı fark; lezyon ile kaudal segment arasında ileri derecede anlamlı fark saptanırken rostral ile kaudal segmentler arasında anlamlı düzeyde fark saptandı. Böylece lezyon segmentindeki CAT aktivitesi, rostral ve kaudalden anlamlı derecede yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır.

Segmentler bazında enzim aktivite düzeylerinin değişiminin birbirleriyle etkileşiminin incelenmesi amacıyla korelasyon matrisleri oluşturulduğunda, proksimal segmentte GPx ile SOD'ın (1-tailed sig. 0.712), lezyon segmentinde SOD ile CAT'ın (1-tailed sig. 0.790), distal segmentte ise GPx ile SOD'ın (1-tailed sig. 0.706) orta derecede pozitif korelasyon içinde olduğu, diğer segmentlerdeki enzim değişimleri arasında korelasyon bulunmadığı tespit edildi.

4.TARTIŞMA

Travma sonrası insan spinal kordunda, özellikle travmanın erken devresinde, araştırma yapılabilmesi çok nadirdir. Spinal kord travması ile ilgili bildiklerimizin çoğu hayvan modellerinden sağlanmıştır.Spinal kord travmalarını araştırmak için geliştirilecek hayvan modellerinin çeşitli kriterleri taşıması gerekir: 1- İnsan spinal kord yaralanmalarına benzer fiziksel belirtiler oluşmalıdır, 2- Patolojik bulgular insan spinal kord yaralanmasına benzemelidir, 3- Travma ve sonuçlar aynı laboratuvarda ve laboratuvarlar arasında tekrarlanabilir olmalıdır, 4- Travmanın ve tedavinin sonuçları ölçülebilmelidir, 5- Modeller insancıl olmalıdır.Medulla yaralanmaları ile ilgili deneylerde çeşitli hayvanlar kullanılmaktadır. Sıçanlar, ucuz olmaları, kolay temin edilebilmeleri, bakımlarının kolay olması, uzun süreli anesteziye dayanmaları (1), standart travmaya verdikleri fonksiyonel cevaplarının kolay

ve hassas olarak ölçülebilmesi nedeni ile tercih edilmektedirler.1911'de Allen, ilk tekrarlanabilir spinal kord travması modelini geliştirdi. Ekspoze edilmiş spinal kord üzerine belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık düşürerek kontüzyon oluşturmuş ve patolojik sonuçlarını incelemiştir. 1953'te Freeman ve Wright bu modeli yaygınlaştırıp geliştirmişlerdir. Noyes, sofistike, feed-back kontrollü elektromekanik travma yöntemi geliştirmiş ve sıçanlarda tekrarlanabilir, kademeli anatomik ve motor fonksiyon değişiklikleri oluşturmuştur (4,32,56,66). Bu konküziv veya "dinamik yükleme" tetkikleri, klinik olarak, spinal kordun hiperekstansiyon travmasında, geçici olarak anteriordaki bulging veya osteofitle posteriordaki bükülmüş ligamentum flavum arasında sıkışmasının analoglarıdır. Fakat, spinal kord travmalarının çoğunda spinal kord, servikal vertebranın anterior subluksasyonuna bağlı olarak daha uzun süre basıya maruz kalır. Bu klinik tablolar, laboratuvarlarda çeşitli "statik yükleme" modellerinde taklit edilir. Bu modellerde parmak, anevrizma klibi, Kocher klempisi, epidural balon kullanılmıştır. Epidural balon kompresyon tekniğinde kompresyonun süresinin kolayca değiştirilmesi bu yöntemin en önemli avantajıdır. Bunun yanısıra bu teknik büyüklüğü nedeni ile sıçanlarda uygulanamamaktadır. 1978'de Rivlin anevrizma klibi ile sıçanlarda tekrarlanabilir, standart travma oluşturmuştur. Bu yöntemin avantajları aygıtın basit olması, standart travma oluşturabilmesi, kompresyon süresinin doğru ölçülebilmesi ve değiştirilebilmesidir. Bu metodun dezavantajı yeterince laterale uzanan laminektomi gerektirmesidir. Bu yöntemde klip uzun süre yerinde tutulduğu takdirde doğrudan basıya bağlı sekonder iskemik değişiklikler ortaya çıkmakta, bunun yanında kuvvetin uygulanma hızı, gerçek fraktür/dislokasyona nazaran biraz daha yavaş olmaktadır (13,14,38,73,79,98,114,120). Biz çalışmamızda travma yöntemi olarak Rivlin ve Tator'un klip yöntemini uyguladık (98). Hem beynin hem de spinal kordun travmatik nöronal yaralanmaları primer ve sekonder mekanizmalarla doku hasarına neden olurlar. Spinal kordun travmaya yanıtının progresyonunda birçok patofizyolojik ve metabolik değişiklikler rol oynar. Travma sırasında oluşan hipertansif yanıt otonomik tonüsü değiştirir. Mikrovasküler yapılar zaten tahrip olduğu için hipertansiyon hemorajiyi arttırabilir ve vazojenik ödemi genişletebilir. Genellikle bu hipertansiyonu uzun süreli bir hipotansif dönem takip

eder, bu da iskemiye, özellikle kan akımı regülasyonunun bozulduğu ak maddede daha da arttırır (65,94,109). Travmadan hemen sonra doku oksijen düzeyi düşer ve ATP tükenir. Metabolizma aerobikten anaerobiğe doner. Laktat seviyesi yükselir, ph düşer, kalsiyuma bağlı Na/K ATPase çalışamaz olur. Böylece K hücrenin dışına kaçar, ekstraselüler seviyesi yükselir ve nöronlar depolarize olur. Bunun sonucu olarak nörotransmisyon bloke olabilir. Aynı zamanda büyük miktarlarda kalsiyumun hücre içine girişi nöronal hasarda önemli bir rol oynamaktadır. Aşırı kalsiyumun hücre içine girişi multipl intraselüler proteinleri aktive eder. Fosfolipazlar ve proteinazlar membrani tahrip ederek hücre ölümüne neden olurlar (65,109). Nöronal dejenerasyonun gelişmesinde sekonder hasar önemli bir rol oynamaktadır. Sekonder hasar travmayla başlar ve monoaminlerin, oksijen serbest radikallerin, nöropeptidlerin, araşidonik asit metabolitlerinin aktivasyonu ve ekstraselüler kalsiyum değişiklikleri bu olaylar zincirine sebep olurlar (65). Travmanın, vasküler ve nöronal dejenerasyona neden olan bir seri moleküler olayı başlattığına, böylece nörolojik düzelme için gerekli yapıların tahrip olduğuna inanılmaktadır. Sekonder dejenerasyonda rol alan moleküler süreçleri durdurabilen tedaviler ile iyileşme kolaylaştırılabilir. Sekonder veya otodestruktif hasar faktörleri ile ilgili bu düşünceler, travmatik santral sinir sistemi hasarlarında uygulanan tedavilerin değerlendirilmesinde teorik temeli oluşturmaktadır. Son veriler, oksijen serbest radikallerinin, akut santral sinir sistemi hasarlarının primer ve sekonder süreçlerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir. Son yayınlarda, akut travmatik beyin ve spinal kord hasarlarının primer ve sekonder süreçlerinde, oksijen serbest radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun doku hasarına sebep olması ile ilgili bulgular bildirilmiştir (24,52,65,109). Demopoulos ve Ortega yeni bir konsept ileri sürdüler. Sinir sisteminin, çeşitli nedenlerden dolayı, oksijen serbest radikallerinin sebep olduğu doku hasarına özellikle eğilimli olduğunu vurguladılar. Membran lipidleri, oksijen serbest radikallerinin tahrip edebileceği, özellikle kolesterol çok doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından zengindirler. Beyinde katalaz aktivitesi çok az, SOD ve GPx aktivitesi ise orta derecededir. Sinir sistemi demirden zengindir ve demir sinir sistemi yaralanmalarında serbest radikallerin başlatıcısıdır. Santral sinir sisteminin gri ve ak maddesinde yüksek

konsantrasyonda askorbik asit vardır. Askorbik asit, tek başına yüksek konsantrasyonlarda bir antioksidandır, fakat travma ve iskemide olduğu gibi, kanın ekstrasvazasyonu ile serbestleyen bakır ve demirin varlığında, askorbik asit çok miktarda oksijen serbest radikali oluşturur. Nöronlar çok sayıda lizozom içerirler. Lizozomların membranlarının oksijen serbest radikallerince hasarı ile nöronların sitoplazmasına lizozomal hidrolitik enzimler serbestler (20,24,65).Olesen, kurbağaların pial venüllerinin elektriksel rezistansının azalmasına oksijen serbest radikallerinin sebep olduğunu, iyonik permeabilite artışının SOD ve CAT ile önlenebileceğini bildirmiştir (65).Kontos ve arkadaşları sıvı perküsyon yöntemi ile oluşturdukları beyin hasarı modellerinde gördükleri vaskuler anormalliklere fosfolipaz C artışının ve araşidonik asit metabolizması hızlanışının eşlik ettiğini, buna benzer anormalliklerin araşidonik asit, prostaglandin G2, 15- hidroksiperoxieicosatetraenoik asit veya bradikinin topikal uygulanması ile elde edilebildiğini bildirdiler. Bu anormallikler indometasin (bir siklooksijenaz inhibitörü) veya SOD tedavisi ile inhibe edilebildiler (76).Akut spinal kord veya beyin hasarında erken lipid peroksidasyonunun biyokimyasal bulgusu tiobarbitürik asit reaksiyonu ile elde edilir. Spinal kord ve beyin hasarında malonaldehit oluşumunun artışı, kolesterolün destrüktif kaybı ve ak ve gri maddeden askorbik asit ve alfa tokoferolün tüketimi gösterilmiştir. Doku lipid peroksidasyonunun erken fonksiyonel sonuçlarından biri olarak Na/K ATPase aktivitesinin inhibe olduğu bildirilmiştir. Bu veriler, oksijen serbest radikallerinin, travmatik sinir sistemi hasarında önemli bir patofizyolojik süreç olduğunu ortaya koymaktadır (65).Spinal kordun kontüzyonu veya kompresyonunun sonucu olarak, hemen impuls oluşumu ve iletimi kaybolur, hasarlı segmentin kan akımı azalır ve sonuçta oluşan iskemik hipoksi yaygın doku hasarını başlatır (45). Künt spinal kord travmasının çok erken neticesi olarak, serbest radikaller çeşitli kaynaklardan ortaya çıkar. Spinal kord travmasında spinal kord kan akımı hızla azalır. Spinal kordun oksijenlenmesinin azalması çeşitli sonuçlar doğurur. Birincisi hücre homeostazi için gerekli enerji desteğinin azalmasıdır. İkincisi ve progressif doku destrüksiyonu açısından belki de en önemlisi serbest oksijen radikallerinin kontrolsüz oluşmasıdır (32,45). Serbest radikaller, spinal kord yaralanmasında, prostaglandinlerin, tronboksanların

ve prostasiklinin prostaglandin siklooksijenaz enzimi aracılığı ile sentezine sekonder olarak da artabilir. Bu otokoidlerin katalitik formasyonunun, çeşitli oksijen radikalleri oluşumu ile sonuçlandığı bilinmektedir. Travma sonucu prostaglandinlerin sentezi, membranlardan araşidonik asidin serbestlemesine bağımlıdır. Spinal kord yaralanmasında artan prostaglandinler, travmayı takiben oluşan kord kan akımındaki değişikliklerde rol alırlar. Ek olarak, lipid peroksidleri, trombosit agregasyonunu arttıran tromboksanların oluşumuna yardım ederler. Serbest radikal oluşumuna eşlik eden lipid peroksidasyonu indirekt olarak trombosit ve granülositlerin adhezivitesini arttırır. Sonuçta doku ölümü ile sonuçlanan bir süreç başlar (45). Lipid peroksidasyonunun ilk ve en karakteristik sonucu membranda bulunan birçok kilit enzimlerin inhibisyonudur. Santral nöronlar için belki de en önemlisi, spinal kord travmasını takiben hızla deprese olan Na/K ATPases'dir (45,46). Travmanın neden olduğu iskeminin başlattığı lipid peroksidasyon, her ihtimalde ilk önce santral gri maddede oluşur ve etraf ak maddeyi kapsayacak şekilde yayılır (45). Aerobik yaşam formları, oksijen serbest radikallerinin oluşturabileceği hasarı önlemek için serbest radikal temizleyici sistem geliştirmişlerdir. Serbest radikallerin hücre hasarı yapması, bu temizleyici sistemlerin kapasitesinin aşıldığı durumlarda (hiperoksidan stresler gibi aşırı serbest radikal oluşumunda) veya bu antioksidan sistemlerin zayıfladığı hastalıklarda ortaya çıkar (110). Patolojik durumlarda veya bazı drogların varlığında normalden çok fazla oksijen serbest radikaller oluşur ve bunlar hücrenin savunma kapasitesini aşarak hücre hasarı veya ölümüne sebep olabilirler (52). Başlangıçta oluşan serbest radikallerin etkilerinin lokal olmasına rağmen bunlardan oluşan sekonder ürünlerin ve serbest radikalleri kapsayan reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan yıkım ürünlerinin, serbest radikallerin ilk oluştuğu yerin uzağında biolojik etkileri vardır (110). Süperoksid anyon radikali genelde reaktif değildir fakat potansiyel toksiktir. Lokal homeostazi, örneğin katekolaminleri oksitleyerek, direkt olarak etkileyebilir; daha önemlisi, çok tehlikeli olan hidroksil radikaline transforme olabilir. Bu transformasyonun ilk basamağı, süperoksid anyonunun hidrojen perokside dismütasyonudur. Hidrojen peroksid, hücrelere özellikle toksik değildir fakat hücrenel membranları geçebilir. Bu özellik önemlidir çünkü ekstraselüler ortamda antioksidan

savunma mekanizmaları zayıftır. Geçiş metal iyonlarının varlığında, hidrojen peroksid'den hidroksil radikali oluşur ve ayrıca hidrojen peroksid, süperoksid anyon radikali ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturur. Hidroksil radikali, çevresindeki herhangi bir biyolojik molekülle reaksiyona girer. Proteinleri tahrip eder, DNA zincirlerinin kırılmasına neden olur, lipid peroksidasyonunu başlatır (47,65,110). Lipid membranlardaki PUFA'ların peroksidasyonu, hücre membranında ağır hasara yol açar böylece transmembran iyonik gradyent kaybolur, membran sekretuar fonksiyonları ve membranın akışkanlığı bozulur. Bu oto-oksidasyon reaksiyonu, hidroksil radikali ve hidroperoksid radikali ile başlatılabilir fakat daha az reaktif süperoksid anyon radikali veya hidrojen peroksid ile başlatılamaz (49,52). Metabolizmanın normal süreçlerinde devamlı olarak serbest radikaller oluştuğu için bütün aerobik hücrelerde, bunların zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için mekanizmalar vardır. Hücrelerde, kimyasal serbest radikal temizleyiciler gibi serbest oksijen radikallerini ortamdaki uzaklaştıran çeşitli enzim sistemleri vardır. Süperoksid dismutaz enzimi, süperoksid anyon radikalinin dismutasyonunu katalizler. Hücreler, hiperoksidan streslere yanıt olarak süperoksid dismutaz sentezini arttırma yeteneğindedirler. Hidrojen peroksidin yıkılımını katalizleyen 2 enzim sistemi vardır. Düşük konsantrasyonlarda, hidrojen peroksidin çoğu, indirgenmiş glutatyon ile reaksiyona girmek suretiyle okside glutatyon ve suya dönüşür ve ortamdaki uzaklaştırılır. Bu reaksiyonu glutatyon peroksidaz katalizler. Glutatyon redüktaz enzimi, pentoz fosfat yoluyla oluşan NADPH'yi kullanarak okside glutatyonun indirgenmiş glutatyon oluşumunu katalizler. Glutatyon peroksidaz, lipid peroksidlerin glutatyon ile redüksiyonunu da katalizler ve böylece lipid peroksidasyonunun yayılmasını engeller. Hidrojen peroksid yüksek konsantrasyonlarda ise ortamdaki uzaklaştırılması için katalaz enzimi önemli hale gelir (110). Dokularda serbest radikallerin oluşturacağı hasarı önlemek üzere çeşitli non-enzimatik antioksidanlar da vardır (65). Mahadik ve arkadaşları, şıçanlarda fokal kortikal iskemiyi oluşturduktan sonra SOD, GPx ve CAT seviyelerinde zamana bağımlı değişiklikleri araştırmışlar ve şu sonuçlara varmışlardır: 1. primer ve periiskemik dokular, oksiradikal başlattığı iskemik hasarın hem hızı hem de büyüklüğü açısından birbirinden farklıdır 2. iskemiden 72 saat sonra kadar

iskemik doku, oksiradikalin oluşturacağı hasara yatkındır çünkü antioksidan enzim seviyeleri bazal düzeyde veya altında seyretmektedir. 72 saat sonra bu enzimlerin seviyesindeki yükselme, dokuları oksiradikal hasara karşı korumaya yeterlidir(82).Horakova ve arkadaşları, sıçanlarda inkomplet serebral iskemi ve reperfüzyonu takiben tayin ettikleri SOD aktivitesinde artış, GPx'de düşüş saptamışlar. Stobadin ile bu antioksidan enzimlerdeki değişiklikler engellenmiş(61).Agee ve arkadaşları, tavşanlarda iskemik spinal kord hasarında, polietilen glikol'e bağlı süperoksid dismutaz'ın (PEG-SOD) etkisini araştırmışlar ve PEG-SOD'nın tavşan spinal kordunun iskemiye toleransını arttırdığını saptamışlar ve serbest radikalleri ortamdaki temizlemenin, eksperimental spinal kord hasarını azaltacağı kanısına varmışlardır (2).Nishibe, köpeklerde spinal kord iskemisi oluşturduktan sonra SOD, GPx ve CAT aktivitelerini ölçmüş. Bu çalışmasında, iskemik spinal kordlarda total SOD, Mn-SOD ve GPx aktivitelerinde normallere kıyasla değişiklik bulamamış. CAT aktivitesi iskemiden sonra azalmış. Bu sonuçlarla CAT'ın, peroksidatif hasara karşı spinal kord korumada asıl görevi üstlendiği kanaatine varmış(87). Chan ve arkadaşları, sıçan beyinlerinde, dekapitasyonu takiben 30. ve 60. dakikalarda SOD, GPx'i araştırmışlar. SOD aktivitesinde azalma saptarlarken, GPx aktivitesinin değişmediğini belilemişlerdir. SOD, superoksid radikali için spesifiktir; GPx ise hidrojen peroksid ve lipid ve yağ asid peroksidleri için genel bir antioksidan enzimdir. Bu yüzden, SOD aktivitesindeki düşüş, özellikle oksijen radikallerinin aşırı miktarlarda olduğu reoksijenizasyon devresinde, beyni superoksid radikal hasarına açık hale getirir (21).Pashen ve arkadaşları, mongol gerbillerinde fokal serebral iskemi oluşturarak SOD aktivitesini araştırmışlar ve değişiklik saptamamışlar (91).

5.SONUÇ

Biz, deneysel standart spinal kord travmasında, ortamda oluşan oksijen serbest radikalleri temizleyen SOD, GPx ve CAT enzim aktivitelerinin zaman içindeki değişimini araştırdık. 30 saniye süre ile klip (kapanma kuvveti: 192 gr.) uygulayarak standart reversibl spinal kord travması oluşturup, 1., 4., 24. saatte doku enzim aktivitelerini tayin ettik. Lezyon bölgesi, lezyonun rostrali ve kaudalinde zaman içerisinde oluşan enzim aktivite değişiklikleri istatistiksel olarak her üç enzim için de anlamsız bulundu. Aynı enzim düzeylerinin zaman sınırı konulmaksızın segmentler arası değişimi incelendiğinde, GPx ve SOD aktivitesi açısından lezyon ile perilezyoner segmentler arasında anlamlı bir farkın olmadığı fakat CAT aktivitesinde ise rostral ile lezyon segmenti arasında istatistiksel açıdan çok ileri düzeyde anlamlı fark, lezyon ile kaudal segment arasında ileri derecede anlamlı fark, rostral ile kaudal segmentler arasında anlamlı düzeyde fark saptandı. Böylece CAT aktivitesi lezyon segmentinde, rostral ve kaudalden anlamlı derecede yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır. SOD aktivite düzeyinde 1. ve 4. saatlerde lezyon segmentindeki, rostral ve kaudale göre hafif düşüklüğün 24. saatte en azından kaudal segment düzeyine yükselmesi; GPx aktivitesinde 1. saatte lezyon segmentindeki hafif düşüklüğün 4. saatte yükselme göstermesi, lezyon oluşturulan bölgede serbest radikallerin oluştuğunu fakat hücrel antioksidanlar ile hidroksil radikaline dönüşmeden temizlendiğini düşündürmektedir. CAT aktivitesinin lezyon segmentinde diğer segmentlere göre anlamlı yüksekliği, hiperoksidan strese karşı hücrelerin muhtemelen CAT oluşumunu arttırdığı fakat CAT kullanılmasını gerektirecek düzeyde hidrojen peroksid oluşmadığı fikrini vermektedir.

6.KAYNAKLAR

1. Acland RD: Rat anesthesia and preparation in Practice Manual of Microvascular Surgery (second edition) St.Louis, Washington DC, C.V.Mosby Company, 1989, pp:44-47.
2. Agee JM, Flanagan T, Blackbourne LH, Kron IL, Tribble CG: Reducing postischemic paraplegia using conjugated superoxide dismutase. Ann.Thorac.Surg 51(6):911-4, 1991.
3. Akdemir H, Paşaoğlu A, Öztürk F, Selçuklu A, Koç K, Kurtsoy A: Histopathology of experimental spinal cord trauma: Comperison of treatment with TRH, Naloxone and Dexamethasone. Res Exp Med. 192: 177-183, 1992.
4. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal colon. The Journal A.M.A. September 9,1911,p.878- 880.
5. Anderson DK, Prockop LD, Means ED, Hardley LE: Cerebrospinal fluid lactate and electrolyte levels following experimental spinal cord injury. J.Neurosurg. 44:715-722, 1976.
6. Anderson DK, Braughler JM, Hall ED, Waters TR, Mc Call JM, Means ED: Effects of treatment with U-74006 F on neurological outcome following experimental spinal cord injury. J. Neurosurg. 69:562-567, 1988.
7. Anderson TE: Spinal cord contusion injury:experimental dissociation of hemorrhagic necrosis and subacute loss of axonal conduction. J, Neurosurg. 62:115-119, 1985.
8. Bakay RAE, Ward AA: Enzymatic changes in serum and cerebrospinal fluid in neurological injury. J Neurosurg. 58:27-37, 1983.
9. Balentine JD: Spinal cord trauma : in search of the meaning of granular axoplasm and vesicular myelin. J.Neuropathol Exp Neurol. 47:77-92, 1988.
10. Banik NL, Powers JM, Hogan EL: The effects of spinal cord trauma on myelin. J.Neuropathol.Exp.Neurol.

- 39:232-244, 1980.
11. Beers RF, Sizer IW: A spectrophotometric method measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J.Biol.Chem.* 195:133-140, 1952.
 12. Bennett MH, McCallum JE: Experimental decompression of spinal cord. *Surg Neurol.* 8:63-67, 1977.
 13. Black P, Markowitz RS, Cooper V, Mechanic A, Kushner H, Damjanov I, Finkelstein SD, Wachs KC: Models of spinal cord injury: Part I Static load technique. *Neurosurgery* 19:752-762, 1986.
 14. Black P, Markowitz RS, Damjanov I, Finkelstein SD, Kushner H, Gillespie J, Feldmann M: Models of spinal cord injury: Part III Dynamic load technique. *Neurosurgery* 22:51-60, 1988.
 15. Black P, Markowitz RS, Finkelstein SD et al: Experimental spinal cord injury: Effect of a calcium channel antagonist (Nifedipine). *Neurosurgery* 22:61-66, 1988.
 16. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF et al: A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. *N.Engl.J.Med.* 322:1405-11, 1990.
 17. Braughler JM, Hall ED, Means ED, Waters TR, Anderson DK: Evaluation of an intensive methylprednisolone sodium succinate dosing regimen in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 67:102-105, 1987.
 18. Bricolo A, Dalle Ore G, Da Pian R, Faccioli F: Local cooling in spinal cord injury. *Surg Neurol.* 6:101-105, 1976.
 19. Campbell JB, De Crescito V, Tomasula JJ, Demopoulos HB, Flamm ES, Ortega BD: Effects of antifibrinolytic and steroid therapy on the contused spinal cord of cats. *J Neurosurg.*40:726-733, 1974.
 20. Caron MJ, Hovda DA, Becker DP: Changes in the treatment of head injury. *Neurosurgery Clinics of North America* 2:483- 491, 1991.
 21. Chan PH, Chu L, Fishman RA: Reduction of activities of superoxide dismutase but not of glutathione

- peroxidase in rat brain regions following decapitation ischemia. *Brain Research* 439:388-390, 1988.
22. Das GD, Das KG, Brasko J, Riedl M, Rai P, Rajeswari V: Spinal traumas: Some postoperative complications in experimental animals. *Brain Research Bull.* 22(1), 33-37, 1989.
 23. Demediuk P, Faden AI: Traumatic spinal cord injury in rats causes increases in tissue thromboxane but not peptidoleukotrienes. *J Neuroscience Res.* 20:115-121, 1988.
 24. Demopoulos HB, Flamm ES, Seligman ML, Pietronigro DD, Tomasula J, DeCrescito V: Further studies on free-radical pathology in the major central nervous system disorders: Effect of very high doses of methylprednisolone on the functional outcome, morphology and chemistry of experimental spinal cord impact injury. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 60:1415-1424, 1982.
 25. Dohrmann GJ, Wick KM, Bucy PC: Spinal cord blood flow patterns in experimental traumatic paraplegia. *J Neurosurg.* 38:52-58, 1973.
 26. Dohrmann GJ: Experimental spinal cord trauma. *Arch Neurol.* 27:468-473, 1972.
 27. Dolan EJ, Tator CH: A new method for testing the force of clips for aneurysms or experimental spinal cord compression. *J. Neurosurg.* 51:229-233, 1979.
 28. Dolan EJ, Tator CH, Endrenyi L: The value of decompression for acute experimental spinal cord compression injury. *J Neurosurg.* 53:749-755, 1980.
 29. Dolan EJ, Tator CH: The effect of blood transfusion, dopamine and gamma hydroxybutyrate on posttraumatic ischemia of the spinal cord. *J Neurosurg.* 56:350-358, 1982.
 30. Dolan EJ, Tator CH: The treatment of hypotension due to acute experimental spinal cord compression injury. *Surg Neurol.* 13:380-384, 1980.
 31. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG: Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg.* 35:700-708, 1971.

32. Ducker TB: Experimental injury of the spinal cord. In Handbook of Clinical Neurology (eds Vinken PJ, Bruyn GW) Netherland, American Elsevier Publishing Co., Inc., Vol:25, pp:9-26, 1976.
33. Ducker TB: Treatment of spinal cord injury. N Engl.J. Med. 322:1459-1461, 1990.
34. Faden AI, Gannon A, Basbaun AI: Use of serotonin immunocytochemistry as a marker of injury severity after experimental spinal trauma in rats. Brain Research. 450:94-100, 1988.
35. Faden AI, Jacobs TP, Holaday JW: Thyrotropin-releasing hormone improves neurologic recovery after spinal trauma in cats. N Engl.J.Med. 305:1063-7, 1981.
36. Faden AI, Jacobs TP, Smith MT: Thyrotropin-releasing hormone in experimental spinal cord injury: Dose response and late treatment. Neurology 34:1280-1284, 1984.
37. Gainer JV: Use of crocetin in experimental spinal cord injury. J Neurosurg. 46:358-360, 1977.
38. Gale K, Kerasidis H, Wrathall JR: Spinal cord contusion in the rat: Behavioral analysis of functional neurologic impairment. Experimental Neurology 88:123-134, 1985.
39. Green BA, Kahn T, Klose KJ: A comparative study of steroid therapy in acute experimental spinal cord injury. Surg Neurol. 13:91-97, 1980.
40. Greenberg J, McKeever P, Balentine JD: Lysosomal activity in experimental cord trauma: an ultrastructural cytochemical evaluation. Surg Neurol. 9:361-364, 1978.
41. Guha A, Tator CH, Piper I: effect of a calcium channel blocker on posttraumatic spinal cord blood flow. J Neurosurg. 66:423-430, 1987.
42. Guha A, Tator CH, Piper I: Increase in rat spinal cord blood flow with the calcium channel blocker, nimodipine. J Neurosurg 63:250-259, 1985.
43. Guha A, Tator CH: Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. The Journal of Trauma 28:481-490, 1988.

44. Haghghi SS, Chehrazi BB, Wagner FC: Effect of nimodipine- associated hypotension on recovery from acute spinal cord injury in cats. *Surg Neurol.* 29:293-7, 1988.
45. Hall ED, Braughler JM: Glucocorticoid mechanisms in acute spinal cord injury : a review and therapeutic rationale. *Surg.Neurol.* 18:320-327, 1982.
46. Hall ED, Brauhler JM: Free radicals in CNS injury. *Res.Publ.Assoc.Res.Nerv.Ment.Dis.* 71:81-105, 1993.
47. Halliwell B, Gutteridge JMC: Free radicals and human disease. In *Free Radicals in Biology and Medicine* (eds) Halliwell B, Gutteridge JMC, Oxford,Clarendon Press, 1984, pp:135-153.
48. Halliwell B, Gutteridge JMC: Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *The Lancet* 23:1396-7, 1984.
49. Halliwell B, Gutteridge JMC: Lipid peroxidation: Its measurement and significance. In *Free Radicals in Biology and Medicine* (eds) Halliwell B, Gutteridge JMC, Oxford,Clarendon Press, 1984, pp:119-133.
50. Halliwell B, Gutteridge JMC: Metabolism of transition metals in the human body. In *Free Radicals in Biology and Medicine* (eds) Halliwell B, Gutteridge JMC, Oxford,Clarendon Press, 1984, pp:111-117.
51. Halliwell B, Gutteridge JMC: Oxygen radicals and singlet oxygen. In *Free Radicals in Biology and Medicine* (eds) Halliwell B, Gutteridge JMC, Oxford,Clarendon Press, 1984, pp:93-109.
52. Halliwell B: *Lipid peroxidation, free radical reactions and human disease. Current concepts:* Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan, 1991.
53. Halliwell B: Oxygen radicals and metal ions: Potential antioxidant intervention strategies, pp 526-30. In: Cross CE, moderator. *Oxygen radicals and human disease. Ann Intern Med.* 1987;107:526-45.
54. Hamilton AJ, Black PM, Carr DB : Contrasting action of naloxone in experimental spinal cord trauma and cerebral ischemia : a review. *Neurosurgery* 17:845-849, 1985.
55. Hedeman LS, Shellenberger MK, Gordon JH: *Studies in experimental spinal cord trauma Part I: Alterations*

- in catecholamine levels. *J. Neurosurg.* 40:37-43, 1974.
56. Hirschfeld A, Young W: Trends in spinal cord injury research. In *Spinal Cord Injuries Anaesthetic and Associated Care* (eds Alderson JD, Frost EAM) London, Butterworth & Co.Ltd, pp:199-232, 1990.
 57. Holtz A, Nystrom B, Gerdin B : Effect of methylprednisolone on motor function and spinal cord blood flow after spinal cord compression in rats. *Acta Neurol Scand.* 82:68-73, 1990.
 58. Holtz A, Nystrom B, Gerdin B, Olsson Y : Neuropathological changes and neurological function after spinal cord compression in the rat. *J.Neurotrauma* 7:155-167, 1990.
 59. Holtz A, Nystrom B, Gerdin B: Relation between spinal cord blood flow and functional recovery after blocking weight- induced spinal cord injury in rats. *Neurosurgery.* 26:952- 957, 1990.
 60. Holtz A, Nystrom B, Gerdin B: Spinal cord blood flow measured by C-iodoantipyrine autoradiography during and after graded spinal cord compression in rats. *Surg.Neurol.* 31:350-360, 1989.
 61. Horakova L, Uraz V, Ondrejickova O, Lukovic L, Juranek I: Effect of stobadine on brain lipid peroxidation induced by incomplete ischemia and subsequent reperfusion. *Biomed.Biochim.Acta* 50 (8):1019-25, 1991.
 62. Hsu CY, Dimitrijevic MR: Commentary methylprednisolone in spinal cord injury : the possible mechanism of action. *J.Neurotrauma.* 7:115-119, 1990.
 63. Hsu CY, Halushka PV,Hogan EL, Banik NL, Lee WA, Perot PL: Alteration of thromboxane and prostacyclin levels in experimental spinal cord injury. *Neurology* 35:1003-1009, 1985.
 64. Iizuka H, Yamamoto H, Iwasaki Y, Yamamoto T, Konno H : Evolution of tissue damage in compressive spinal cord injury in rats. *J.neurosurg.* 66:595-603, 1987.
 65. Ikeda Y, Long DM : The molecular basis of brain injury and brain edema : the role of oxygen free radicals. *Neurosurgery* 27:1-11, 1990.
 66. Jellinger K: Neuropathology of cord injuries. In *Handbook of Clinical Neurology* (eds Vinken PJ, Bruyn

- GW) Netherland, American Elsevier Publishing Co., Inc., Vol:25, pp:43-121, 1976.
67. Katayama Y, Becker DP, Tamura T, Hovda DA : Massive increases in extracellular potassium and the indiscriminate release of glutamate following concussive brain injury. *J.Neurosurg.* 73: 889-900, 1990.
 68. Kavas G : Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri* 9,1: 1-8, 1989.
 69. Kelly DL, Lassiter KRL, Vongsivut A, Smith JM : Effects of hyperbaric oxygenation and tissue oxygen studies in experimental paraplegia. *J.Neurosurg.* 36: 425-429, 1972.
 70. Koberne AI, Doyle TF, Martins AN : Local spinal cord blood flow in experimental traumatic myelopathy. *J.Neurosurg.* 42:144-149, 1975.
 71. Koberne AI, Doyle TF, Rizzoli HV : Spinal cord blood flow as affected by changes in systemic arterial blood pressure. *J.Neurosurg.* 44: 12-15, 1976.
 72. Koberne AI, Doyle TF: Role of histamine in posttraumatic spinal cord hyperemia and the luxury perfusion syndrome. *J.Neurosurg.* 44:16-20, 1976.
 73. Koberne AI, Evans DE, Rizzoli HV: Experimental acute balloon compression of the spinal cord. Factors affecting disappearance and return of the spinal evoked response. *J Neurosurg* 51:841-845, 1979.
 74. Koberne AI, Evans DE, Rizzoli HV: The effects of ischemia on long-tract neural conduction in the spinal cord. *J Neurosurg.* 50:639-644, 1979.
 75. Koenig G, Dohrmann GJ : Histopathological variability in standardised spinal cord trauma. *J.Neurol.Neurosurg.Psych.* 40: 1203-1210, 1977.
 76. Kontos HA, Wei EP : Superoxide production in experimental brain injury. *J.Neurosurg* 64: 803-807, 1986.
 77. Koyanagi I, Tator CH, Theriault E : Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury in the rat. *Neurosurgery* 32: 260-268, 1993.
 78. Kurihara M : Role of monoamines in experimental spinal cord injury in rats. *J.Neurosurg.* 62: 743-749,

1985.

79. Kushner H, Markowitz RS, Mechanic A, Black P: Models of spinal cord injury: Part II A Mathematical Model. *Neurosurgery* 19:763-766, 1986.
80. Levasseur JE, Patterson JL, Ghutak NR, Kontos HA, Choi SC: Combined effect of respirator-induced ventilation and superoxide dismutase in experimental brain injury. *J.Neurosurg.* 71: 573-577, 1989.
81. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with folin phenol reagent. *J.Biol.Chem.* 193:265-275, 1951.
82. Mahadik SP, Makar TK, Murthy JN, Ortiz A, Wakade CG, Karpiak SE: Temporal changes in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase levels in primary and periischemic tissue. Monosialoganglioside treatment effects. *Mol. Chem. Neuropathol* 18 (1-2):1-14, 1993
83. Mc Cord J: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New Engl.Journal of Med.* 312:159-163, 1985.
84. Means ED, Anderson DK, Nicolosi G, Gaudsmith J: Microvascular perfusion experimental spinal cord injury. *Surg Neurol.* 9:353-360, 1978.
85. Moreland DV, Soloniuk DS, Feldman MJ: Leukotrienes in experimental spinal cord injury. *Surg Neurol.* 31:277-280, 1989.
86. Naftchi NE, Demeny M, DeCrescito V, Tomasula JJ, Flamm ES, Campbell JB: Biogenic amine concentrations in traumatized spinal cords of cats. *J.Neurosurg.* 40:52-57, 1974.
87. Nishibe M: Experimental studies on the mechanism of spinal cord ischemia the state of free radical scavengers. *Hokkaido.Igaku.Zasshi.* 64 (3), 301-308, 1989.
88. Osterholm JL, Mathews GJ: Altered norepinephrine metabolism following experimental spinal cord injury Part I:Relationship to hemorrhagic necrosis and post-wounding neurological deficits. *J. Neurosurg.*

- 36:386-394, 1972.
89. Osterholm JL, Mathews GJ: Altered norepinephrine metabolism following experimental spinal cord injury Part II: Protection against traumatic spinal cord hemorrhagic necrosis by norepinephrine synthesis blockade with alpha methyltyrosine, *J Neurosurg.* 36:395-401, 1972.
 90. Özer F, Pamir N, Yalçın AS, Emerk K, Küllü S: The effect of lidocaine on spinal cord lipid peroxide levels in acute spinal cord injury. *Turkish Neurosurgery. Suppl.*1:3-4, 1989.
 91. Paschen W, Linn F, Csiba L: Superoxide dismutase activity in experimental focal cerebral ischemia. *Exp.Neurol.* 90:611-618, 1985.
 92. Plagia DE, Valentine WN: *J.Lab.Clin.Med.* 70:158, 1967.93.Ravichandran G: Pathophysiology of acute spinal cord injury. In *Spinal Cord Injuries Anaesthetic and Associated Care* (eds Alderson JD, Frost EAM) London, Butterworth & Co.Ltd, pp:1-19, 1990.
 94. Rawe SE, Lee WA, Perot PL: The histopathology of experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg.* 48:1002- 1007, 1978.
 95. Rawe SE, Roth RH, Boadle-Biber M, Collins WF: Norepinephrine levels in experimental spinal cord trauma Part I: Biochemical study of hemorrhagic necrosis. *J. Neurosurg.* 46:342-349, 1977.
 96. Rawe SE, Roth RH, Collins WF: Norepinephrine levels in experimental spinal cord trauma Part II: Histopathologic study of hemorrhagic necrosis. *J.Neurosurg.* 46:350-357, 1977.
 97. Rivlin AS, Tator CH: Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. *J. Neurosurg.*47:577-581, 1977.
 98. Rivlin AS, Tator CH: Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg.Neurol.* 10:39-43, 1978.
 99. Rivlin AS, Tator CH: Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J.Neurosurg.*

49:844-853, 1978.

100. Rubinstein A, Arbit E: Spinal cord blood flow in the rat under normal physiological conditions. *Neurosurgery* 27:882-886, 1990.
101. Sakamoto T, Monafu WW: Regional spinal cord blood flow during local cooling. *Neurosurgery* 26:958-962, 1990.
102. Sandler AN, Tator CH: Effect of acute spinal cord compression injury on regional spinal cord blood flow in primates. *J.Neurosurg.*45:660-676, 1976.
103. Sandler AN, Tator CH: Review of the effect of spinal cord trauma on the vessels and blood flow in the spinal cord. *J.Neurosurg.* 45:638-646, 1976.
104. Sasaki S: Vascular change in the spinal cord after impact injury in rat. *Neurosurgery* 10:360-363, 1982.
105. Schettini A, Lippman HR, Walsh EK: Attenuations of decompressive hypoperfusion and cerebral edema by superoxide dismutase. *J.Neurosurg.* 71:578-587, 1989.
106. Siegal T, Shohami E, Shapira Y, Siegal Tz: Indometacin and dexamethasone treatment in experimental neoplastic spinal cord compression:Part2. *Neurosurgery* 22:334-339, 1988.
107. Siegal T, Siegal Tz, Shapira Y, Sandbank U, Catane R: Indometacin and dexamethasone treatment in experimental neoplastic spinal cord compression:Part1. *Neurosurgery* 22:328-333, 1988.
108. Siegal T, Siegal Tz, Shohami E, Lossos F: Experimental neoplastic spinal cord compression: Effect of ketamine and MK-801 on edema and prostoglandins. *Neurosurgery* 26:963-966, 1990.
109. Sonntag VKH, Douglas RA: Management of spinal cord trauma. *Neurosurgery Clinics of North America* 1:729-750, 1990.
110. Southorn PA: Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin.Proc.* 63:381- 389, 1988.

111. Southorn PA: Free radicals in medicine. 2. Involvement in human disease. Mayo Clin.Proc. 63:390-408, 1988.
112. Sugita K, Hirota T, Iguchi I, Mizutani T: Comparative study of the pressure of various aneurysm clips. J.Neurosurg.44:723-727, 1976.
113. Sun Y, Peterson TE, McCormick ML, Oberley LW, Osborne JW: Improved superoxide dismutase assay for clinical use. Clin.Chem. 35:1265-1266, 1989.
114. Tarlov IM, Klinger H, Vitale S: Spinal cord compression studies. I.Experimental techniques to produce acute and gradual compression. A.M.A. Archives of Neurology and Psychiatry
115. Thienprosit P, Bantli H, Bloedel JR, Chou SN: Effect of delayed local cooling on experimental spinal cord injury. J.Neurosurg. 42:150-154, 1975.
116. Tibbs PA, Young B, Ziegler MG, McAllister RG: Studies of experimental cervical spinal cord transection Part II: Plasma norepinephrine levels after acute servical spinal cord transection. J Neurosurg 50:629-632, 1979.
117. Vise WH, Yashon D, Hunt WE: Mechanisms of norepinephrine accumulation within sites of spinal cord injury. J. Neurosurg. 40:76-82, 1974.
118. Wagner FC, VanGilder JC, Dohrmann GF: Pathological changes from acute to chronic in experimental spinal cord trauma. J Neurosurg. 48:92-98, 1978.
119. Wallace MC, Tator CH, Piper I: Recovery of spinal cord function induced by direct current stimulation of the injured rat spinal cord. Neurosurgery 20:878-884, 1987.
120. Wrathall JR, Pettegrew RK, Harwey F: Spinal cord contusion in the rat:Production of graded, reproducible, injury groups. Experimental Neurology 88:108-122, 1985.
121. Wurtman RJ, Zervas NT: Monoamine neurotransmitters and the pathophysiology of stroke and central

- nervous system trauma. J Neurosurg. 40:34-36, 1974.
122. Yaksh TL: Opioid receptor systems and the endorphins: a review of their spinal organization J Neurosurg. 67:157- 176, 1987.
 123. Yang MS, DeWitt DS, Becker DP, Hayes RL: Regional brain metabolite levels following mild experimental head injury in the cat. J Neurosurg. 63:617-621, 1985.
 124. Yashon D, Bingham WG, Faddoul EM, Hunt WE: Edema of the spinal cord following experimental impact trauma. J Neurosurg. 38:693-697, 1973.
 125. Young W, Flamm ES, Demopoulos HB, et al: Effect of naloxone on posttraumatic ischemia in experimental spinal contusion. J Neurosurg. 55:209-219, 1981.
 126. Zileli M, Övül İ, Dalbastı T: Effects of methylprednisolone, dimethyl sulphoxide and naloxone in experimental spinal cord injuries in rats. Neurological Research 10:232-235, 1988.