

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA
TADALAFİL İLE ERİTROPOETİN'İN ETKİNLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Çağrı KÖKOğLU

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2011

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA
TADALAFİL İLE ERİTROPOETİN'İN ETKİNLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Dr. Çağrı KÖKOĞLU

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ

ESKİŞEHİR

2011

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

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

Dr. Çağrı KÖKOĞLU'na ait “Deneysel spinal kord travmasında tadalafil ile eritropoetin'in etkinliklerinin araştırılması” adlı çalışma jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Metin Ant ATASOY Nöroşirurji Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. T. Erhan COŞAN Nöroşirurji Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ Nöroşirurji Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .../.../...

Tarih ve ... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Necmi ATA
Dekan

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde ve eğitimim süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen bana planlı ve düzenli çalışmayı öğreten, deneyimlerini görgülerini paylasan, tez danışmanım Prof. Dr. Ali ARSLANTAŞ ' a saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Beyin ve Sinir Cerrahi kliniğinde uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve becerilerimin gelişmesine katkıları olan, tecrübe ve yardımları ile bana her zaman destek olan başta Beyin ve Sinir Cerrahisi A.D. Başkanı Prof. Dr. Metin Ant ATASOY olmak üzere, Prof Dr. Erhan COŞAN' a, Prof. Dr. Ramazan DURMAZ' a ve Doç. Dr. Murat VURAL' a saygı ve teşekkürlerimi borç bilirim. Tez çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Didem ARSLANTAŞ' a ve Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Sema USLU' ya, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Halide Edip TEMEL'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kökoğlu, Ç. Deneysel Spinal Kord Travmasında Tadalafil ve Eritropoetin'in Etkinliklerinin Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2011.

Travmatik omurilik yaralanmasında birincil zedelenme travma anında olan zedelenme iken, ikincil zedelenme ise, oluşan birincil zedelenme sonrası gelişen metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasarlardır. İkincil zedelenme mekanizmaları arasında yer alan iki faktör serbest radikaller ve iskemi-reperfüzyon hasarıdır. Tadalafil, fosfodiesteraz tip 5 (PDE 5) enzim inhibitörüdür ve cGMP'yi artırır. Glikoprotein yapısında bir hormon olan Eritropoetin, eritrosit üretiminin kontrolünü sağlaması nedeniyle doku oksijenizasyonunun temel belirleyicisidir. Deneysel spinal kord yaralanma modeli 35 sıçan üzerinde uygulandı. Kontrol grubunda 7 sıçan normal spinal kord biyokimyasal değerlerinin saptanması için kullanıldı. Travma grubunda 7 sıçana total laminektomi yapıldıktan sonra anevrizma klibi ile spinal kord travması uygulandı. Travma çözücü grubunda 7 sıçana aynı yöntem kullanıldı ve intraperitoneal serum fizyolojik verildi. Travma ilaç grubunda ise 14 sıçana aynı yöntem uygulandı. 7 sıçana 2 mg/kg tek doz oragastrik yolla tadalafil verildi. Eritropoetin ise 7 sıçana 2000 Ü/kg dozda intraperitoneal yolla verildi. Tüm sıçanlar işleminden 48 saat sonra sakrifiye edildi. Tadalafil'in ve Eritropoetin'in kan ve dokuda malondialdehit (MDA) ve toplam antioksidan kapasite (TAOK) değerine olan etkisi araştırıldı. Sonuç olarak tedavi gruplarının MDA değerlerinde travma grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı, tedavi grubunun TAOK değerlerinde ise travma grubuna göre anlamlı bir artma saptandı. Tadalafil ve Eritropoetin'in spinal kord travmasında ikincil zedelenmeyi azaltarak dokudaki oksidatif stresi azaltarak faydalı olabilir.

Anahtar Kelimeler: tadalafil, eritropoetin, spinal kord travması

ABSTRACT

Kökoğlu, Ç. The Effect of Tadalafil and Erythropoietin Following Experimental Spinal Cord Injury. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Neurosurgery, Eskişehir, 2011.

Primary traumatic spinal cord injury is defined as the injury occurring at the time of the trauma. The metabolic and biochemical processes lead to the secondary trauma in the following hours after the primary trauma. Free radicals and ischemic reperfusion injury are two factors which play role in secondary injury. Tadalafil is a potent inhibitor of PDE5 and increases cGMP levels. The structure of a glycoprotein hormone Erythropoietin, red blood cell production, because it provides control of the main determinant of tissue oxygenation. The experimental spinal cord injury model was applied on 35 rats. In control group 7 rats were sacrificed to provide normal biochemical baseline values. In trauma group 7 rats underwent laminectomy and spinal cord injury was produced by extradural compression of the exposed cord by aneurysm clip. Same procedures were performed in 7 rats in trauma solvent group, so they also injected intraperitoneal saline. Same procedures were performed in 14 rats in trauma drug group, but they also received 2 mg/kg single dose via orogastric way of Tadalafil. The other 7 rats received 2000u/kg single dose intraperitoneal injection of Erythropoietin, All rats were sacrificed at 48 hours after the trauma. The effect of Tadalafil on (malondialdehyd) MDA and (total antioxidant status) TAS values were studied. As a result MDA values were found to decrease significantly when compared to the trauma group, TAS values were found to increase significantly when compared to the trauma group. Results showed that tadalafil and erythropoietin, might reduce secondary injury in damaged rat spinal cord tissue.

Key Words: tadalafil, erythropoietin, spine cord trauma

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLOLAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Omurilik Embriyolojisi	2
2.2. Omurilik Anatomisi	4
2.3. Spinal Travmanın Tarihçesi	10
2.4. Spinal Travmanın Epidemiyolojisi	10
2.5. Deneysel Spinal Travma Modelleri	11
2.6. Spinal Kordun Yaralanma Mekanizması	15
2.6.1 Birincil Yaralanma	15
2.6.2 İkincil Yaralanma	15
2.7. Spinal Kord Travmasının Patofizyolojisi	16
2.7.1 Sistemik Vasküler Değişiklikler	17
2.7.2 Hücre İçi Elektrolit Dengesi	18
2.7.3 Apoptozis	19
2.7.4 Lipit Peroksidasyonu Ve Serbest Oksijen Radikalleri	23
2.7.5 Eksitoksisite	23
2.7.6 Nörotransmitterler	23
2.7.7 İmmün Cevap	24

	Sayfa
2.8. Spinal Kord Travmasında Farmokoterapi	26
2.8.1 Kortikosteroidler	26
2.8.2 Lazoroidler (21 Aminosteroidler)	27
2.8.3 Opioid Reseptör Antagonistleri	28
2.8.4 Gangliozidler	28
2.8.5 Tirotropin Salıcı Hormon (TRH) ve TRH Analogları	29
2.8.6 Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcıları	29
2.8.7 Kalsiyum Kanal Blokörleri	29
2.8.8 Sodyum Kanal Blokörleri ve Magnezyum	30
2.8.9 Araşidonik Asit Metabolizması Modülatörleri	30
2.8.10 Diğer Tedavi Denemeleri	30
2.9. Eritropoetin	31
2.9.1 Yapısı ve fizyokimyasal özellikleri	31
2.9.2 Yapım yeri ve etki mekanizması	32
2.9.3 Eritropoetin reseptörleri	34
2.9.4 EPO farmakokinetiği ve metabolizması	35
2.9.5 EPO ve santral sinir sistemi	36
2.10.Tadalafil	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	40
3.1. Biyokimyasal Ölçümler	45
4. BULGULAR	46
4.1. İstatistiksel Yöntem	46
4.2. Sonuçlar	46
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

AMPA	Amino Hidroksil Metilizaksolon Propiyonik Asit
APAF-1	Apopitoz Proteaz Aktive Edici Faktör-1
ATP	Adenozin Trifosfat
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BFU-E	Küme şekillendiren eritroid ünitesi
CFU-E	Koloni şekillendiren eritroid ünitesi
C	Servikal
Ca	Kalsiyum
CAPE	Kafeik Asit Fenil Eter Esteri
cGMP	Siklik Guanozil Monofosfat
CPP	3-propil-1-Fosforik Asit
EAA	Eksitator Amino Asitler
EPO	Eritropoietin
FADD	Faz Bağımlı Domain Proteini
Fe +	Demir
FeOH ₃ ⁺	Ferril Radikal
Fe ²⁺ -O ₂	Perferril Radikal
GM-1	Gangliozid Monosialotetraheksosilgangliozid
G-CSF	Granülosit stimülatör faktör
HO ₂	Perhidroksi Radikali
HO- ₂	Hidroperoksit Radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
İP	İntraperitoneal
İV	İntravenöz
K	Potasyum
KBY	Kronik böbrek yetersizliği
L	Lomber
M-CSF	Makrofaj koloni stimülatör faktör
MDA	Malondialdehid
MK-801	Dizocilopine

NA	Sodyum
NASCIS	The National Acut Spinal Cord Injury Study
NMDA	N-methyl D-Aspartate
OH	Hidroksil Radikal
O ₂	Süperoksit Radikal
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PDE 5	Fosfodiesteraz Tip 5
PGI ₂	Prostasiklin
PMNL	Polimorf Nüveli Lökositler
PSS	Periferik Sinir Sistemi
R-hEPO	Rekombinant insan eritropoetini
ROO	Organik Peroksi Radikal
S	Sakral
SD	Standart Sapma
SOD	Süperoksit Dismutaz
SSS	Santral Sinir Sistemi
T	Torakal
TAOK	Toplam Antioksidan Kapasite
TAS	Total Antioksidan Status
TICAM	Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
TM	Tirilazad Mestilat
TRADD	Tümör Nekrozis Faktör Aracılı Domain
TRH	Tirotropin Salıcı Hormon

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1 20 Günlük Embriyo Görünümünün Şematize Edilmiş Hali	3
2.2 İntrauterin 5½ Haftada Omuriliğin Transvers Kesiti	5
2.3 Omuriliği Saran Omurganın Dizilimi; Yandan, Önden ve Arkadan görünümü	5
2.4 Medulla spinalis ve spinal sinirlerin anatomik ilişkisi	6
2.5 Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar(8).	9
2.6 Akut spinal kord travmasının patofizyolojik sürecin şematize edilmiş hali.	17
2.7 Apopitoz ve antiapopitotik mekanizmalar	22
2.8 Spinal kord travmasındaki patofizyolojik olaylar.	25
2.9 Tadalafilin yapısı	38
3.1 Cerrahi kesi öncesi sıçanın sırt kısmının tıraş yapılıp antisepti sağlanması.	42
3.2 Çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçilmesi.	42
3.3 Laminektomi sonrası açığa çıkarılan medulla spinalis.	43
3.4 Klip kompresyon yönteminde ile anevrizma klipi kullanılması.	43
3.5 Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu.	44
3.6 Alınan doku örnekleri	44

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1 Travmatik omurilik hasarını epidemiyolojisi	12
2.2 Deneysel akut spinal travma modelleri	14
4.1 Gruplara göre ortalama TAOK istatistik değerleri	46
4.2 Serum ve doku TAOK ortalama değerlerinin dağılımı	47
4.3 Gruplara göre ortalama MDA istatistik değerleri	47
4.4 Serum ve doku MDA ortalama değerlerinin dağılımı	48

GİRİŞ

“Boyun omurlarında kayma olan bir adamı muayene ettiğinde kolları ve bacaklarını hareket ettiremediğini görürsün. Ereksiyon halindeki penisinden idrar damlamaktadır ve adam bunun farkında değildir. Böyle bir adamı muayene ettikten sonra sunu demek zorundasın tedavisi olmayan bir hastalık.”

Edwin Smith Surgical Papyrus(M.Ö.2500). (1930’da Breasted tarafından tercüme edilmiştir.)

Omurilik hasarı yani omurilik yaralanması ile ilgili ulaşılabilen ilk bilgiler MÖ 2500–3000 yıllarında yazılmış olan Edwin Smith Cerrahi papirüsünde yer almaktadır. Papirüste omurilik yaralanması ‘tedavisi olmayan hastalık’ olarak tanımlanmıştır (1). Özellikle son yıllardaki teknolojiye gelişmeler, laboratuvar çalışmaları ile elde edilen biyomekanik, histopatolojik ve moleküler veriler ve bilgiler sayesinde omurilik yaralanması olan hastaların travma sonrası ortalama beklenen yaşam süresinin 38 yıl olduğunu bilmekteyiz (2).

Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gelişebilir. Mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hasar mekanizması ise daima birincil hasardan hemen sonra çalışmaya baslar. Yaralanmadan sonra başlayan bu ikincil hasar döneminin durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır (3). İkincil yaralanma, travmayı takip eden sistemik vasküler değişikliklerin, hücresel iyon konsantrasyonlarının ve biyokimyasal olayların, apoptozisin, ekzositotoksitenin, nörotransmitterlerin, lipit peroksidasyon ürünlerinin ve serbest oksijen radikallerinin, immün cevabın ve enerji metabolizmasının rol aldığı kompleks kaskat olaylar dizininin sonucudur (4). Yaralanmadan sonra başlayan bu ikincil hasar döneminin durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır (5).

Bu çalışmada travmatik omurilik yaralanmasının deneysel modeli oluşturularak, , erektil disfonksiyonun semptomatik tedavisinde kullanılan tadalafilin ve rekombinant DNA teknolojisiyle geliştirilen bir hormon olan eritropoetin, spinal kord yaralanmasında tedavi edici etkinlikleri araştırılmaya çalışılmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1 Omurilik Embriyolojisi

Sinir sisteminin gelişmesi embriyonik diskin oluşması ile başlar. Sinir sistemi, ektoderm katmanından meydana gelir. Disk ektodermini çember şeklinde kuşatan bölümler sinir sisteminin özgül parçalarının oluşmasına katkıda bulunmak için önceden programlanmıştır. Embriyonik gelişmenin 18. gününde nöral plak, tüp ve tepe oluşur. Önce, blastoporun önünde yer alan orta hat notokord dokusu, üzerinde yer alan baş uzantısının kalınlaşmasını ve bir nöral plak halini almasını indükte eder. Daha sonra plak üzerinde midsagittal bir nöral hendek belirir ve bunun her iki yanında yer alan ektodermal doku, nöral tepenin nöral katlar halinde zeminden yüksek bir yapı haline dönüşmesini sağlar. Bu katlar ise daha sonra orta hat üzerinde bir nöral tüp yapmak üzere birbirleriyle kaynaşırken aynı anda tüp köken aldığı ektodermden ayrılır. Katların kenarlarındaki bazı hücreler nöral tüp duvarına veya yeni oluşan tüpün üstünü örten yüzeyel ektoderme katılmaz ve bu hücreler nöral tepe hücreleri halini alır (6).

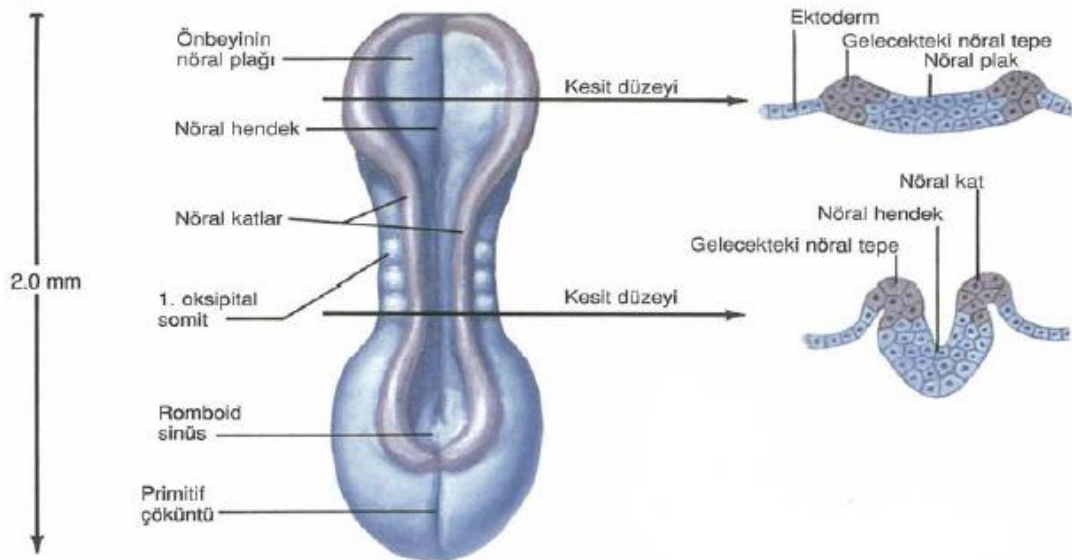
Nöral tüp oluşurken bunun lümeninin her iki yanında boylamasına bir hendek olan oluk limitans belirir ve tüpü bir dorsal yarı (alar plak) ile bir ventral yarıya (bazal plak) böler (6).

Omurilikte temel üç bölgeli kalıp erişkinde de korunur. Ependimal bölge merkez kanalın lümenini kaplayan silindirik hücreler halinde korunur. Manto bölgesi hücreleri gri cevheri yaparken marjinal bölgenin hücreleri beyaz cevher haline dönüşür. Gri cevher, beyaz cevher ile sarılı "H" harfi şeklinde bir kütle görünümü kazanır (6).

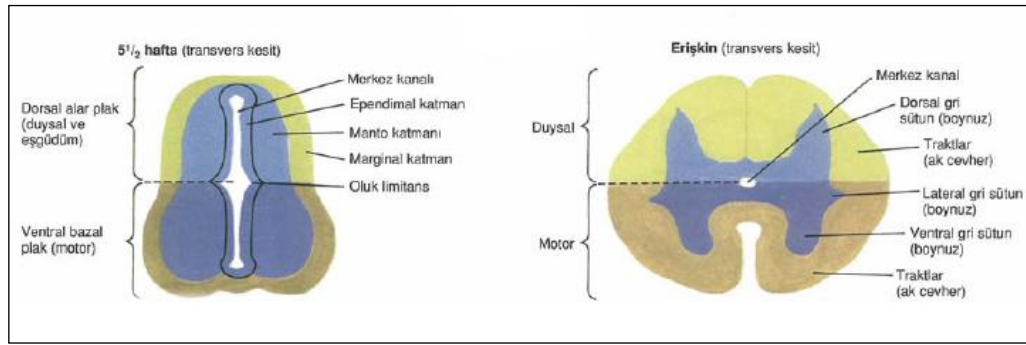
Sinir sisteminin alar ve bazal plaklara bölünmesiyle oluşan kalıbı izleyerek gri cevherin arka sütun nöral hücreleri (alar) duysal işlevler ile ilgilenirken yan-ön gri sütunlardaki hücreler (bazal) motor işleve sahiptir. Beyaz cevherin büyük bölümünde destek nöroglıyanın serpiştirilmiş hücre gövdeleri bir yana bırakılırsa nöral hücreler bulunmaz. Bu dokuyu omurilik ve beynin tüm düzeylerine yerleşmiş nöronlardan çıkan akson demetlerinin yaptığı çeşitli traktuslar ve funikuluslar oluşturur (6).

Geleceğin duysal hücreleri nöral tepeden göç eder ve omuriliğin iki yanında, bunun her segmenti için tek bir ganglion yapmak üzere omurilik boyunca kümelenir. Bu hücreler unipolar hücrelere dönüşürken merkezi uzantıları, manto katmanının dorsal gri sütunundaki nöronal hücre gövdeleri üzerinde sonlanmak üzere nöral tüp içine doğru büyür. Eş zamanlı olarak periferik uzantılar, omuriliğin aynı segmentine ait motor kök lifleri veya aksonların yanı sıra, aynı bağ dokusu kılıfı ile sarılmak üzere distale doğru büyür; bu bileşim bir spinal siniri oluşturur (6).

Gelişme hızlarının farklı olması nedeni ile, omuriliğin ucu ile omurganın ucu arasındaki ilişki gelişmenin devam etmesi ile değişikliğe uğrar. Doğum sırasında omurilik ikinci lomber omur hizasında son bulmaktadır (6). Embriyolojik gelişim Şekil 2. 1 ve Şekil 2. 2' de gösterilmiştir.



Şekil 0.1 20 Günlük embriyo görünümünün şematize edilmiş hali



Şekil 0.2 İnteruterin 5½ haftada omuriliğin transvers kesiti

2.2 Omurilik Anatomisi

Medulla spinalis, foramen occipitale magnumdan başlayarak canalis vertebralis içersinde kaudale doğru uzanan santral sinir sistemi kısmıdır. Uzun bir silindir şeklinde olan medulla spinalis, yeni doğanda üçüncü lumbal vertebra, erişkinde ise birinci lumbal vertebranın alt kenarı hizasında sonlanır. Erkeklerde kadınlara göre biraz daha uzun olan medulla spinalisin boyu, erişkin bir erkekte ortalama 45 cm. civarındadır. Medulla spinalis, foramen occipitale magnum seviyesinde medulla oblongata ile devam eder (7).

Medulla spinalisi saran zarlar, beyini saran zarların devamıdır. Bunlar, medulla spinalis çevresinde dıştan içe doğru dura mater spinalis, arachnoidea mater spinalis ve pia mater spinalis adını alır. Dura mater spinalis ve arachnoidea mater spinalis ikinci sakral vertebra seviyesinde kapanır. Pia mater spinalis, medulla spinalis alt ucunda kapanır ve bu seviyeden sonra filum terminaleyi oluşturur. Filum terminale, ikinci sakral vertebra seviyesinden itibaren dura mater ile birleşerek lig. Koksegeum adını alır ve koksikse yapışarak sonlanır (7).

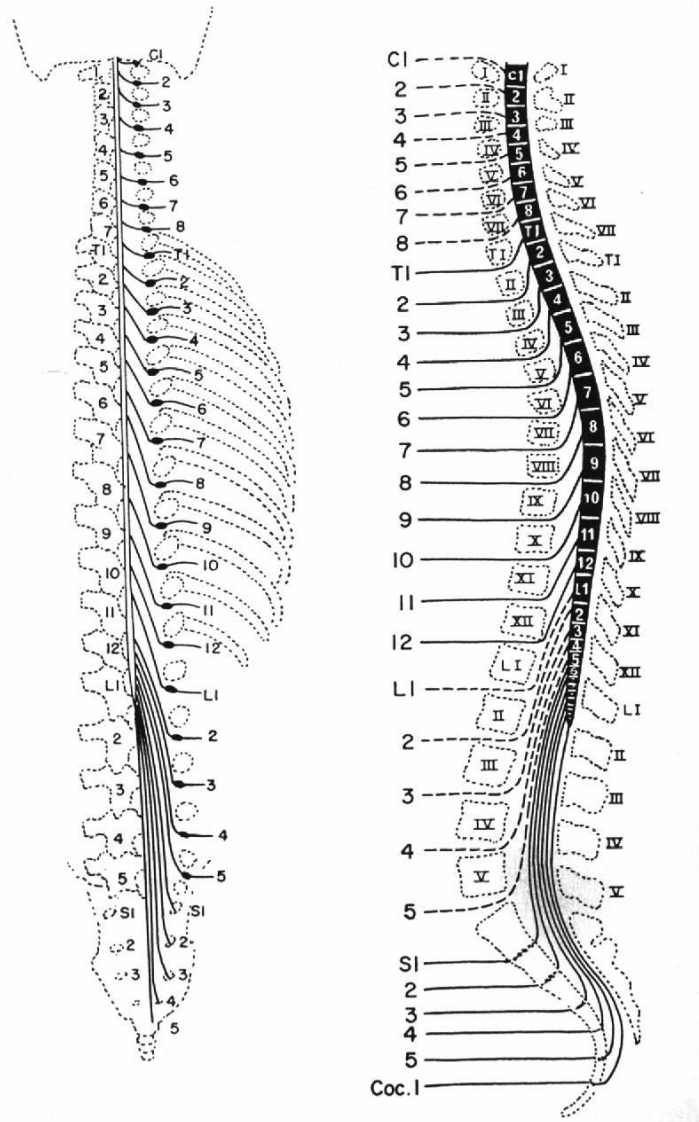
Medulla spinalisin ön ve arka tarafında longitudinal yönde seyreden oluklar vardır. Bunlardan ön taraftaki daha derin olup fissura mediana anterior, arka taraftaki ise sulkus medianus posterior adını alır. Bunlardan başka medulla spinalisin sağ ve sol tarafında, ön-dış yüzlerinde sulkus anterolateralis, arka-dış yüzlerinde sulkus posterolateralis adı verilen birer çift oluk daha vardır. Aşağıda Şekil 0.3'te omurganın anatomik yapısı izlenmektedir.



Şekil 0.3. Omuriliği saran omurganın dizilimi; yandan, önden ve arkadan görünümü

Spinal sinirler: Simetrik olarak düzenlenmiş omurilikten 31 çift (8 servikal, 12 torasik, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal) spinal sinir bulunmakta olup bunlar omuriliğe sinir köklerini yapmak üzere kümelenmiş ventral ve dorsal sinir kökçükler veya filamentlerin yaptığı lineer bir dizi halinde bağlanmıştır. Her dorsal spinal sinir kökü üzerinde oval bir genişleme olan spinal (duysal) ganglion bulunur. Erişkinlerde,

üt servikal bölge bir yana, omurilik segmentleri karşılıkları olan omurdan değişik derecede daha yukarıda yer alır. Bu segmentler vertebral spinöz uzantılara göre konuşlandırılır. Omurilik segmentlerinin omur segmentlerine göre bu yer değişikliğine uğramaları, neden servikal genişleme yaklaşık olarak kendisine karşılık gelen hizada iken lomber genişlemenin son üç torasik omur hizasında olduğunu açıklar. Omuriliğin alt kısmına bağlanmış sinir kökleri dışarı çıkış noktalarına kadar kauda ekina olarak aşağı inmektedir (8). Medulla spinalis ve spinal sinirlerin anatomik ilişkisi şekil 2. 4'te gösterilmiştir.



Şekil 0.4 Medulla spinalis ve spinal sinirlerin anatomik ilişkisi

Medulla spinalis iç yapısı: Omurilik bir dış lif katmanı olan beyaz cevher ile sarılmış nöropil bir nüve olan gri cevherden yapılmıştır. Gri cevher spinal nöronların hücre gövdeleri ve dendritleri ile bunlardan çıkan veya bunların üzerinde sonlanan aksonlar ve akson sonlanmalarından kuruludur (8).

Beyaz cevher, boylamasına giden lif traktlarının aksonlarından kurulmuştur (8). Merkezi sinir sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi medulla spinalisin beyaz cevheri, sinir lifleri, nöroglia ve kan damarlarından oluşmuştur. Gri maddeyi çevreler ve myelinli sinir liflerinin yüksek oranda bulunması nedeni ile beyaz olarak görülür (9). Gri ve beyaz cevher sınırları farklı omurilik seviyelerinde farklı şekildedir. Beyaz cevher servikal bölgede görece kalın olup aşağı indikçe kütlesi giderek azalır. Gri cevher ise servikal ve lomber genişlemelerde en fazla gelişmiş olup buralar ekstremitelerin motor ve duysal işlevlerine katılan nöronlardan yapılmıştır Bu genişlemeler; intumescentia servikalis ve intumescentia lumbosakralis adı verilen fuziform genişlemelerdir (8).

Gri madde, sinir hücreleri uzantıları, nöroglia ve kan damarlarından oluşur (9). Kolumna anteriorda sinir hücrelerinin çoğu büyük ve multipolardır. Aksonları spinal sinirlerin ön köklerinden iskelet kaslarını innerve eden alfa afferentler olarak çıkarlar. Daha küçük olanlar nöromuskuler içciklerin intrafusul kas liflerini innerve eden gamma efferentler olarak çıkarlar. Medial grup, çoğu segmentte bulunur, boyun ve gövdenin iskelet kaslarının innervasyonundan sorumludur; santral grup bazı servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur (nucleus nervi phrenici, n.nervi accesorii, n.lumbosacralis); lateral grup, servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur ve iskelet kası innervasyonundan sorumludur (9). Enine kesitte gri madde, kanalis sentralisi içeren komissura grisea ile birbirine bağlanmış kolumna anterior ve kolumna posteriorlardan oluşan bir "H" harfi şeklinde görülür. Torasik ve üst lomber segmentlerinde küçük bir kolumna lateralis bulunur (9). Kolumna posteriora 4 sinir hücre grubu vardır. Substansiya jelatinoza kolumnanın apeksinde bulunur, ağrı-ısı ve dokunma ile ilgili afferent alır. Nukleus proprius, omurilik boyunca posterior kolumnada bulunan hücrelerin ana kitlesini oluşturur, pozisyon, hareket duygusu, iki nokta ayrımı ve vibrasyon duygusu ile ilgili lifler alır. Nukleus dorsalis (Clark sütunu), 8. Servikal segmentten 3. ve 4. lomber segmente uzanır, proprioseptif sonlanmalarla ilgilidir. Visseral afferent çekirdek; 1.torasik segmentten 3. Lomber segmente uzanır,

visseral afferent bilgi alımı ile ilgilidir (9). Kolumna lateralis, 1.torasik segmentten 2. veya 3. Lomber segmente kadar uzanır. Preganglionik sempatik lifleri verir. 2. 3. ve 4. sakral segmentlerde bu lifleri veren benzer bir hücre grubu bulunur (9).

Kanalis sentralis, medulla spinalis boyunca bulunur. Yukarıda m.oblongatanın distal yarısının kanalis sentralisi ile devam eder ve 4. Ventrikül boşluğuna açılır. Aşağıda konus medullaris içinde ventrikulus terminalis olarak genişler, filum terminalenin kökü olarak sonlanır. BOS ile doludur ve ependim denilen silialı kolumnar epitel ile döşelidir (9). Rexed adlı araştırmacı tarafından medulla spinalis gri cevherinin belirli bir laminasyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışmalar dokuz özgün laminasyonun bulunduğunu göstermiştir. Bunlar kornu posteriordan anteriora doğru romen rakamları ile ifade edilir. Kanalis sentralis etrafındaki bölge ise lamina X olarak tarif edilmektedir (10).

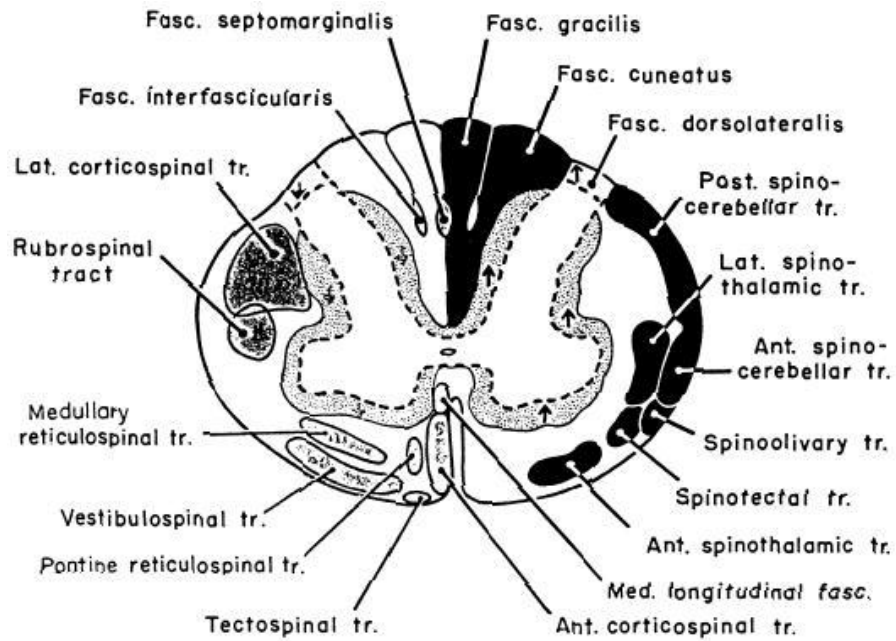
Beyaz cevher funikulus anterior, lateralis ve posterior olarak bölünebilir. Anterior, her iki taraf orta hat ile ön sinir kökü çıkışı arasında; lateralis, ön sinir kökü çıkışı ile arka sinir kökü girişi arasında; posterior, arka sinir kök girişi ile orta hat arasında yer alır (9). Çıkan yollar arasında vücudun alt ve üst parçalarından ince, ayırtedici duyuları taşıyan fasikulus grasilis ve fasikulus kuneatus yer almaktadır. Daha az ayırtettirici, daha yüksek eşiğe sahip duyular ön ve yan spinotalamik traktlar tarafından taşınmakta olup bu ikincisi ağrı ve sıcaklık duyularının taşınmasında özellikle önemlidir. Refleks aktivitesi ve motor denetime yakından katılan diğer çıkan yollar arasında arka ve ön spinoserebellar traktlar ile spinooliver, spinotektal ve spinoretiküler traktlar bulunmaktadır (8). İnen yollar iki gruba ayrılabilir;

Birinci grubun içinde kortikospinal traktlar ile rubrospinal trakt yer alır. Bu grup omuriliğin ekstremitelerin distal kaslarını denetleyen nöronları içeren dorsolateral bölgelerinde tercihan sonlanır. Bu traktların harabiyeti ekstremitelerin ince kademeli kontrolünün kaybı ile sonuçlanır (8).

İkinci grup içinde medial longitudinal fasikulus içinde seyreden ve omuriliğin ventromedial bölgelerinde tercihan sonlanan ön ve yan retikülospinal traktlar, tektospinal trakt, yan ve medial vestibülospinal traktlar ve interstiospinal trakt bulunmaktadır. Bu bölgeler aksiyal ve proksimal ekstremiteler kaslarını denetleyen nöronları içerir. Bu yolların harabiyeti postür ve doğrulma bozuklukları ile sonuçlanır. Motor etkilerine ek olarak inen yolların her iki takımı da duysal iletimi

spinal yollar tarafından modülasyona uğratan lifleri de içerir (8).

Propriospinal yollar: Bazıları omuriliğe arka kökler yoluyla giren ve daha sonra omuriliğin diğer düzeylerindeki spinal nöronlar üzerinde sonlanmak üzere oval şerit, virgül trakt, dorsolateral fasikulus (Lissauer), fasikulus gracilis veya fasikulus kuneatus içinde çıkan veya inen afferent liflerden kurulmuştur. Diğer propriospinal lifler spinal gri cevherdeki ara nöronlardan kaynaklanır. Propriospinal lifler topluca omuriliğin farklı düzeydeki aktiviteyi koordine ve spinal reflekslere aracılık etmede önem taşımaktadır (8). Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar aşağıda Şekil 0.5 gösterilmiştir.



Şekil 0.5 Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar (8)

2.3 Spinal Travmanın Tarihçesi

Spinal travma sadece günümüzün değil çok eski çağlardan bu yana insanların karşılaştığı durumlardandır. Bu durum eski Mısırlılar tarafından bilindiği gibi

grekoromen dönemde de incelenmiştir. Edwin Smith papirusları omurga kırıklarının belirtildiği ilk belgelerdir. Bu belgenin Firavunların özel hekimi Imhotep (MÖ 2686-2613) tarafından yazıldığı sanılmaktadır. Bu belgede altısı omurga kırığı olmak üzere toplam 48 olgudan bahsedilmiştir (11). Grekoromen dönemde de spinal travmalar üzerinde durulmuştur. Bu dönem Hipokrat ile başlamış olup Celsus, Aretaeus, Galen Oribasius ve Aegina'lı Paulus dönemin ünlü tıp bilginleridir (12). Bu dönemde omurganın anatomisi, omurgaya yapışan kas ve tendonların yapısı, spinal dislokasyon, skolyoz ve posttravmatik kifoz tanımlanmıştır (12, 13).

Orta çağda yaşayan dönemin en önemli tıp adamı İbni Sina (981-1037) omurganın fonksiyonel anatomisi üzerinde durmuş ve Hiokratın kullandığına benzer traksiyon sistemleri kullanmıştır (14).

17. ve 18. yüzyıldan başlayarak günümüze kadar giderek artan bir ivme ile omurga ve omuriliğin ayrıntılı anatomisi, biyomekaniği, histolojisi ve fonksiyonel aktivitesi öğrenilmiştir.

2.4 Spinal Travmanın Epidemiyolojisi

Omurilik yaralanması ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar metotlardaki farklılıklar, çalışma yapılan toplumun sosyo-ekonomik düzeyi gibi farklılıklardan dolayı değişiklik göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde travmatik omurilik yaralanması insidansı yaklaşık olarak milyon popülasyonda 40'dır (15). Gene Birleşik Devletler'de yapılan hesaplamalara göre 25 yaşındaki bir omurilik yaralanmalı hastanın yaşam boyu sağlık harcama maliyeti 2,8 milyon dolar (16), omurilik yaralanmasına bağlı yıllık toplam sağlık harcama masrafı da 9,7 milyon dolar olarak bildirilmiştir (17).

Yukarıda belirtildiği gibi omurilik yaralanması ile ilgili insidans oranları, çalışmanın yapıldığı ülke ve bölgeye değişiklikler göstermektedir. Bunun nedeni toplumların alışkanlıkları, travma nedenleri ve sıklığı gibi sebeplere bağlı olduğu gibi yapılan araştırmalardaki metodolojiye, çalışmaya dahil edilen ya da edilmeyen hasta popülasyonuna bağlı olmaktadır. Ülkemizde yapılan sınırlı epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde Karamehmetoğlu ve arkadaşları, travmatik omurilik yaralanması insidansını milyon popülasyonda İstanbul için %21, kırsal alan - güneydoğu illeri için %16.9 olarak bildirmişlerdir (18,19). Karacan ve ark. 2000 yılında yayımlanan

çok merkezli, anketli, ulusal epidemiyolojik çalışmasında bu oran yine milyon popülasyonda %12.7'dir (20). Kanaatimize göre ülkemizdeki bu omurilik yaralanması insidans oranı, gerek kayıt ve takip sistemimizin zayıflığından ve gerekse kendi kliniğimizdeki vakalarımızdan dolayı çok daha fazla olduğunu düşünmekteyiz. İrlanda'da yapılan son çalışmada, dört yıllık bir takip süresi sonucu insidans oranı %19.54/100 000 kişi/yıl olarak sunulmuştur (21). Wyndaele' nin hazırladığı ayrıntılı gözden geçirme çalışması bu konudaki farklılıkları göstermektedir (22).

Prevelans çalışmalarını incelediğimizde ise literatürde bu bilgilerin daha sınırlı olduğunu görmekteyiz. O'Connor Avustralya'daki prevelansını milyon popülasyonda 681, Dahlberg ve ark. Helsinki Finlandiya' da bu oranı 280 olarak bildirmişlerdir (23,24). Birleşik Devletlerde omurilik yaralanması prevelansı 2004 yılı için 250,000 kişi olarak düşünülmektedir (25). Ülkemizde ise bu konuda ayrıntılı bir çalışma maalesef bulunmamaktadır.

Omurilik yaralanmasının yaş, cinsiyet dağılımını incelediğimizde bu hastalığın genelde orta yaş ve erkeklerde daha sık olduğunu görmekteyiz. Ülkemizde Karaca ve ark. tarafından yapılan çalışmada erkek/kadın oranı 2.571 ve ortalama yaş 35.5 ± 15.1 olarak bildirilmiştir. Yaş dağılımı incelendiğinde ise 20-29 ve 30-39 yaş arasında yoğunluk vardır. Gene aynı çalışmanın verilerinden etyolojik faktörleri incelersek; trafik kazaları %48.8, düşme %36.5, kesici delici alet yaralanması %3.3, ateşli silah yaralanması %1.9 olduğunu görürüz (20). Omurilik yaralanmasının oluş mekanizması ve etyolojik sebepler itibariyle bu oranlar farklı toplumlarda farklı epidemiyolojik oranları meydana getirir. Örneğin Bangladeş'te bildirilen bir incelemede etyolojide en sık travma nedeni yüksekte düşme ve başının üzerinde ağırlık taşımadır. İrlanda'da ise binicilik sporu ve attan düşme etyolojide daha yüksek orana sahiptir (21). Travma oluş mekanizmasının değişmesi ya da osteoporoz gibi altta yatan patolojik ve dejeneratif sürece bağlı olarak ileri yaşlarda düşmeye bağlı omurilik hasarı etyolojide ilk sırayı almakta ve bayanlarda daha sıklıkla görülmektedir.

Omurilik yaralanmasında en sık oluşan hasar servikal bölgededir. Bunu torakolomber ve lumbosakral bölgeler izler (25). Nasıl ki etyoloji ile yaş ve benzer parametreler içi içe ise lezyon seviyesi ile meydana gelen hasar da iç içedir. Üst

seviyedeki lezyonlar komplet, alt seviyedeki lezyonlar inkomplet yaralanmaya neden olur. Zileli ve ark.'larının 1982-1997 yılları arasında kendi kliniklerine başvuran hastalarda yaptıkları çalışmada, servikal bölge travmasında alt servikal bölge travma görülme oranı %78.5, üst servikal bölge travma görülme oranı %21.5 oranı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 42 hastanın 93 ünde tam omurilik hasarı, 55'inde kısmi omurilik hasarı, 28 hastada santral omurilik hasarı, 20 hastada anterior omurilik hasarı, 8 hastada Brown-Sequard sendromu tespit edilmiştir (26).

Tüm bu anlatılanlar altında omurilik yaralanması ile ilgili epidemiyolojik bilgiler Tablo 2.1' de gösterilmiştir.

Tablo 0.1 Travmatik omurilik hasarını epidemiyolojisi.

İnsidans: Yaklaşık 11,000/yıl
Prevelans: 200,000-250,000
Ortalama yaş: 32.1
Cinsiyet: %80.5 erkek
Etyoloji: Motorlu araç kazaları (%38.5); ateşli silah yaralanmaları; düşmeler; sportif ve diğer kazalar

2.5 Deneysel Spinal Travma Modelleri

Akut spinal kord travmasında tedavi edici yeni yaklaşımların geliştirilebilmesi için insan travma modeline benzer, uygulaması kolay ve aynı zamanda standardize edilebilir hayvan travma modellerine ihtiyaç vardır. Oluşturulan hayvan spinal kord travma modeli, insan spinal kord travmasının biyomekanik özelliklerine benzer olmalı, travma sonrası omurilikte benzer morfolojik ve patolojik özellikleri gösterebilmeli ve deneysel tedavi protokolleri sonrasında gelişecek fonksiyonel iyileşme insanlarda görülebilecek iyileşmeye benzer özellikler gösterebilmelidir.

İnsanlarda travmatik spinal kord travmalarının çok büyük bir kısmını, omurganın ya da intervertebral diskin travmaya bağlı olarak dislokasyon fraktürü ya da patlama kırığı oluşturur. Buna bağlı olarak spinal kord üzerine akut kompresyon veya laserasyon oluşmaktadır (27).

Dolayısı ile deneysel spinal kord travma modellerini oluşturmak için daha çok kompresyon tipi esas alınarak çeşitli travma modelleri geliştirilmeye çalışılmıştır (28).

Spinal kord yaralanmaları ile ilgili ilk çalışma 1890 ve 1897 yıllarında Lundberg tarafından yapılmıştır. Standardize edilmiş ilk model çalışma ise 1911 yılında Allen ve ark. (29) tarafından gerçekleştirilmiştir. *Ağırlık düşürme modeli* olarak tanımlanan bu modelde, dura üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık tüp içinden düşürülmüş, böylelikle travma oluşturulmuştur. Bu modelin en büyük dezavantajı, posterior kord kompresyonu oluşturmasıdır. Ancak insanlarda, anterior kord kompresyonu daha sık görülür. Ağırlık düşürme modelinin farklı sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. Daha sonra çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilen modellerin çoğu gerçekte Allen'in oluşturduğu modelin modifikasyonlarıdır (30, 31,32).

Günümüze kadar epidural aralığa parafin enjeksiyonu, klemp ya da parmak ile kord kompresyonu, bone wax (balmumu) kullanımı, forceps ile kordun travması, balon kompresyon modeli gibi çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (33, 34, 35, 36, 37). Aşağıda tablo 2.2'de akut spinal travma modelleri yer almaktadır.

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde ise omurilik çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede değişen şiddet ve zamanla travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir (38,39).

Bu modelin avantajı omuriliğin tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (40).

Tablo 0.2 Deneysel akut spinal travma modelleri

<p>A. Travmatik yaralanma</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Akut kinetik kompresyon: kaf, klip, balon, impaktör 2. Akut statik kompresyon: ağırlık uygulama 3. Çarpma veya ağırlık düşürme 4. Akselerasyon-deselerasyon 5. Distraksiyon 6. Transsekiyon <p>B. Non-travmatik yaralanma</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. İskemi 2. Tümör kompresyon 3. Kimyasal ve fotokimyasal 4. Laser indüksiyon
--

Deneysel spinal kord yaralanması oluşturulan hayvanlarda, iyileşmenin takibi amacıyla birçok parametre geliştirilmiştir (42).

Bu parametrelerden biri olan Tarlov sistemi, klinik nörolojik muayenenin derecelendirilmesi esasına dayanan, subjektif bir yöntemdir (43). 1977 yılında Rivlin ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve objektif bir test olan Inclined Plane (eğik düzlem) ise, hayvanın eğik bir düzlem üzerine yatay pozisyonda yerleştirilmesinden sonra, düzlemin zeminle olan acısı giderek arttırılır; hayvanın 5 saniye süresince devrilmeden durabildiği en yüksek açı, o hayvanın Inclined Plane-eğik düzlem derecesi olarak belirlenir (42, 44).

2.6 Spinal Kordun Yaralanma Mekanizması

Bugün artık kabul edilmektedir ki spinal travmanın oluş mekanizması ve devam eden patofizyolojik süreç birincil ve ikincil hasar mekanizması şeklinde yer almaktadır. Travmanın şiddeti ve oluş şekline bağlı olarak ortaya çıkan omurilik yaralanmasına birincil yaralanma denir. Birincil yaralanmadan sonraki saatler ve günler içerisinde bir dizi biyokimyasal ve fizyopatolojik sürece bağlı olarak gelişen medulla spinalis yaralanmasına ise, ikincil yaralanma denir (45).

2.6.1 Birincil Yaralanma

Birincil yaralanma genellikle hareketli omurga segmentinin dislokasyonu ya da kemik fragmentlerinin yer değiştirmesine bağlı olarak spinal kord üzerine künt kompresyon sonucu meydana gelen nöron ve aksonlardaki mekanik hasarlanmadır (27). İnsan spinal kord travmalarının çok büyük bir kısmında kordun tam kesisi yoktur. Başlangıçtaki dinamik kord kontüzyonundan uzun dönemde devam eden kord kompresyonuna kadar devam eden gidişatı vardır. Birincil yaralanmayı sonucu oluşan morfolojik ve klinik sonuçlar, spinal kord üzerine etki eden kompresyon gücüne, kompresyonun süresine, kordun yer değiştirme durumuna ve derecesine, etki eden kuvvetlerin asselerasyon derecesi ve travma anında kord tarafından absorbe edilen kinetik enerji miktarına bağlı olarak değişir (4, 46, 47). Travma doğası gereği eğer travma gerçekleşmiş ise birincil yaralanma önlenemez olarak öngörülmektedir.

2.6.2 İkincil Yaralanma

İkincil yaralanma modeli ilk olarak Allen 1911 yılında yaptığı çalışma sonucuna ortaya konulmuştur. Allen spinal travma oluşturduğu köpeklerde, posttravmatik hematomyelinin alınması ve myelotomi sonrasında nörolojik fonksiyonlarda iyileşme gözlemlemiştir. Bu sonuca dayanarak Allen, hemorajinin içinde bulunan bir biyokimyasal faktörün ilerleyici hasara yol açtığını teorize etmiştir. Günümüzde modern nörobilim, akut spinal kord travması sonrasında birçok kompleks, birbiri ile integre biyokimyasal ve moleküler olayların ilerleyici hücre hasarına ve ölümüne yol açtığını söylemektedir. Omurilik yaralanmasıyla oluşan patoloji, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalmaz. Kortikospinal inen yollardaki nöronlar omurilikteki lokal yaralanmadan etkilenerek atrofi, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar oluşabilir (4).

2.7 Spinal Kord Travmasının Patofizyolojisi

Spinal kord travması sonrası oluşan akut kontüzyondan sonra ilerleyici patolojik değişiklikler oluşmaya başlar; bunlar hemoraji, ödem, nöronal nekroz, aksonal fragmantasyon, demyelinizasyon ve sonrasında kist formasyonudur (48,49). Elektron mikroskopisi ile yapılan çalışmalar sonucunda travma sonrası ilk beş dakikada gri madde venülleri etrafında eritrosit distansiyonu başlar (50). Bunu

takiben, travma sonrası yaklaşık on beşinci ve otuzuncu dakikalarda perivasküler alanda küçük kanamalar ve bazı aksonal değişikliklerin oluşması başlar (50). Travma sonrası birinci saatte anterior ventral horn hücrelerinde karakteristik kromotolizis ve iskemi görülür (51). Dört saat sonra santral bölgede hemorajik nekroz oluşmaya başlar ve nekroz merkezden periferine doğru ışınal olarak yayılmaya başlar. Işık mikroskopisinde de görüldüğü üzere beyaz cevherde, gri cevher birleşme zonundan başlayan ilerleyici ödem ve spongiform değişiklikler tespit edilir (52, 53). Aksonlarda mitokondri, nörofilament ve endoplazmik retinakülüm gibi birçok organelin dahil olduğu glandüler dissolüsyon ve sonucunda da hücrede şişme görülür (48, 49, 54, 55). Başlangıçta hasarlı bölgede polimorfnüveli hücre infiltrasyonu görülürken günler içerisinde makrofajların infiltrasyonu izlenir (56,57). Yaklaşık bir hafta içerisinde santral nekrotik alanda kistik değişiklikler oluşmaya başlar. Travma sonrası dördüncü haftada kronik değişiklikler oluşmaya başlayarak kistik kaviteler yerini astrositik gliozise ve demyelinizasyona bırakır (51).

Akut spinal travmanın patofizyolojisinde birbiri ile integre çok sayıda biyokimyasal ve moleküler kaskat sistemleri görev alır; bunlar sistemik vasküler değişiklikler, hücre içi elektrolit dengesi ve biyokimyasal değişiklikler, lipit peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri, apoptozis, eksitoksisite, nörotransmitterler, immün cevap ve enerji metabolizmasıdır (4). Spinal kordun travma patofizyolojisi aşağıda Şekil 2.6 'da şematize edilmiştir.



Şekil 0.6. Akut spinal kord travmasının patofizyolojik sürecin şematize edilmiş hali

2.7.1 Sistemik Vasküler Değişiklikler

Spinal kord travmasının erken sistemik etkileri şok, bradikardi, hipotansiyon ve azalmış kardiyak output şeklindedir. Meydana gelen bu sistemik değişikliklerin sebebi azalmış sempatik tonus ve parasempatik myokardiyak etkidir. Bozulmuş olan otoregülasyon sonucu bölgesel end-kapiller kan akımı, sistemik arteryal basınca karşı pasif direnç oluşturur ve akımı azaltır (4,58). Aynı zamanda noradrenalin, dopamin ve seratonin gibi nörotransmitterler vasospazm oluşmasını sağlar. Bu durumda kan akımı giderek azalır ve iskemik süreci hızlandırır. Kord hasarının ciddiyeti posttravmatik iske mi ve aksonal disfonksiyon ile koreledir (59). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda travma sonrasında hemodinamiğin kısa sürede bazal seviyelere getirilmesi nöroprotektif etki sağlamaktadır (60,61). Spinal şok süresince gerek intravenöz mayilerle gerekse dopamin, steroid gibi ajanların kullanımı ile vasküler

direncin azaltılıp hemodinamiğin, kısa sürede, yeniden sağlanması tavsiye edilmektedir (62).

2.7.2 Hücre İçi Elektrolit Dengesi

Omurilik yaralanmasından sonra subpiyal bölgede kalan aksonlarda fonksiyonel ileti bozular. Bu aksonlarda refraktör periyod uzar, yüksek frekanslı ileti bozular, aktivasyon eşiği yükselir, ısı bağımlı ileti bloğu olur ve ileti hızı azalır. Hızlı aktive olan K^+ kanalları, miyelin tarafından sarılmış olarak paranodal ya da internodal bölgelerde yerleşmiştir. Miyelin yaralandığında hızlı K^+ kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli K^+ denge potansiyeline yaklaşır ve aksonal ileti bloğu oluşur (63).

Santral sinir sisteminde (SSS)'de beyaz cevher yaralanmasında oluşan anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur. Na^+ kanallarından hücre içine Na^+ akar. İntrasellüler Na^+ konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, Na^+-Ca^{++} değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine zararlı miktarda Ca^{++} girişine neden olur (64).

Kalsiyum iyon konsantrasyonu ekstrasellüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmasında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetmezliği ve bunun neticesinde Na^+-Ca^{++} değiştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, hücre içine Ca^{++} iyon girişi olur. Ca^{++} iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktifleyerek hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Fosfolipazlar hücre membranını yıkılmasını sağlayarak araşidonat gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz, araşidonik asiti prostaglandinler ve lökotrienlere dönüştürür. Fosfatazlar nitrik oksit sentetaz gibi diğer enzimleri aktifler, ayrıca Ca^{++} iyon kanalları ve diğer iyon kanallarının çalışmasını düzenler. Hücreye Ca^{++} girişi ve serbest radikal oluşumu eş zamanlı olur ve sinerjistik etki gösterebilir. Ca^{++} iyonları mitokondrial respiratuar enzimlere bağlandığında elektron transportunu bozarak serbest radikal oluşmasına neden olurlar. Ca^{++} tarafından aktive edilen fosfolipazlar ve proteazlar oksijen serbest radikalleri ile birlikte membranı yıkılmasına ve araşidonik asitin serbestleşmesine neden olur. Bundan başka, kuvvetli

vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla Ca^{++} girişine neden olurlar (65).

2.7.3 Apoptozis

Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü, sekonder spinal kord hasarında çok önemli bir rol oynamaktadır. Aşağıda bahsedileceği üzere ekzotoksisite, serbest radikal salınımı, sitokinler gibi çeşitli uyarımlarla aktive olmaktadır. Bilindiği üzere hücreler iki şekilde ölmektedir; nekroz ve apoptozis (66,67).

Nekroz klasik bilgi ile hücrenin pasif olarak şişmesi, enerji kaybı, mitokondriyal hasar ve internal hemostazın bozulması ile karakterizedir. Bunların sonucuna membran lizisi ve hücre rüptürü gelişir. Ortama salınan sitoplazmik ürünler inflamatuvar yanıtın başlamasını tetikler (68).

Apoptozis ise nekrozun tersine hücrenin kendini öldürmesidir. Apoptozis terimi ilk kez Kerr ve ark. (69) tarafından 1972 yılında kullanılmıştır. Kerr fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını görmüş ve buna büzüşme nekrozu adını vermiştir (69). Bu olayın dokularda tek tek hücre kaybına sebep olduğundan latince ayrı düşmek anlamına gelen apoptozis denmiştir (69).

Apoptozis, doku dengesinde, farklılaşmada ve gelişmede önemli rol oynayan genetik olarak düzenlenen hücre ölüm şeklidir (70,71). Ayrıca dejeneratif hastalıkların gelişiminde de rol alır. Apoptozis protein sentezi ve enerji gerektiren hücrenin aktif ölümüdür (72). Apoptozis, önceleri hücre ölümünün fizyolojik bir şekli olarak düşünülmesine rağmen, patolojik hücre ölümüne de aracılık ettiği bilinmektedir (73,74). Apoptosis genetik olarak kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla regüle edilir (75,76). Embryonik gelişim esnasında nöronal hücre ölümünün bir formu olarak apoptozis uzun zamandan beri bilinmektedir. Apoptozis hücre intihar şeklidir ve hücre kendi kendisini aktif olarak yok eder. Bu olay nükleer büzülme ve DNA fragmantasyonu ile karakterizedir. Nekroza benzer olarak apoptozis de eksojen faktörlere bağlı olarak oluşur. Bunlar; radyasyon, hipertermi, eksitotoksinler ve serbest radikallerdir. Apoptozise giden hücre proteazlar tarafından otosindirime uğrar ve fagositler tarafından temizlenir. Bu olay inflamatuvar olay gelişmeksizin ortaya çıkar. Morfolojik olarak apoptozisin nekroza göre ciddi farkları

vardır. Bunlar; nükleusda kromatin kondensasyonu, nükleer büzülme ve DNA fragmantasyonudur. Membran ve organel yapıları korunur (76).

MSS'de apoptozis, hem nöronları hem de glial hücreleri etkiler (71, 76, 77,78). Glutamat, Ca⁺² iyonları, serbest radikaller (76), fas bağımlı protein faktorleri (76) ve hücreler tarafından salınan sitokinler ve nitroz oksitler apoptozisin oluşumundan sorumludur. Kato ve ark.(78) 1996 yılında, Qiu ve ark. 2001 yılında kontüzyon sonrası spinal korda görülen apoptozisi, Lee ve ark.(79) 2000 yılında kompresyon sonrası spinal kordda, Kato ve ark. 1997 yılında iskemik yaralanma sonrası spinal kordda, Grossman ve ark. 2001 yılında nöronlarda, Zurita ve ark.(75) 2002 yılında glial hücrelerde apoptozisi göstermişlerdir. İnflamatuvar hastalıklarda, nörodejeneratif durumlarda ve iskeminin sebep olduğu sinir sistemi hasarlarında son zamanlarda apoptozis büyük ilgi görmüştür (82, 83, 84,85).

Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü spinal kord travmasında önemli rol oynar ve glutaminerjik eksitotosisite, serbest radikal hasarı, sitokinler ve inflamatuvar yaralanma tarafından tetiklenir (86,87). Başlangıç yaralanmasından sonra spinal korda uygulanan travma ani fiziksel yaralanmaya neden olur. Günler ve aylarca süren doku yaralanması bu olayı izler. Sonuç olarak hücre nekroza veya apoptozise giderek son bulur (87).

Apoptozisin indüklenmesi için üç farklı yolak tanımlanmıştır (66,88):

Birinci yolakta ölü hücre reseptörlerin ve ürünlerinin prokaspaz-8'i indüklemesi ile başlayan bir yol vardır. Spinal kord travması sonrası oligodendrositlerde görülen apoptotik dejenerasyon ölüm reseptörleri fas ve p75 ile bağlantılıdır. Diğer sistemlerde de oligodendrositlerde olduğu gibi apoptozis oluşumunda fas ve p75 in sorumlu olduğu gösterilmiştir. Fas reseptörü ile fas ligand karşılıklı etkileşimi FADD (FAS bağımlı olum domain proteini) aracılığı ile olur ve bunun sonucunda da kaspaz-8 aktive edilerek apoptotik döngü başlar. Kaspaz-3, fas ve p75 in her ikisi ile de aktiflenen efektor kaspazdır.

İkinci yolak mitokondriyal apoptotik yoldur. mitokondri tarafından kontrol edilen apoptotik proteaz aktive edici faktor (Apaf-1) ve kaspaz-9 u içerir. Ko-faktör nükleotid trifosfat (d-ATP ve ATP) ile aktive edilen sitokrom c ve Apaf-1 birleşerek prokaspaz-9'u aktive eder. Aktive kaspaz-9 da kaspaz-3'u aktive ederek kaspaz kaskadı sürdürülür. Mitokondri normal şartlar altında ATP oluşturmak üzere sitokrom

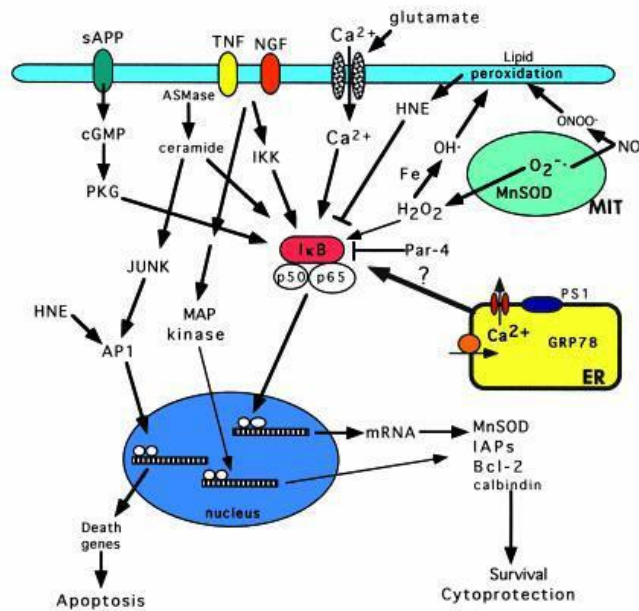
c ihtiva eder. Mitokondrial stres durumlarında serbestlenen sitokrom c apoptotik hücre ölümünde kaspaz-3 aktivasyonu için önemli rol teşkil eder (89,90).

Üçüncü yolak endoplazmik retikülüm aracılığı ile olan yolaktır. Endoplazmik retikülüm aracılı apoptotik yol, son zamanlarda amiloid 3 β nörotoksisitesine katkıda bulunan kaspaz-12 bağımlı endoplazmik retikülüm aracılı apoptotik yol tarif edilmiştir. Kaspaz-12 endoplazmik retikülden salınır. Son çalışmalar Ca^{+2} seviyelerinin ve kalpainin endoplazmik retikülümü etkilemesi ile prokaspaz-12 aktiflenir. Ayrıca kaspaz-7 salınımı ile de prokaspaz-12 salınımı arasında bir bağlantı bulunur (80, 91, 92). Aktiflenmiş kaspaz-12 sitoplazmaya yönelir. Kaspaz-9 ile karşılıklı olarak etkileşerek sitozolik kaspaz kaskadını aktive eder.

Apoptozisin gerçek anlamda tam olarak mekanizması anlaşılmasına rağmen apoptozis ile bağlantı kurulan en önemli olay hücre içi sistein proteazlarının yani kaspazların aktivasyonudur. Kaspazlar, apoptozisi aktive eden sinyaller tarafından tetiklenir (93). Kaspazlar, (cysteine-dependent aspartate-specific proteases) kalsiyum bağımsız sistein sınıfının en önemli bölümünü oluşturur (94,95). Proksimal veya başlatıcı kaspazlar, terminal veya efektor kaspazlar olmak üzere iki grupta incelenir. Başlatıcı kaspazlar 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10 ve 12 olmak üzere 8 adettir. Efektör kaspazlar ise, proteinazlar tarafından aktive olur ve kaspaz 3, 6, 7, 11, 13 olmak üzere 5 adettir (96,97). Apoptozisin efektor fazında önemli bir rol oynayan sistein proteaz ailesi kaspazlardır. Kaspaz 3'ün nöronal gelişim ve yaralanmada oldukça önemli olduğu gösterilmiştir (97). Bu proteazın bozulması nörolojik defektlere yol acar. Deneysel iskemi ve travmatik beyin yaralanması sonucunda nöronal hücre ölümüne kaspaz- 3 aktivitesi katkıda bulunur. Bu iki yaralanmada da kaspaz inhibitörleri apoptozisi azaltmakla kalmayıp ayrıca hayvanlarda fonksiyonel iyileşme ile sonuçlanmıştır (94, 96, 97, 98,99).

Günümüze kadar 14 kaspaz rapor edilmiştir. Merkezi sinir sistemi yaralanmasında görülen apoptozisde en önemli rol kaspaz 3'e aittir (100). Apoptozisin dış ve iç sinyallere bağlı olmak üzere iki yolu mevcuttur. Apoptozisin son fazı kaspaz 3 aktivasyonudur. Spinal kord yaralanmasını takiben nöronlar ve glial hücreler apoptozise giderler (95,101). Dış sinyallerle meydana gelen apoptozisde kaspaz kaskadı TNF- α 'nın TNFR1'e bağlanması ile başlar. TNF reseptor aracılı domain (TRADD) aracılığı ile ilerler ve trimerized ölüm indükleyici sinyal

kompleksi (DISC) oluşur. Bu da başlatıcı kaspazlardan prokaspaz 8 veya prokaspaz 10'a bağlanır. Kaspaz 8, travmatik beyin yaralanması sonrası görülen apoptozisde kaspaz 3 aktivasyonuna neden olur. Nöronal apoptozisde dış sinyallere bağlı kaspaz kaskadında kaspaz 8'e bağlı olarak bcl-2 ailesinden bid salınımı uyarılır. O da mitokondri aracılı sitokrom c salınımını başlatır (95,96). İç sinyallere bağlı kaspaz kaskadı ise mitokondri tarafından oluşturulur. Apoptotik uyarıları alan mitokondri sitozole sitokrom c salınımını gerçekleştirir. Sitokrom c apoptotik proteaz aktivator faktör 1 (APAF 1) 'e bağlanır. Bu da prokaspaz 9'u aktive eder. Aktive olan kaspaz 9 ise kaspaz 3 aktivasyonuna neden olur (95). Spinal kord yaralanmasında, kaspaz bağımlı apoptozis oldukça iyi açıklanmış bir yoldur. Şekil 2,7'de apoptoz ve antiapoptotik mekanizmalar gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Apoptoz ve antiapoptotik mekanizmalar

2.7.4 Lipit Peroksidasyonu Ve Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri ve lipit peroksidasyon ürünleri, meydana getirdikleri spinal kord hipoperfüzyonu, ödem gelişimi, aksonal yıkım ve enerji metabolizmasını yıkıcı etkileri gibi patolojik olaylarla spinal kord travmasında önemli yer edinirler (4,102). Serbest radikal ürünleri salındıktan sonra protein denatürasyonu ve DNA kırılmasını sağlarlar. Bu ürünlerin spinal kord travmasında yeri ve tedavi yaklaşımlarında yeri hakkında çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır (103, 104,105).

2.7.5 Eksitoksisite

Omurilik yaralanması sonrası eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir (106). İn vitro çalışmalar EAA'nin neden olduğu geç doku hasarında glutamat reseptörlerinin önemini vurgulamışlardır. EAA hasarında, hücre içinde Na^+ ve Ca^{++} artışı hücre şişmesi ile proteazlar, kinazlar ve fosfolipazlar gibi kalsiyum bağımlı olayların başlamasına neden olur (107). Glutamatın toksik özelliklerini açıklamak amacı ile glutamat, NMDA, Amino hidroksil Metilizoksalon propiyonik asit (AMPA) ve kainat gibi glutamat reseptör uyarıcıları SSS'ne enjekte edilmiş ve glutamatın eksitotoksik olduğu, bunun reseptör blokerleri ve serbest radikal tutucular ile önlendiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar bize glutamat toksisitesinde serbest radikallerin de olaya katıldığını göstermiştir. Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri vasıtasıyla olurken, travmatik omurilik yaralanmasına AMPA ve kainat gibi non NMDA reseptörleri üzerinden olmaktadır (108). Glutamat ve aspartat salınımının omurilik yaralanmasının şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Orta şiddetli yaralanmalarda 2-4 kat yükselme olurken, şiddetli yaralanmalarda 10 kat kadar yükselme olabilir. Glutamat, yaralanmadan sonra 15 dakikada pik değerine ulaşırken 120 dakika kadar yüksek kalabilir (109).

2.7.6 Nörotransmitterler

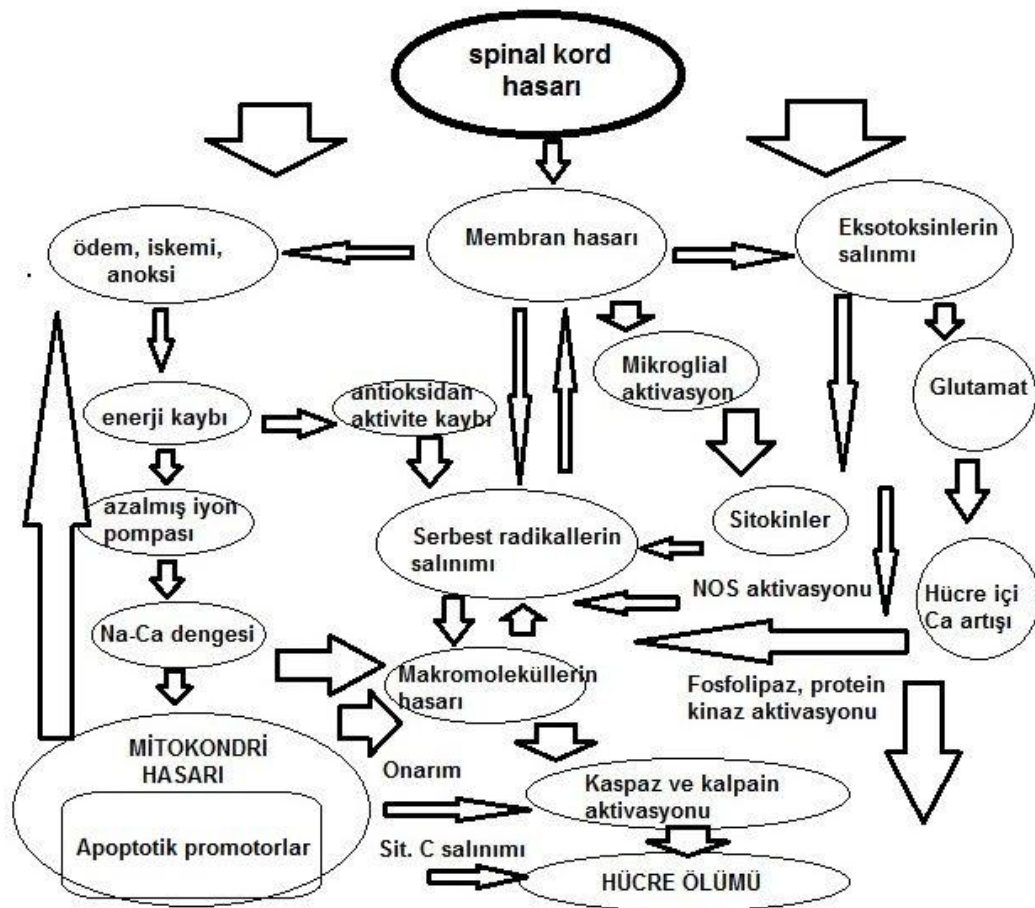
Spinal kord travması sonrasında endojen opioidlerin yeri ve önemi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (110). Deneysel modeller spinal kord yaralanması sonrasında belirgin bir endojen opioid peptid lokal salınımı olduğunu göstermiştir

(111,112). Dinorfin kappa reseptörleri üzerinden etkilidir ve sistemik vasküler etkiden dolayı yaralanmada yer aldığı düşünülmüştür. Naloksan ve tirotropin releasing hormon gibi endojen antagonistler bazı hayvan modellerinde spinal kord kan akımını artırıp nörolojik defisitleri azaltmışlardır. Bazı çalışmalarda ise nörolojik iyileşmeye katkıları olmamıştır (111,112). Yapılan klinik çalışmada ise naloksan plasebodan daha iyi klinik göstermediği belirtilmektedir (113).

2.7.7 İmmün Cevap

İnflamasyon, spinal kord yaralanması sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Yaralanmayla başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin akümüasyonu ve biyokimyasal değişiklikler, inflamasyonun santral sinir sistemi üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. İnflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. İnflamasyon yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, hümorale ve hücresel yanıtları içerir. İnflamasyon, organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (114). Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioller vazodilatasyon oluşur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben vasküler permeabilite artışına sebep olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle başlar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Yapılan ışık ve elektron mikroskopi çalışmalarında 4. saatten önce kan damarları dışında çok az sayıda PMNL bulunurken, 4. saatte bunların damar içinde sayıca çok arttıkları ve damar duvarından çıkarak dokuya girmeye başladıkları görülmektedir. 8 saatlik preparatlarda, gri cevherde PMNL kümeleşmeleri görülmekte ve beyaz cevherde PMNL'ler nöronların içindeki inklüzyonlar olarak belirlenmektedir. 24 saatlik preparatlarda, dejeneren nöronların PMNL tarafından sarıldığı ve PMNL'ler arasında selluler kalıntıların bulunduğu gösterilmiştir. PMNL'ler üçüncü günde kaybolurlar. Bu süre içinde granuler içeriklerini ortama salarak litik enzimlerinin etkisiyle vasküler, nöronal ve glial yaralanmayı daha da artırabilmektedirler. PMNL infiltrasyonu miktarı ile oluşan

hemoraji miktarı korelasyon göstermektedir. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostaglandinler, trombosit aktive edici faktor, lökotrienler, platelet-aktive edici faktor, serbest oksijen radikalleri, serotonin gibi inflamasyon mediatorleri yaralanmış spinal kordda lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku yaralanmasının hızla ilerlemesine neden olurlar (114). Ortamdan kaybolan PMNL'lerin yerini mikroglial hücrelerden ve dolaşımdan kaynaklanan makrofajlar almaktadır. Makrofajlar myelin, hemorajik ve nekrotik doku kalıntılarını fagosite etmektedir. Aynı zamanda makrofajlar, anjiogenezi başlatan interlokin -1 benzeri sitokinleri de salgılamaktadırlar (114). Aşağıda Şekil 2,8 'de spinal kord travmasında yer alan patofizyolojik mekanizmalar özetlenmiştir.



Şekil 0.8. Spinal kord travmasındaki patofizyolojik olaylar

2.8 Spinal Kord Travmasında Farmokoterapi

Spinal kord travmasında farmakoterapinin teröpatik rolü üç safhada olmaktadır (115,116). Birinci safha akut dönemdir ve immün ya da inflamatuvar yanıt, ekzotoksisite, lipid peroksidasyon ve serbest oksijen radikallerinin yer aldığı patofizyolojik hasarın önlenmesine yöneliktir (117). İkinci safha subakut dönemi yani nörorejenerasyonu ve nörotrofik tedavileri kapsar (118,119). Üçüncü ve son safha ise kronik dönemdir. Doku ya da mezenkimal stem cell transplantasyonunun olduğu nörotrofik tedavilerdir (120, 121, 122,123).

2.8.1 Kortikosteroidler

Akut omurilik yaralanmasının tedavisinde kortikosteroid tedavisi geniş laboratuvar ve klinik çalışmalarda denenmiştir. Kortikosteroidlerin başlangıçta kullanımı spinal ödemi azaltıcı etkisine ve antiinflamatuvar özelliğine bağlanmıştır (124). İlk araştırmalarda sadece ılımlı yararı saptanmasına rağmen, yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Geniş klinik çalışmalarda metilprednizolonun nörolojik fonksiyonları anlamlı olarak düzelttiği belirtilse de, yapılan çalışmaların veri analizlerinin değerlendirilmesi ve çalışma şeklinin oluşturulmasına bağlı olarak çelişkili durumlar içermektedir (125).

Klinik çalışmalarda metilprednizolon diğer kortikosteroidler olan deksametazon ve hidrokortizona göre daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle ön plana çıktı (126). Metilprednizolon sentetik bir glukokortikoid steroid olup, güçlü antiinflamatuvar etkisiyle birlikte akut omurilik yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir(127). Metilprednizolonun spinal kord hasarını azaltıcı etkisini oluşturmasının birçok mekanizmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunların; lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımının ve aerobik enerji metabolizmasının düzenlenmesi ile ilerleyici posttravmatik iskemiden korunma, nöroflament degradasyonunun inhibisyonu, intrasellüler kalsiyum birikiminin engellenmesi, vasoaktif prostoglandin F2 α ve tromboksan A2 formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir (125,127).

Spinal kord hasarında metilprednizolon tedavisinin incelendiği ilk geniş klinik çalışma (The National Acute Spinal Cord Injury Study) NASCIS I'dir. NASCIS II, 1985 ve 1988 yılları arasında yapılmıştır (80). Hastalar metilprednizolon (30 mg/kg bolus ve takiben 23 saat süreyle 5,4 mg/kg/saat devamlı infüzyon), naloksan ve plasebo ile tedavi edilmişlerdir. Metilprednizolonun, ilk 8 saat içinde uygulandığında, nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Naloksan veya geç metilprednizolon uygulaması hiçbir olumlu etki göstermemiştir. 1998'de sonuçlanan NASCIS III, metilprednizolonun 24 saat veya 48 saatlik uygulamasının, 21 aminosteroid tirilazad mesylate ile etkinliğinin karşılaştırılması için planlanmıştır. Akut omurilik yaralanması olup, yaralanmanın ilk 3 saatinde metilprednizolon alan hastaların 24 saat süre ile idame tedavisi almaları gerekirken, travmadan sonraki 3 ile 8 saatte gecikmiş steroid tedavisi alan hastaların 48 saat idame tedavisi almaları gerektiği gösterilmiştir. Tirilazadın, metilprednizolona göre daha güçlü bir lipid peroksidasyon önleyici olmasına ve minimal glukokortikoid aktivitesine sahip olmasına rağmen, NASCIS III, bu 21 aminosteroidin klinik kullanımı için mantıklı bir açıklama getirememiştir (129). Ancak şu da belirtilmelidir ki, NASCIS II çalışmasına karşıt görüşler süregelmektedir ve pek çok araştırmacı metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır (130,131).

2.8.2 Lazoroidler (21-Aminosteroidler)

Yüksek doz metilprednizolon ile lipid peroksidasyonun inhibisyonu, glukokortikoid reseptör ilişkili değil daha çok antioksidan özelliğine bağlı olduğunun düşünülmesi metilprednizolondan daha potent antioksidan olan 21 Aminosteroidlerin geliştirilmesini sağlamıştır. Bunun için U 74600 F (tirilazad mestilat) beyin ve spinal kord hasarı üzerinde denenmiştir (125,132,133).

And ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada, tirilazad mestilat (TM) verilen kedilerde plasebo grubuna göre travma sonrası 4. haftada daha anlamlı düzelme olduğu gösterilmiştir (125). Yine Hall ve arkadaşlarının çalışmasında 10 mg/kg TM verilen kedilerde spinal kord kan akımının plasebo ve 3 mg/kg TM grubuna göre ciddi derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (133).

Yapılan NASCIS 3 çalışmasında; TM verilen grubun 24 saat metilprednizolon uygulanan gruba benzer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiş, ancak TM grubuna da başlangıçta bolus metilprednizolon verilmiş olması etkinin neye

bağlı olduğu konusunda net sonuca ulaşılamamasına neden olmuştur. Bu nedenle TM ile ilgili ciddi planlanmış çalışmalara gereksinim olduğu bir gerçektir (125).

2.8.3 Opioid Reseptör Antagonistleri

Akut omurilik yaralanması sonrası endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, sekonder hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (125).

Yapılan pek çok deneysel çalışmada opioid reseptör antagonistlerinin yararlı etkileri gösterilmişti (134). Naloksan; üzerinde en çok çalışılan opioid reseptör antagonistidir ve birçok deneysel çalışmada omurilik yaralanması sonrası nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi arttırdığı gösterilmişti (125). NASCIS 2 çalışmasının bir parçasını oluşturan Naloksan'ın plaseboya üstünlüğü gösterilememiş, ancak daha sonra yapılan veri analizlerinin tekrar değerlendirmelerinde travma sonrası ilk 8 saat içerisinde verildiğinde, lezyon altında düzelmenin plaseboya oranla çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte spesifik opioid reseptör antagonistlerinin daha faydalı olacağı düşünülmesi mümkündür (64). Bir kappa-reseptör antagonist olan Norbinolterfimin'in kedilerde oluşturulan akut spinal kord travması sonrası sonuçları anlamı derecede düzelttiği gösterilmiştir(135). Ayrıca yine kappa-reseptör antagonistlerin kullanıldığı diğer deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında sonuçlar olumlu gözükmektedir. Sonuç olarak opioid antagonistlerin ilaç doz programı ve tedavi zamanlamasının tespiti için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.8.4 Gangliozidler

Gangliozidler; santral sinir sistemi hücrelerinin membranlarının dış yaprağında yüksek konsantrasyonda bulunan kompleks asidik glikopeptidlerdir (125). Monosialotetraheksosilgangliozid (GM-1 Gangliozid) SSS de nöronların aksonlarında, miyelin kılıflarında ve beyaz cevher içerisindeki glial hücrelerde bulunur (136). Deneysel SSS travmalarında GM-1 gangliozid'in sinir rejenerasyonunu stimüle ettiği ve anterograd-retrograd dejenerasyona karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (125).

Gangliozidlerin öne sürülen etki mekanizmaları eksitatör amino asitlerin salınımını azaltmaları, protein kinaz C regülasyonu ve nitrik oksit oluşumunu engellemelerine bağlıdır (134). Protein kinaz C'nin inhibisyonu posttravmatik iskemiden korunmada önemli gözükmektedir (125).

2.8.5 Tirotropin Salıcı Hormon (TRH) ve TRH Analogları

TRH ve analoglarının; endojen opioidler, platelet aktive edici faktör (PAF), peptidolökotrienler ve EAA'ler gibi birçok otodestruktif faktörü antagonize ettikleri ve deneysel modellerde akut omurilik yaralanmasında faydalı olabileceği gösterilmiştir. Spinal kord kan akımını arttırdıkları, elektrolit balansını düzenledikleri, hücrel enerji düzeyini restore ettikleri ve lipit peroksidasyonunu azalttıkları düşünülmektedir (137). TRH'un omurilik yaralanmasındaki spesifik etkisi iyi bilinmemekte ise de spinal refleksleri potansiyelize ettiği ve kollinerjik nöronlar üzerinde tropik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle TRH, yaralanmanın genişlemesini önlemekten çok iyileşme fazında daha etkili olabileceği belirtilmiştir (137).

2.8.6 Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar

Akut omurilik yaralanması sonrası lipit peroksidasyonu endojen antioksidanlar tarafından azaltılmaktadır (138). Ancak travma sonrası α -tokoferol, retinoik asid, askorbik asid, selenyum, koenzim q gibi ubikinonlar benzeri antioksidanların seviyeleri hızla düşmektedir (132). Bu nedenle antioksidanların replasmanı lipid peroksidasyonuna bağlı hasarın azaltılmasında etkili olabilir.

Deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında vitamin A ve vitamin C tedavisinin faydalı olduğu gösterilmiştir (125). Yine yapılan birçok SSS yaralanma modelinde α -tokoferol tedavisinin doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (134).

2.8.7 Kalsiyum Kanal Blokörleri

İntrasellüler kalsiyum birikimi toksik nöral hücre ölümünün son ortak yolu olarak isimlendirilmekte ve spinal kord hasarının patofizyolojisinde integral rol oynamaktadır. Hücre içine kalsiyum akışı direk nörotoksik etkisine ek olarak, vasküler düz kas hücrelerinde vazospazma yol açar. Bununla ilişkili olarak kalsiyum kanal blokörlerinin yararlı etkilerinin travma sonrası mikrovasküler yapılarda oluşan vazospazma yönelik koruyucu özelliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir (139).

Dihidropridin grubu kanal blokörlerinden Nimodipin üzerinde en çok çalışılmış ajandır. Yapılan deneysel çalışmalarda Nimodipin'in yararlı etkilerinin ancak travma öncesi başlandığında ortaya çıktığının görülmesi, tedavinin klinik kullanımda öneminin ve pratikliğinin sınırlanmasına neden olmuştur (125).

2.8.8 Sodyum Kanal Blokörleri ve Magnezyum

Spinal travma sonrası sekonder hasardan korunmada magnezyum replasman tedavisine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Yüksek doz magnezyum tedavisinin (600 mg/kg MgSO₄) farelerde akut spinal kord hasarı sonrası aksonal fonksiyonlarda anlamlı gelişme sağladığı ve lipid peroksidasyonunda ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir (139,140).

Başlangıç travma sonrası hücre içi Na⁺ miktarında ciddi bir artış söz konusudur. Bu nedenle sodyum kanal blokajının sekonder hasarın şiddetlenmesinin engellenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir (125). Bu konuda Tetradoksin'in lokal uygulaması ile yapılan bir çalışmada travma sonrası fonksiyonel defisit azaltılmasında önemli olduğu gösterilmiştir (141). Schwartz ve Fehlings yaptıkları deneysel bir çalışmada, bir sodyum kanal blokörü olan Riluzol'un sistemik uygulanmasında ciddi nöroprotektif etkileri olduğunu gösterdiler (142).

2.8.9 Araşidonik Asit Metabolizması Modülatörleri

Araşidonik asidin tromboksan, prostaglandinler ve lökotrienlere dönüşümünden sorumlu olan enzim inhibisyonunu hedef alan tedavi girişimleri akut omurilik yaralanması sonrası denenmiştir.

Prostasiklin (PGI₂) vasküler endotelden salınan güçlü vazodilatör ve platelet agregasyon inhibisyon etkisi olan doğal bir araşidonik asit metabolitidir (143). Hallenbeck ve ark. yaptığı bir çalışmada PGI₂'nin bulunduğu kombine tedavinin travma sonrası nörolojik fonksiyonlarda plaseboya göre anlamlı iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Siklooksijenaz inhibitörleri, tromboksan sentetaz inhibitörleri ve prostaglandin I₂ ile yapılan kombine tedavinin sıçan omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir (125,134).

2.8.10 Diğer Tedavi Denemeleri

Nörotropik büyüme faktörünün deneysel omurilik yaralanmaları sonrası nöronal dejenerasyondan korunmada etkin olabileceği gösterilmiştir. Alt grup serotonin reseptör antagonistleri ile yapılan deneysel çalışmalarda travma sonrası faydalı olabilecekleri saptanmıştır. Bir potasyum kanal blokörü olan 4-aminopiridin'in kronik spinal kord hasarında nörolojik fonksiyonların gelişmesindeki önemi vurgulanmıştır (125).

Günümüzde omurilik yaralanması sonrası hücre ölümünün apoptotik kaskadına yönelik terapötik korunma çabaları önem kazanmıştır. Bu yönde yapılan çalışmalarda zDEVD fmk ile yapılan kaspaz 3 inhibisyonun ve anti-apoptotik protein olan Bcl-2'nin deneysel kord hasarı sonrası nöroprotektif etkileri gösterilmişti (144). Sitokinler, serbest radikal hasarı ve eksitotoksitite gibi sekonder hasar mekanizmaları ile tetiklenen apoptoz da bu etkene yönelik tedavinin programlı hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği düşüncesini desteklemektedir (125). Siklosporin A, Ca⁺⁺'un tetiklediği mitokondri iç membranındaki permabilite değişikliklerinin inhibisyonu ve lipit peroksidasyonunun inhibisyonu etkisi ile hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği deneysel travmatik kord hasarında ortaya koyulmuş bir ajandır (125).

Akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisine yönelik modern tedavi girişimlerinin devam etmesi, bu yıkıcı problemin çözülmesindeki umudun artmasını sağlamaktadır.

2.9. Eritropoetin

2.9.1. Yapısı ve fizyokimyasal özellikleri

Eritropoietin (EPO), temel olarak böbreklerden salgılanan glikoprotein yapısında bir hormondur (145). Molekül ağırlığı, tespit metoduna göre 30.400 dalton ile 34.000 dalton arasında olup, %30 ile %49 oranında karbonhidrat ihtiva etmektedir. Bu karbonhidratın %11'ini sialik asit, %11'ini heksoz ve %8'ini N-asetilglukozamin'in oluşturduğubildirilmektedir (146, 147). EPO molekülünün helikal yapısının, 2 uzun ve 1 kısa sarmal bağlantıyla birbirine paralel olmayan 4- α -heliksten oluşan bir globüler protein olduğu kabuledilmektedir (148). Plazmadaki eritropoetin molekül ağırlığı yaklaşık 30400 dalton'dur(149). EPO'nun etkisi, ünitelerle ifade edilir. Bir ünite, aç bırakılarak 5 μ mol kobalt+2 verilen ratlarda üretilen EPO miktarı (serum EPO'sundaki artış) olarak tanımlanmıştır (150).EPO, gen aracılığı ile üretilen 193 aminoasitlik bir proteindir ve hücrelerdensalgılanma öncesinde N terminalinden 23 aminoasitlik bir rezidüel bölümü ayrılarak periferikkana verilir. Periferik kana salgılandığında karboksil terminalinde 166. pozisyonundaki arjininin uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. İnsan plazmasında, üriner EPO'da ya da pürifiye rekombinant EPO'da

arjinin rezidüleri bulunmaz. Bu nedenle dolaşımdaki EPO 165 aminoasit içermektedir. 29. ve 133. pozisyonlarda olduğu gibi 7. ve 161. pozisyonlarda da sistein rezidüleri tarafından şekillendirilen iki disülfid köprüsü vardır. Yaklaşık %40'ı 3-N asparajin ile karbonhidrat ve 126. pozisyonundaki O-serin rezidülerinden oluşur. Karbonhidrat kısmı fukoz, mannoz, N-asetilglukozamin, galaktoz ve N-asetilnöraminik asitten oluşmaktadır. Terminal N-asetilnöraminik asit EPO metabolizması için önem taşımaktadır. Plazmadaki asialo-eritropoetin, galaktozun karaciğerdeki galaktoz reseptörlerine bağlanması nedeniyle dolaşımdan hızla uzaklaştırılır. Plazma EPO'su göreceli olarak sıcaklığa karşı stabil olan α -2 globulin yapısında olup, pH 3-4 arasında izoelektrik noktada saptanır. Pürifiye r-hEPO'su α ve β formunda, benzer biyolojik aktivitesi, moleküler kitleleri ve aminoasit bileşimleri olan hidroksi-apatit kolonlarından oluşmaktadır. Eritropoetinin α formu, klinikte EPOjen olarak kullanılmaktadır ve β formuna göre daha yüksek oranda karbonhidrat kompozisyonu içerir (149).

2.9.2. Yapım Yeri ve Etki Mekanizması

EPO, renal peritübüler interstisyel hücreler, hepatositler ve kupffer hücreleri tarafından sentezlenmektedir (151, 152, 153). Jacobson ve ark. (154), bilateral nefrektomi yapılan ratlarda EPO üretiminin meydana gelmediğini belirterek, EPO'nun esas üretim yerinin böbrekler olduğunu bildirmişlerdir. Kronik böbrek yetersizliği (KBY) ve şiddetli anemisi olan hastalarda serum EPO seviyesinin oldukça düşük olduğu, bilinen klasik bilgiler arasındadır. Ancak renal transplantasyondan sonra bu seviyenin normale döndüğü bir çalışma ile ortaya konulmuştur (154). Anemi oluştuktan 1-1,5 saat sonra anemik fare ve ratların böbreklerinde ve karaciğerlerinde EPO-mRNA'sı tespit edilmiştir. Kanamadan sonra böbreklerde EPO-mRNA düzeyi, normale göre 200-1000 kat daha fazla belirlenmiştir (155, 156). Beru ve ark. (157) ile Schuster ve ark. (158) yaptıkları çalışmalarda, anemi oluşturdukları ratlarda karaciğerde eser miktarda EPO-mRNA belirlenmesine karşın dalak, beyin, kas ve akciğerlerde tespit edememişlerdir. Aneminin yanı sıra hipoksinin de EPOmRNA ve EPO düzeylerini etkilediği bilinmektedir (158). Anemide proksimal arterlerin daralması ve uç bölgelerde mevcut oksijenin kullanılamamasına bağlı olarak gelişen hipoksi sonucunda,

proksimal renal tubulus hücrelerinin bulunduğu bölgede fokal hipoksi alanları ortaya çıkmaktadır (159). EPO, hipoksiye cevap olarak sentezlenir ve hormonun birikimi olmaması nedeniyle gerekli miktarı plazmada ve sadece biyolojik olarak aktif formda bulunmaktadır. Hipoksik uyarı, tüm EPO üreten hücrelerde homojen değildir. Aksine fokal bir alanda EPO üreten hücreler üzerine yapılan uyarılar bir eşik değere ulaştığında, bu fokal alanlarda EPO üretiminin başladığı bildirilmektedir (159). Renal ve hepatik parankimada EPO üreten özel hücrelerin varlığı gösterilmiştir. Bu EPO üreten hücreler, renal parankimin interstisyumunda, tübüler bazal membranın dışında, çoğunlukla korteksin iç ve medulların dış kısmında bulunmaktadır. Anemide bu hücrelerin sayıları ve EPO-mRNA düzeyi artmaktadır. EPO üretimindeki aşırı artış, EPOmRNA'yı üreten hücrelerin sayılarının artışıyla ilişkilidir (159, 160). Birçok çalışmada (150, 151, 152) yetişkin karaciğerinin total EPO üretimine katkısının %10-15 olduğu saptanmıştır. EPO üretimi fetal dönemde böbrek ve karaciğer tarafından sentezlenirken, doğumdan hemen sonra büyük oranda sentezlenme böbreklerde oluşmaktadır. Ayrıca yaş, cinsiyet, menstrüel siklus ve sigara dolaşımındaki EPO seviyesini etkilememektedir. Serum seviyesi, hipoksi ya da kanama olmadıkça sabittir. Serumdaki EPO'nun sabah en düşük, akşam en yüksek seviyede seyrettiği ancak, klinik olarak önemli olmadığı bildirilmektedir (161, 162). Dalakta da EPO aktivitesinin tespit edildiği bildirilmiştir. Ancak splenektominin ya da dalakta ortaya çıkan hipoksinin, EPO sentezi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptanması üzerine, EPO sentezinin makrofaj kaynaklı olduğu sanılmaktadır. EPO'nun yıkımı, esas olarak karaciğer ve böbreklerde yapılmaktadır. Yıkımda esas fonksiyonu karaciğer üstlenmesine rağmen, nefrektomi yapılan ya da üreterleri bağlanan köpeklerde EPO'nun yarı ömrünün uzaması, böbreğin EPO metabolizmasında görev aldığını düşündürmektedir (154, 162, 163). Hematopoezis, hematopoitik kök hücrelerden olgun kan hücrelerinin oluşumuna kadar geçen bir süreci tanımlar. İlk hematopoitik seri ön hücreler, çok yönlü (multipotent) farklılaşma kapasitesine sahiptir. Olgunlaşma ilerledikçe farklılaşma, tek bir yönde özelleşerek periferik kanda görülen olgun hücreleri meydana getirir (162). EPO, primer olarak eritroid seri ön hücrelerin çoğalması (proliferasyon) ve olgunlaşmasını (maturasyon) uyarmak için kemik iliği üzerine etki eder. En az iki büyüme faktörü

(IL-3, GM-CSF) tarafından uyarılan çok yönlü (pluripotent) hematopoietik kök hücreler, EPO'ya cevap veren spesifik eritroid seri ön hücrelere dönüşürler (163).

2.9.3. Eritropoetin Reseptörleri

EPO, son zamanlarda tanımlanan büyüme faktörü reseptörleri ailesinin bir üyesi olanspesifik EPO reseptörüne bağlanır. Eritropoetinin, eritroid progenitör hücrelerin diferansiyasyon ve proliferasyonunun stimüle edilmesi ve eritroid hücrelerin matürasyon sürecinde yaşama kabiliyetinin desteklenmesi şeklindeki spesifik etkilerinin, EPO'nun membran reseptörlerine bağlanması yolu ile ortaya çıktığı gösterilmiştir (164). Spesifik EPO reseptörleri, sadece insanlarda, sıçan eritroid hücrelerinde, eritrolökemik hücrelerde, eritroid elementlerinden zengin fetal karaciğer dokusunda, fare ve rat plasentasında ve megakaryositlerde tespit edilmiştir (165). Karaciğer, beyin, akciğer ve iskelet kasları gibi nonhematopoietik dokuların ve monositler ile lenfositler gibi non-eritroid hematopoietik hücrelerin EPO reseptörleri yoktur (166). EPO'yu bağlayan düşük ve yüksek affiniteli iki tip EPO reseptörü tespit edilmiştir (167). EPO reseptörleri, ilk olarak eritroid seri ön hücrelerinde gösterilmiştir. Yüksek affiniteli reseptörlere bağlanma tam biyolojik etkinin ortaya çıkması için gereklidir (168). Eritroid hücrelerdeki EPO reseptörlerinin sayısı az (yaklaşık her hücrede 1000 molekül) ve değişkendir. EPO reseptörleri, insan küme şekillendiren eritroid hücresinde (BFU-E) otoradyografik olarak tespit edilebilir ve eritroid seri hücrelerin BFU-E'ler, koloni şekillendiren eritroid ünitesine (CFU-E) doğru olgunlaşma sürecinde bu reseptörlerin sayısında da artış gözlenir. CFU-E ile proeritroblast arasındaki bir dönemde hücre, yoğun EPO reseptörlerine sahip olup; proeritroblastın olgunlaşma sürecinde reseptör sayısında azalma gözlenir ve ortokromatik eritroblast evresinde reseptörler ortadan kalkar (166, 167). Reseptörün ekstrasitoplazmik bölümü EPO bağlayıcı bölge ve intrasitoplazmik C terminali ise sinyal iletimi ile ilgilidir. Bir nükleer DNA bağlayıcı protein olan GATA-1'in EPO reseptör regülasyon ve fonksiyonunda önemli rolü bulunmaktadır. EPO membran reseptörüne bağlanmasını takiben EPO, hücre içine alınır ve ardından parçalanır. İnsan CFU-E'de iki çeşit EPO reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlere ait genin in situ hibridizasyonda 19. kromozomda bulunduğu açığa çıkarılmıştır. İnsan EPO reseptöründeki 508 ardışık aminoasit sırasının yaklaşık

%80'inin fare EPO reseptörü ile homolog yapıda olduğu saptanmıştır. Reseptörlere bağlanmayı takiben EPO, endositoz yoluyla hızlı bir şekilde hücre içine alınır (165, 167). Bunun ardından hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, cAMP, cGMP, tirozin spesifik protein kinaz, fosfotidilinositol ve protein-kinaz C düzeylerinde artış görülmesi, EPO'nun bu yolla etkili olduğunu düşündürmektedir (152, 167). Eritroid hücrelerdeki EPO reseptör etkileşimi ile aktive olan bu tipteki olaylar sonucunda hücrelerde proliferasyon, diferansiyasyon ve matürasyon fazlarının gerçekleştiği düşünülmektedir (149). Önceleri EPO'nun hematopoetik sistem hücrelerindeki reseptörlere spesifik olarak bağlandığı düşünülürken (169), epitelyal hücrelerde (170, 171), nöral orijinli hücrelerde de EPO reseptörleri bulunduğu bildirilmiştir (172) ve ratlarda hipokampusta ve primer hipokampal nöron kültürlerinde EPO reseptörlerinin varlığı da gösterilmiştir (184, 185). Hormonun hücre içine girişinden sonra total RNA sentezinde, glikoz ve Fe alımında, α ve β -globin gen transkripsiyonundaki artış, hemoglobin sentezini arttırır (173). Bütün bu değişiklikler, eritroid seri hücrelerin olgunlaşmasına bağlı olarak retikülosit ve olgun eritrosit sayısındaki artışla sonuçlanmaktadır (174).

2.9.4. EPO Farmakokinetiği ve Metabolizması

EPO metabolizmasında primer organ karaciğerdir. Hormon, böbreklerde ve karaciğerde depolanmamaktadır. Dolaşımdaki EPO'nun konsantrasyonu, üretim oranını etkilemezken, plazma klirensi çok yavaştır (insanlarda 4-12 saat) ve plazma EPO seviyesinden bağımsızdır (175). Sağlam hayvanlarda EPO klirensi, hızlı ve yavaş olmak üzere iki fazlı bir şekilde olmaktadır (189). EPO 0.5 ml/dk oranında böbreklerden yavaş bir şekilde atılmaktadır (176). EPO yarılanma ömrünün yaklaşık ratlarda 1,5-3,5 saat, tavşanlarda 8-10 saat, koyunlarda 11 saat ve köpeklerde 9 saat olduğu saptanmıştır. Normal insanlarda pürifiye rhEPO ve endojen EPO'nun yarılanma ömrü 4-12 saattir (177, 178). İntravenöz (İV) bolus doz olarak verilen pürifiye r-hEPO plazma klirensi eksponansiyel bir şekilde gerçekleşir. Eliminasyon yarılanma ömrü normal insanlar ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda 2-13 saat olarak bildirilmiştir. Plazma EPO klirensi yaklaşık 10 ml/dk'dan azdır. İnsanlarda pürifiye insan eritropoetini plazma volümüne bağlı olmakla birlikte

dağılım volümü yaklaşık 30-100 ml/kg olarak belirlenmiştir. EPO üretiminin feedback kontrolü konusunda yapılan birçok çalışmada EPO'nun plazma düzeyleri ve böbrekte EPO üretiminin inhibisyonu arasında korelasyon saptanamamıştır. Artmış eritroid hücre metabolizması yolu ile EPO klirens oranının bir göstergesi olabilen eritron büyüklüğünün, periferik dolaşımdaki EPO sürvisi için anlamlı bir faktör olmadığı bildirilmiştir (149). İnsanlarda r-hEPO, İV bolus verildiğinde doza bağlı seviyeler 1,5 saat içinde tespit edilir. İV yarılanma ömrü 5 saattir. Subkutan (SC) uygulamalardan sonra ise serum pik seviyesine 12-24 saat sonra ulaşır. SC yolla yarılanma ömrü yaklaşık 20 saattir. SC uygulama ile yüksek EPO seviyeleri 48 saat kadar kalır. EPO'nun metabolizması tam açık değildir. Bununla beraber, EPO'nun %3-10 kadarı değişmeden idrarla atılır. SC uygulamada daha düşük ancak, daha kalıcı EPO düzeylerinin olması, tedavide daha etkili olmaktadır. Ayrıca maliyeti de düşürdüğü için tedavide önemli bir avantaj sağlamaktadır. KBY hastalarında önerilen doz genellikle haftada 3 kez 50 Ü/kg SC EPO uygulamasıdır (179, 180, 181). Ortalama SC verilen dozun sadece %25'i absorbe olur. SC uygulama, İV ve İP uygulamadan daha etkindir (179,180). Ancak farelere haftada 3 kez İP olarak EPO enjekte edildiğinde hematokrit cevabının fazla olduğu tespit edilmiştir (182). EPO'nun İP olarak efektif kullanılabileceğine dair yayınlar vardır (183).

2.9.5. EPO ve Santral Sinir Sistemi

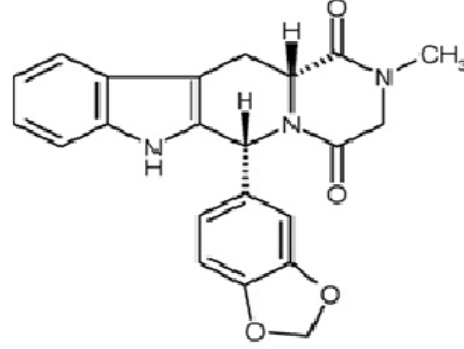
Eritropoetin, eritrosit üretiminin kontrolünü sağlaması nedeniyle doku oksijenizasyonunun temel belirleyicisidir (169). Eritrosit formasyonunun stimülasyonu EPO'nun fizyolojik fonksiyonudur, bununla birlikte son zamanlarda EPO'nun nörotropik fonksiyonunun bulunduğundan da söz edilmektedir (184, 185). Glia ve nöronların EPO, makrofaj koloni stimülatör faktör (M-CSF) ve granülosit stimülatör faktör (G-CSF) gibi hematopoetik sitokinler ve çeşitli interlökinler ürettikleri bildirilmiştir. Ayrıca bu hücrelerde beyin gelişimi süresince ve beyin homeostazisinin sağlanmasında parakrin ve otokrin etkileşim yeteneğinin her ikisinin de bulunduğunu düşündüren bu peptidlere ait reseptörlerin üretiminin varlığı bildirilmektedir (169). Primer astrosit kültürlerinde, düşük oksijen basınçlarında EPO üretiminin mRNA'sının artışı ile stimüle edildiği, ayrıca travmatik beyin yaralanması olan hastalardan elde edilen beyin omurilik sıvılarında da EPO saptandığı rapor

edilmiştir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda serebral iskemide EPO'nun santral sinir sistemine direkt uygulanması ile nöron ölümünün anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (186). Kemirgenlerdeki nöral doku yüzeylerinde ve PC12 hücre hattı ve SN6 hücreleri gibi spesifik hücrelerde, fonksiyonel eritropoetin reseptörlerinin varlığına ait geniş kanıtlar bulunmaktadır (187). İnfantta BOS'da pikomolar miktarlarda eritropoetin varlığı bildirilmiştir. Gelişmekte olan insan beyninde, erken dönemlerde diferansiye olmamış nöroepitelyal hücrelerde EPO ve EPO reseptör immünoreaktivite varlığı açığa çıkarılmıştır. Daha sonra diferansiyasyon ile birlikte EPO reseptörlerinin astrositlerde ve nöronlarda saptandığı bildirilmiştir. Santral sinir sisteminde EPO'nun, hem astrosit hem de nöron kaynaklı olması, otokrin ve parakrin yollar aracılığı ile fonksiyon gösterdiğini düşündürmektedir. Eritropoetin ve EPO reseptörlerinin gelişmekte olan beyinde bulunması ve daha sonra da matür beyinde varlığının sürmesi nedeniyle EPO'nun gelişimsel ve daha sonra da homeostazisde rol aldığı şeklinde görüşler öne sürülmüş (170); hipoksik ortamda EPO üretiminin indüklenmesi ve eritrosit sayısında artış ile doku oksijenizasyonu için daha iyi koşullar sağlandığı bildirilmiştir (184).

2.10 Tadalafil

Fosfodiesteraz (PDE) enzimleri, vücutta tüm vasküler dokularda bulunur. İnsan korporal dokusunda pek çok tipte PDE izoenzimi saptanmıştır. PDE 1, 2, 3, 4, 5... 11 olarak. Ancak penisteki primer etkin form tip 5'tir. Sertleşme penil kavernoöz düz kas relaksasyonuna bağlıdır. Kontrol mekanizması kompleks olsa da, nitrik oksit (NO) bu relaksasyonun en önemli kimyasal değişkenidir. NO, vasküler düz kasa girdiğinde guanilat siklaz enzimini uyararak GTP'nin aktif ikincil habercisi olan cGMP'ye dönüşmesini sağlar. PDE5 enzimi, penisin korpus kavernozumundaki siklik guanozin monofosfat (cGMP)'ı hidrolize eden bir enzimdir. PDE5'in inhibisyonu trabeküler düz kas relaksasyonuna, arteriyal kan akımında artmaya ve nihai olarak penil sertleşmeye neden olur (188). Günümüzde PDE5 inhibitörü olarak yaygın kullanılan ve iyi tolere edilebilen 3 temel ilaç vardır. Bunlar sildenafil sitrat, vardenafil HCl ve tadalafildir (189). Tadalafilin farmakokinetik karakteristiği diğer iki PDE5 inhibitöründen farklılık göstermektedir. Ortalama yarılanma ömrü,

sildenafil ve vardenafilin 4 saat iken, tadalafilde bu 17,5 saattir. Bu ilaçların basırgısı, dispepsi, ates basması, nazal konjesyon, görme bozukluğu, bel agrısı gibi % 1 – 15 arasında görülen yan etkileri mevcuttur (189). Tadalafilin kimyasal yapısı Şekil 2.9’ da gösterilmiştir.



Tadalafil

Şekil 0.9 Tadalafilin kimyasal yapısı

Tadalafil, erektil disfonksiyonun birinci basamak tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Tadalafil, siklik guanozin monofosfatı (c-GMP) yıkan fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enziminin güçlü, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Nitrik oksit (NO) nonadrenerjik, nonkolinerjik bir nörotransmitter olup, çözünebilir guanil siklazı aktive eder. Bunun sonucu olarak da düz kas relaksasyonuna sebep olan cGMP’nin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Birçok dokuda cGMP’nin hidrolitik yıkımından sorumlu olan enzim PDE5 enzimidir. PDE5, korpus kavernozumun düz kasında, damarlara ve iç organlara ait düz kaslarda, çizgili kaslarda, trombositlerde, böbreklerde, akciğerde ve beyinde bulunan bir enzimidir (190, 191). Vazodilatatör etkileri nedeni ile günümüzde pulmoner hipertansiyon tedavisinde de kullanılmaktadır (195).

Tadalafilin PDE5 üzerindeki etkisi diğer fosfodiesterazlara göre daha güçlüdür. Tadalafilin PDE5 üzerine etkisi, kalp, beyin, kan damarları, karaciğer, lökositler, iskelet kasları ve diğer organlarda bulunan PDE1, PDE2, PDE4 ve PDE7 enzimlerinin üzerine olan etkisine kıyasla 10.000 kattan daha fazladır. PDE3’den ziyade PDE5’e karşı olan selektivite daha önemlidir. Çünkü PDE3, kalp kasılmasında görev alan bir enzimidir. Tadalafilin, PDE5’e olan etkisi, PDE8, 9, 10’a

olan etkisine oranla 9.000 kez daha fazla, PDE11'e göre ise 14 kez daha fazladır. PDE8'den PDE11'e kadar olan inhibisyonun fizyolojik etkileri ve dokulardaki dağılımı bilinmemektedir. Tadalafil esas olarak sitokrom P450 (CYP) 3A4 izotipi tarafından metabolize edilir, dolaşıma katılan ana metaboliti metilkatekol glukuronid'tir. Bu metabolitin PDE5 üzerine etkisi tadalafilden 13.000 kez daha azdır. Sağlıklı deneklerde yarılanma ömrü 17.5 saattir. Tadalafil esas olarak inaktif metabolitler halinde, büyük ölçüde feçesle (dozun yaklaşık olarak %61.1) ve daha az oranda idrarla (dozun yaklaşık olarak %36'sı) atılır (192, 193).

Bilinen vazodilatatör etkilerine rağmen, literatürde sadece sildenafil'in serebral vazospazmdaki etkileri üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Zhanga ve arkadaşları ratlarda stroke modelinde tadalafil'in anjiogenes ve nörogenezi arttırdığını ve inme tedavisinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (194). cGMP'nin hidrolizini engelleyen fosfodiesteraz inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmıştır. Tadalafil'i, etki süresinin uzunluğu ve PDE-5'i diğer PDE-5 inhibitörlerine göre daha güçlü inhibe etmesi nedeni ile bu çalışmada kullanmayı planladık.

Tadalafil, erektil disfonksiyonun birinci basamak tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Tadalafil, siklik guanozin monofosfatı (c-GMP) yıkan fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) enziminin güçlü, selektif ve geri dönüşümlü bir inhibitörüdür. Nitrik oksit (NO) nonadrenerjik, nonkolinerjik bir nörotransmitter olup, çözünebilir guanil siklazı aktive eder. Bunun sonucu olarak da düz kas relaksasyonuna sebep olan cGMP'nin hücre içi konsantrasyonunu artırır. Birçok dokuda cGMP'nin hidrolitik yıkımından sorumlu olan enzim PDE5 enzimidir. PDE5, korpus kavernozumun düz kasında, damarlara ve iç organlara ait düz kaslarda, çizgili kaslarda, trombositlerde, böbreklerde, akciğerde ve beyincikte bulunan bir enzimdir (188).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan deneyleri Yerel Etik Kurul 04.03.2010 tarih ve 156/2010 kayıt numaralı kararı ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (TİCAM) yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen Spraque Dawley ırkı dişi sıçanlar kullanıldı. Araştırma yeterli hava sirkülasyonu ve çevre ısısının sağlandığı odalarda yapıldı. Lezyon yapıldıktan sonra tüm deneklere ayrı ve kolay beslenmelerini sağlayan kafeslerde bakım uygulandı.

Deneklerin uyutulması işleminde 60 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç San., İstanbul) ve 12 mg/kg Ksilazin (Rompun, Bayer İlaç Sanayi, İstanbul) karışımının intraperitoneal yol ile verilmesi ile genel anestezi sağlandı. Rahat bir cerrahi girişim sağlamak amacı ile özel tahtalar ve sabitleyiciler ile deneklere cerrahi girişim yapıldı. Bu deneysel çalışmada beş grupta otuz beş rat üzerinde, cerrahi kesi sıçanın sırt kısmında, tıraş yapıp antisepti sağlandıktan sonra yapıldı (Şekil 3.1). Torakal dokuz ve torakal on bir vertebra hizasından lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçildi (Şekil 3.2). Fasiası açılarak paravertebral adaleler subperiosteal sıyrıldı. Torakal 10 vertebraya laminektomi yapıldı. Spinal kord açığa çıkarıldı (Şekil 3.3) Daha sonra klip kompresyon yöntemi ile spinal kord travması oluşturuldu. Klip kompresyon yönteminde 1,43 N kuvvet uygulayan (Yaşargil, FE 740 K, Aesculap AG, Almanya) anevrizma klipi kullanıldı. Klip epidural olarak altmış saniye süreyle uygulandı (Şekil 3.4). Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu görüldü (Şekil 3.5). Kontrol grubu hariç travma uygulanan sıçanlar travmadan sonra parapelejik oldu. Sıçanlar cerrahi işlem öncesinde rastlantısal beş gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Travma veya medikal tedavi uygulanmadı. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

2. Grup (Travma): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klipi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

3. Grup (Travma+Çözücü): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. Tek doz 1 cc. serum fizyolojik verildi. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

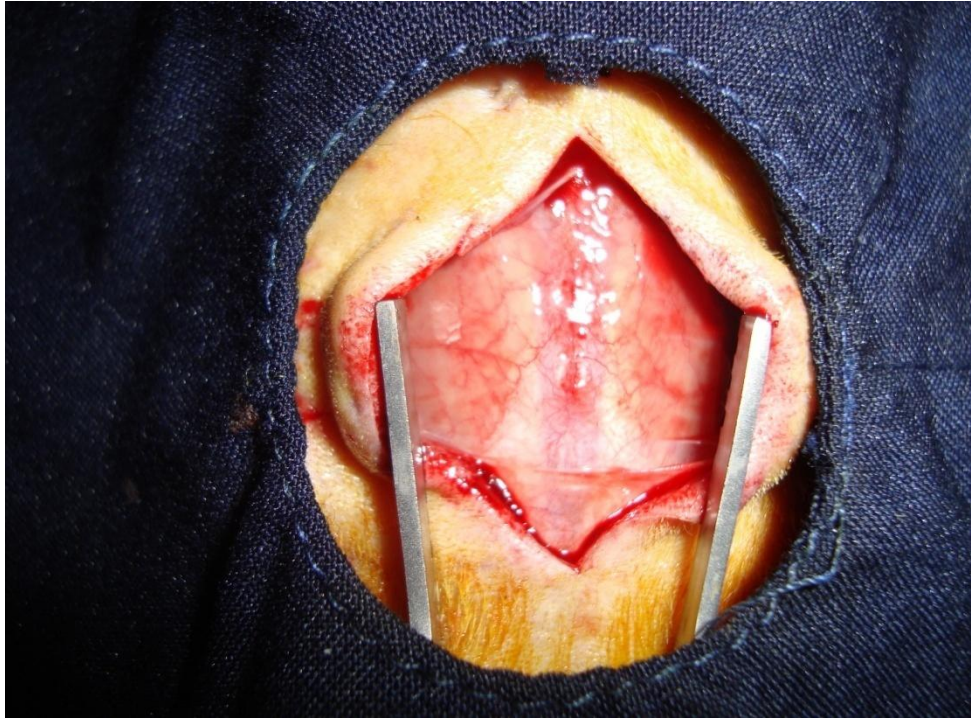
4. Grup (Tedavi 1): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. Tedavide travma sonrasında tek doz 2 mg/kg oragastrik yol ile Tadalafil (Cialis, Lilly, Basingstoke, Hampshire, UK) verildi. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

5. Grup (Tedavi 2): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. Tedavide travma sonrasında tek doz 2000 ü/kg intraperitoneal yol ile Eritropoetin (Eprex 2000, Cilag AG. International Zug, İsviçre) verildi. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

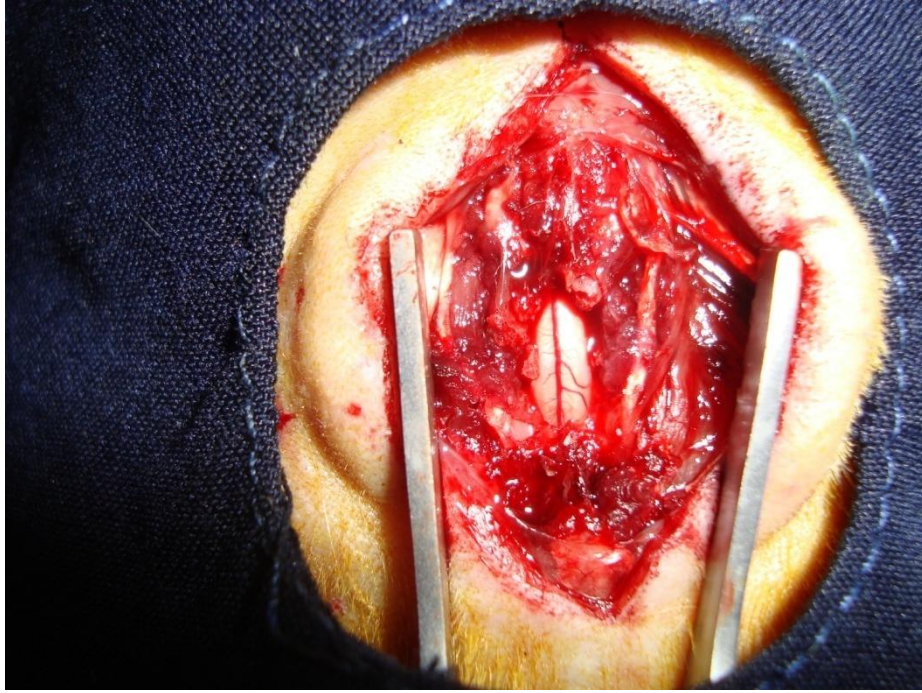
6. Deneklerin her biri beslenme ve motor aktivite için günlük olarak muayene edildi. Tüm gruptaki denekler 48 saat sonra sakrafiliye edildi. Bu işlem 18 G enjektör ile intrakardiyak olarak 3-5 mm kan alınarak yapıldı. Alınan doku örnekleri -80 °de derin dorundurucuda korundu (Şekil 3.6).



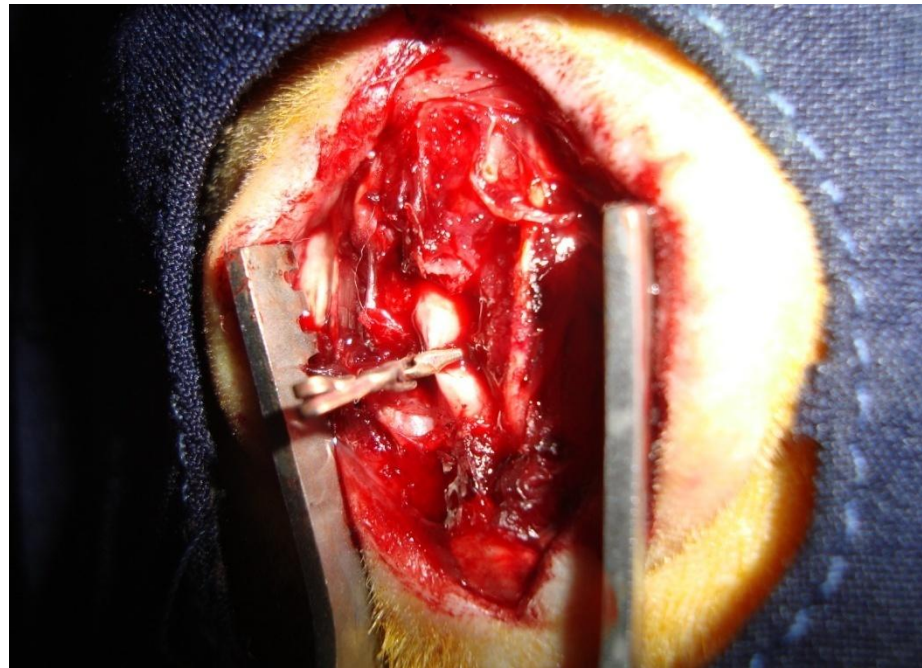
Şekil 0.1 Cerrahi kesi öncesi sıçanın sırt kısmının tıraş yapıp antisepti sağlanması



Şekil 0.2 Çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçilmesi



Şekil 0.3 Laminektomi sonrası açığa çıkarılan medulla spinalis



Şekil 0.4 Klip kompresyon yönteminde ile anevrizma klibi kullanılması



Şekil 0.5 Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu



Şekil 0.6 Alınan doku örnekleri

3. 1. Biyokimyasal Ölçümler

Alınan kanlar MDA ve TAOK çalışılması için 10 dakika 3000 rpm.de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Travmalı omurilik bölgesini içeren 1 cm uzunluğunda omurilik segmenti alındı. Doku ve kan örnekleri sabit bir süre içinde -80°C de korunacağı derin dondurucu ortamına taşındı ve biyokimyasal ölçümler için saklandı.

Lipid peroksid düzeylerinin (malondialdehit) ölçümü MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu rengin spektrofotometrede 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı ve dokuda nmol/mg protein, plazmada nmol/ml olarak ifade edildi (196).

Toplam Antioksidan Kapasite (TAOK) ölçümü Erel yöntemi ile Rel Assay marka TAS ticari kiti (MEGA TIP LTD. ŞTİ. TÜRKİYE) kullanılarak otomatik biyokimya analizatöründe çalışıldı ve çıkan sonuçlar mmol Trolox Eq/l olarak ifade edildi(197,198)

4. BULGULAR

4. 1. İstatiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İstatistiki testlerden tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Grup içi karşılaştırmalarda LSD testinden yararlanıldı. Anlamlı değer olarak % 95 güven aralığında, $p < 0.05$ kabul edildi.

4. 2. Sonuçlar

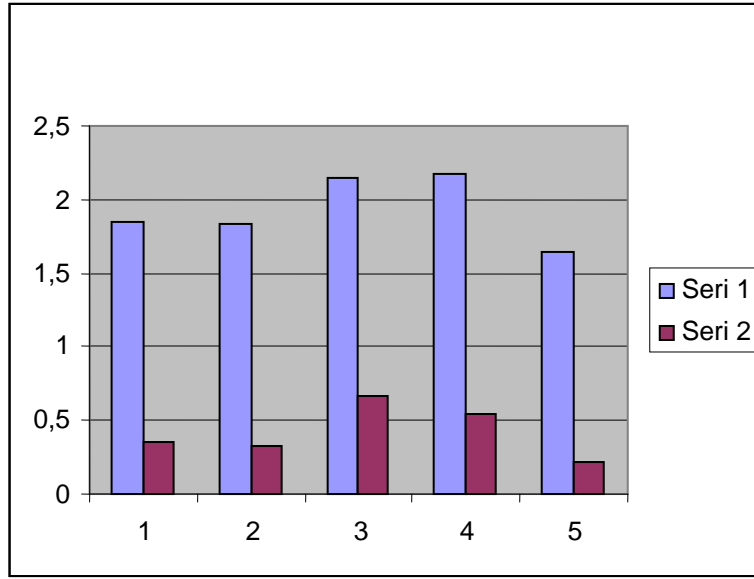
Tüm gruplarda doku ve plazmada MDA ve TAOK düzeylerine bakıldı. Elde edilen gruplara göre ortalama TAOK ve MDA istatistik değerleri Tablo 4,1’de ve 4,3 te gösterilmiştir.

Tablo 4. 1 Gruplara göre ortalama TAOK istatistik değerleri

	Serum TAOK X \pm SD	İstatistik değeri
Kontrol	1.85 \pm 0.35	F=162.03 p=0.000
Serum	1.83 \pm 0.52	
Eritropoetin	2.14 \pm 0.64	
Tadalafil	2.17 \pm 0.33	
Travma	1.64 \pm 0.24	
	Doku TAOK X \pm SD	
Kontrol	0.36 \pm 0.44	F=130.16 p=0.000
Serum	0.33 \pm 0.02	
Eritropoetin	0.67 \pm 0.06	
Tadalafil	0.54 \pm 0.01	
Travma	0.22 \pm 0.03	

Grup içi karşılaştırma için yapılan post hoc değerlendirmede serum tas değeri Tadalafil verdikten sonra yükselmiş ve en yüksek değerine ulaşmıştır ($p < 0.0001$), Doku tas değeri de travma ile en düşük seviyeye ulaşmış ve eritropoetin verdikten sonra en yüksek seviyesine ulaşmıştır ($p < 0.0001$). Serum ve doku TAOK ortalama değerlerinin dağılımı Tablo 4. 2 de gösterilmiştir.

Tablo 4. 2 Serum ve doku TAOK ortalama değerlerinin dağılımı



Seri 1 (mavi) Serum tas Seri 2 (pembe) Doku tas

1: kontrol, 2: serum, 3:eritropoetin, 4: tadalafil 5: travma

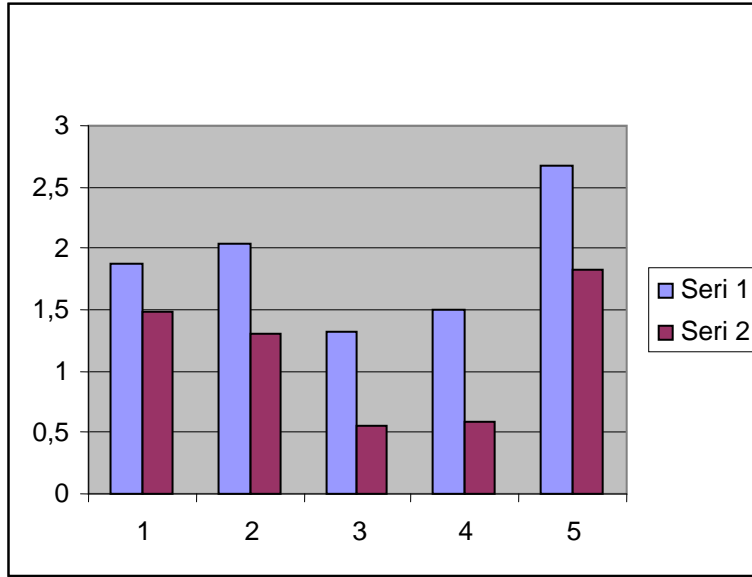
Grup içi karşılaştırma için yapılan post hoc değerlendirmede serum MDA değeri travmada en yüksek ve tadalafilin sonrası düşmüş eritropoetin sonrası ise en düşük seviyeye ulaşmış ($p \leq 0.05$), Doku MDA değeri de travma ile en yüksek seviyesine ulaşmış ve eritropoetin verdikten sonra azalmış ve en düşük seviyesine ulaşmıştır ($p < 0.05$). Serum ve doku MDA istatistik değerleri Tablo 4. 3 te gösterilmiştir.

Tablo 4. 3 Gruplara göre ortalama MDA istatistik değerleri

	Serum MDA X ± SD	İstatistik değeri
Kontrol	1.87 ± 0.43	F=2.68 p=0.05
Serum	2.04 ± 1.05	
Eritropoetin	1.32 ± 0.70	
Tadalafil	1.50 ± 1.16	
Travma	2.68 ± 0.70	
	Doku MDA X ± SD	
Kontrol	1.49 ± 0.62	F=6.28 p=0.001
Serum	1.31 ± 0.73	
Eritropoetin	0.55 ± 0.24	
Tadalafil	0.58 ± 0.59	
Travma	1.83 ± 0.65	

Grup içi karşılaştırma için yapılan post hoc değerlendirmede serum mda değeri travmada en yüksek ve tadalafilin sonrası düşmüş eritropoetin sonrası ise en düşük seviyeye ulaşmış ($p \leq 0.05$), doku mda değeri de travma ile en yüksek seviyesine ulaşmış ve eritropoetin verdikten sonra azalmış ve en düşük seviyesine ulaşmıştır ($p < 0.05$).

Tablo 4. 4 Serum ve doku MDA ortalama değerlerinin dağılımı



Seri 1 (mavi) Serum mda Seri 2 (pembe) Doku mda

1: kontrol, 2: serum, 3:eritropoetin, 4: tadalafil 5: travma

5. TARTIŞMA

Sahip olduğu yüksek mortalite ve morbite oranları ile önemli bir halk sağlığı problemi olan akut travmatik spinal kord travmasının son 60 yıl içinde hem tedaviye yönelik çalışmalar hem de sıklığında artış bulunmaktadır. Omurilik yaralanması, bağımsız hayat süren bireyin günlük ihtiyaçları için hatta nefes alabilmek için başka bireylere bağımlı hala gelebilmektedir. Kişisel bağımlılık dışında sosyal ve ekonomik etkileri çok ağırdır. Amerika Birleşik Devletlerde omurilik yaralanmasının yıllık maliyeti 10 milyon Dolar olarak tahmin edilmektedir .(45). Santral sinir sisteminde nöronal rejenerasyon memeli türlerinde olmadığı bilinmektedir. Deneysel çalışmalarda omurilik yaralanmasının sadece travma nedeniyle olmadığı gösterilmiştir. Akut travmatik spinal kord travmasının patofizyolojisinde birincil ve ikincil yaralanma mekanizması mevcuttur (45). Travmanın oluşundan itibaren ikincil hasarlanma merdiven basamakları şeklinde devam ettiği gösterilmiştir. Çalışmalarda bu ikincil hasarlanmayı en az düzeyde tutmaya yönelmiştir. İkincil hasarlanmayı başlatan nedenin yetersiz perfüzyon olduğu ve bunun sonucunda sitokinlerin lezyon bölgesinde birikmesi ilk basamağı oluşturduğu düşünülmektedir.(4) 21.yüzyılda çalışmalar nöroprotektif ajanlar üzerinde yoğunlaşmıştır (143).

Apoptosis ile spinal kord travmasının ilişkisi günümüzde net olarak gösterilmiş ve kanıtlanmıştır (128). Spinal kord travması sonrasında görülen apoptosis ile travma sonrasında apoptotik hücreler özellikle beyaz cevherde longitudinal traktlarda ve oligodentrosit hücrelerinde lokalize olmaktadır. Lui ve ark. yaptığı çalışmada kontüzyon hasarı sonrasında 5 dakikadan 30 güne kadar çeşitli değişikliklerin olduğu bir süreç tespit edilmiştir. Travma sonrası yaklaşık 4 saat sonra apoptotik hücreler nöronlarda ve lezyon bölgesinde görülmeye başlarlar. Bu bölgede travma sonrası 8. saatte nöronal apoptosis pik yapar. Glial hücrelerde apoptosis yaklaşık 4. saate görülmeye başlar ve 24. saatte pik yapar. İlerleyen 7 gün içerisinde progresif patolojik ilerleme, glial ve nöronal hücrelerde ölme ve kavitasyon görülür (99).

Kim ve arkadaşları PDE-5' in relatif selektif inhibitörü olan zaprinast'ın hücre içi cGMP yi artırarak vazodilatasyon yaptığını göstermişlerdir (199).

Serarslan ve arkadaşları deneysel spinal kord yaralanma modelinde antioksidan enzim aktiviteleri, nitrik oksit ve MDA seviyelerine bakarak PDE-5

inhibitörü olan Tadalafil'i metilprednizolon ile karşılaştırmış ve nöroprotektif etkileri olduğunu göstermişlerdir (200).

Biz çalışmamızda ratlarda klip kompresyon modeli ile travmatik spinal kord yaralanması oluşturduktan sonra tek doz oragastrik yolla tadalafil ve intraperitoneal yolla eritropoetinin tedavisi uyguladık. Daha sonra alınan kan ve doku örneklerinde MDA ve TAOK düzeylerine baktık. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi sonrasında herhangi bir tedavi uygulanmayan ratlara oranla tadalafil ve eritropoetin verilen grupta plazma ve dokuda MDA düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığını, doku ve plazma TAOK düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı arttığını ortaya koyduk.

Bu sonuçlar tadalafilin ve eritropoetinin MDA seviyelerindeki artışı önlediğini, antioksidan seviyelerini arttırdığını, dolayısıyla lipid peroksidasyonunu engelleyerek ikincil hasarlanmayı azalttığını ve iyileşmeyi sağladığını düşündürmektedir.

Ayrıca damar düz kaslarında relaksasyon yaparak vazodilatasyona neden olması ve platelet agregasyonunu inhibe ederek kanlanmayı artırması sonucunda iskemik hasarı da azalttığı düşünülmüştür.

Memelilerde nöral dokunun kendisinin yenileme özelliği olmadığından akut spinal kord travması geçiren bireylerde kalıcı sakatlıklar oluşmaktadır. Komplet omurilik hasarı çok büyük iş gücü kaybı ve bakım masraflarına neden olmaktadır. Travma sonrası gelişen süreçte yer alan olaylar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan tüm araştırmalara rağmen metilprednizolonun olası etkisi dışında işlevleri yerine getirecek bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Bu deneysel çalışmada elde edilen olumlu sonuçların daha ilerde yapılacak klinik çalışmalara yön vereceğini ve tadalafil ve eritropoetinin ayrı ayrı veya kombine olarak yeni bir alanda daha kullanılabilirliğinin yeni çalışmalarla ortaya konabileceğini düşünüyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Klip kompresyon modeli kullanılarak yapılan omurilik travması sonrası uygulanan tadalafilin ve eritropoetinin nöroprotektif etkileri; plazma ile dokuda MDA ve TAOK seviye ölçümlerine göre değerlendirilmiş ve araştırılmıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda tedavi grubunun MDA değerinde travma grubuna göre azalma TAOK değerinde ise artma saptanmıştır. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Buna göre tadalafil ve\veya eritropoetin tedavisinin omuriliği ikincil hasardan muhtemelen vazodilatasyon sağlayarak, antioksidan seviyesini arttırarak, lipid peroksidasyonunu engelleyerek ve iskemi reperfüzyon hasarını önleyerek koruduğu sonucu elde edildi.

Spinal kordun yenilenme kabiliyeti olmadığından omurilik travması geçiren şahıslarda kalıcı sakatlıklar oluşmaktadır. Total omurilik lezyonu çok büyük iş gücü kaybı ve bakım masraflarına neden olmaktadır. Travma sonrası gelişen süreçte yer alan olaylar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılan tüm araştırmalara rağmen metilprednizolon dışında etkinliği ispatlanmış bir tedavi yöntemi bulunamamıştır.

Bu çalışmamızda tadalafil ve eritropoetinin ayrı ayrı klip travma modeli kullanılarak yapılan omurilik hasarlanması sonrası uygulanmasının nöroprotektif etkilerini araştırdık. Omurilik zedelenmesinde birincil hasardan sonra gelişen ikincil zedelenmeden omuriliği korumak ve kalıcı sakatlıkların ortaya çıkmasını önlemek için tadalafil ve\veya eritropoetin tedavi amaçlı kullanılabilir. Ancak tadalafilin klinik kullanımını için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Elsberg LA. The Edwin Smith Surgical Papyrus and the diagnosis and treatment of injuries of kull and spine 500 years ago. *Ann Med Hist* 1931;3:271.
2. McColl MA, Walker J, Stirling P, Wilkins R, Corey P. Expectations of life and health among spinal cord injured adults. *Spinal Cord*. 1987;35(12):818-28.
3. Anderson DK, Meaans ED, Waters TR, Green ES: Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg* 1982;56: 106-113.
4. Carlson G.D, Gorden C. Current developments in spinal cord injury research. *The Spine Journal* 2002 116–128.
5. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *JNeurosurg* 35:700-708,1971.
6. Netter FH: Embriyoloji, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007; pp:130-147.
7. Taner D. Fonksiyonel Nöranatomi. İkinci baskı. Ankara: Metu pres; 1999.s.33-48.
8. Netter FH: Beyin ve omurluğun anatomisi, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007, pp: 36-66.
9. Snell RS: Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomi, Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, İstanbul, 2000; s: 157-177.
10. Çavdar S: Omurga ve omurilik anatomisi ve embriyolojisi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.Baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir, 2002; s: 15-42.
11. Wilkins RH: Neurosurgical classics1: American association of neurosurgical surgeons. Park ridge, II, 1992, sf: 1-5.

12. Güçlü B, Naderi S. Dünyada ve Türkiye’de spinal travmaların Tarihçesi. İç: Hancı M, Çağlı S, editör. Omurilik ve Omurilik Yaralanmaları. Ankara: Buluş Matbaacılık.2007. s.1-7.
13. Marketos SG, Skiadas PK. Hippocrates. The father of spine surgery. *Spine* 1999;24:2358-2362.
14. Naderi S, Acar F, Merol T, Arda MN. Functional anatomy of the spine by Avicenna in his eleventh century treatise *Al-Quanun fi al-Tibb*. *Neurosurgery* 2003;52:1449-1453.
15. Devivo M. Epidemiology of traumatic spinal cord injury. In:Kirshblum SC, Campognolo D, DeLisa JE, EDs. *Spinal cord medicine*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins,2002; 69-81.
16. *Spinal Cord Injury: Fact Sheet*. National Center for Injury Prevention and Control Mailstop Buford High-way NE Atlanta, GA, 2006; 30341-3724.
17. Berkowitz M, O’leary P, Kruse D, Harvey C. *Spinal cord injury: An analysis of medical and social costs*. Demos Medical pub.1998; New York.
18. Karamehmetoğlu SS, Unal S, Karacan I, Yılmaz H, Togay HS, Ertekin M, Döşoğlu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T. Traumatic spinal cord injuries in Istanbul, Turkey. An epidemiological study. *Paraplegia*. 1995;33(8):469-71.
19. Karamehmetoğlu SS, Nas K, Karacan I, Sarac AJ, Koyuncu H, Ataoğlu S, Erdoğan F. Traumatic spinal cord injuries in southeast Turkey: an epidemiological study. *Spinal Cord*. 1997;35(8):531-3.
20. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalinkiliç A, Unalan HI, Nas K, Orkun S, Tekeoglu . Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord*. 2000;38(11):697-701.
21. Roche SJ, Sloane PA, McCabe JP. Epidemiology of spine trauma in an Irish regional trauma unit: a 4-year study. *Injury*. 2008;39(4):436-4.

22. Wyndaele M, Wyndaele JJ. Incidence, prevalence and epidemiology of spinal cord injury: what learns a worldwide literature survey? *Spinal Cord*. 2006;44(9):523-9.
23. O'Connor PJ. Prevalence of spinal cord injury in Australia. *Spinal Cord*. 2005; 43(1):42-6.
24. Dahlberg A, Kotila M, Leppänen P, Kautiainen H, Alaranta H. Prevalence of spinal cord injury in Helsinki. *Spinal Cord*. 2005;43(1):47-50.
25. Stevan Kirshblum, Çeviri: Erhan B, Bardak AN. In: Delisa J ed - Arasil T, Gök H, Yavuzer G, EDs. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon İlkeler ve Uygulamalar*. İkinci Baskı, Ankara, GüneşTıp Yayınevi,2007; sf. 1715-1751.
26. Zileli M. Omurilik yaralanmasında epidemiyoloji ve prognoz. In Zileli M, Özer F. EDs. *Omurilik ve Omurga cerrahisi*. İzmir, Meta Basım Evi.2002; Sf: 885-892.
27. Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM. Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* 1993;59:75–89.
28. Anderson TE, Stokes BT. Experimental models for spinal cord injury research: physical and physiological considerations. *J Neurotrauma* 1992;9(Suppl 1):S135–42.
29. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *JAMA* 1911;57: 877-880.
30. Freeman, I. W. and Wright, T. W. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. *Ann. Surg.* 1953;137, 433-443.
31. Kajihara, K., Kawanga, H. and de la Torre, J. C. Demethyl sulfoxide in the treatment of experimental spinal cord injury. *Surg. Neurol.* 1973;1, 16-22.
32. Koozekanani, S. H., Vise, W. M., Hashemi, R. M. and McGhee, R. B. Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. *J. Neurosurg.* 1976;44, 429-434.

33. Ayer, J. B. Cerebrospinal fluid in experimental compression of the spinal cord. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1919;2, 158-164.
34. McVeigh, J. F. Experimental cord crushes with especial reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the spinal cord affected. *Arch. Surg.* 1923;7, 573-600.
35. Thompson, J. E. Pathological changes occurring in the spinal cord following fracture dislocation of the vertebrae. *Ann. Surg.* 1923;78, 260-293.
36. Craig, W. M. Pathology of experimental compression of the spinal cord. *Proc. Staf Meeting Mayo Clinic* 1932;7, 680-692.
37. Tarlov, I. M., Klinger, H. and Vitale, S. Spinal cord compression studies: I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat.* 1953;70, 813-819.
38. Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003;28(13):1481-1484.
39. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W: Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* 2002; 27(14):1504 -1510.
40. Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003; 28(13):1481-1484.
41. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44 (5)1027 - 1040.
42. Tator CH, Fehlings MG: Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms *J Neurosurg*; 1991;75:15-26.
43. Tarlov IM: Spinal cord compression. Mechanism of paralysis and treatment. Springfield III, 1957; Charles C Thomas.
44. Pleban, PA., Munyani, A., Beachum, J.: Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. *Clin Chem.*, 1982; 28:311-316.

45. Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in. Wilkins RH, Rengachary (ed). Neurosurgery. McGrawHill,1996;pp 2623-2637.
46. Ross IB, Tator CH: Fooher studies of nimodipine in experimental spinal cord injury in rats. J Neurotrauma 1991;8:229-238.
47. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T et al. Relationship between free radikal production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. Brain Res. 1991;554:186-192.
48. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of Nacetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. Free Radic Biol Med 1989; 6(6): 593- 597.
49. Aydın A., Sayal A., Isimer A. Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi GATA ayın kitabı 2001; Sayı 20.
50. Dohrman G, Wagner FJ, Bucy P. The microvasculature in transitory traumatic paraplegia. An electron microscopic study of the monkey. J Neurosurg 1971;35:263–71.
51. Wagner F, Dhormann G, Bucy P. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. J Neurosurg 1971;35:272–6.
52. Ducker T. Experimental injury of the spinal cord. In: Handbook of clinical neurology. Vinken P, Bruyn GW, editors. New York: Elsevier, 1976:9–26.
53. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. J Neurosurg 1971;35:700–8.
54. Bresnahan J. An electron-microscopic analysis of axonal alterations following blunt contusion of the spinal cord of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). J Neurol Sci 1978;37:59–82.
55. Bresnahan J, King J, Martin G, et al. A neuroanatomical analysis of spinal cord injury in the rhesus monkey. J Neurol Sci 1976;28:521–42.
56. Blight A. Delayed demyelination and macrophage invasion: a candidate for secondary cell damage in spinal cord injury. CNS Trauma 1985;2:299–315.

57. Means E, Anderson D. Neuronophagia by leukocytes in experimental spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 1983;42:707–19.
58. Senter HJ, Venes JL. Loss of autoregulation and posttraumatic ischemia following experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1979;50:198–206.
59. Fehlings M, Tator C, Linden R. The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials and spinal cord blood flow. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989;74:241–59.
60. Carlson G, Gorden C, Nakazowa S, Wada E, LaManna J. Perfusion limited recovery after spinal cord injury. *Spine* 2000;25(10):1218–26.
61. Carlson G, Gorden C, Wada E, Nakazawa S, Biro C, LaManna J. Vascular reperfusion and neural preservation after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1998;15:860.
62. Levi L, Aizik W, Belzberg H. Hemodynamic parameters in patients with acute cervical cord trauma: description, intervention, and prediction of outcome. *Neurosurgery* 1993;33(6):1007–16.
63. Nashmi R, Fehlings MG: Role of voltage gated K⁺ channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator*. 2001;14:5-9.
64. Stys PK, Waxman SG, Ransom BR: Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian spinal CNS white matter: Role of Na⁺ channels and Na⁺-Ca⁺⁺ exchanger. *J Neurosci*. 1992;12:430-439.
65. Young W, Huang P, Kume K: Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the injury process: Editorler: Benzel EC, Tator CH. Bolum 4 , AANS, Illinois,1995;Sayfa 27-42.
66. Jike Lu, MD, Ken W. S. Ashwell, PhD, and Phil Waite, PhD Advances in Secondary Spinal Cord Injury Role of Apoptosis *SPINE* Volume 25, Number 14, pp 1859–1866.
67. Raff M. Cell suicide for beginners. *Nature* 1998;396:119–22.
68. Cohen JJ. Apoptosis. *Immunol Today* 1993;14:126–30.

69. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1992; 26: 239-245.
70. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature*, 1980; 284: 555-556.
71. Wyllie AH: The genetic regulation of apoptosis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1995; 5: 97- 104.
72. Nakano R: Apoptosis: Gene directed cell death. *Horm Res.* 1997; 48: 2-4.
73. Schwartzman RA, Cidloski JA: Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Reviews*.1993; 14: 133- 144.
74. Cohen JJ: Apoptosis: The physiological pathway of cell death. *Hosp Pract.* 1993; 15: 35-43.
75. Zurita M, Vaquero J: Presence and significance of CD-95 (Fas/APO1) expression after spinal cord injury. *J Neurosurg. (Spine)*. 2001;94: 257-264.
76. Li GL, Brodin G, Farroque M, et al: Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996; 55: 280-289.
77. Uçankale M: SJA6017 Noroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Taksim Eğitim Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniği, 2004, İstanbul.
78. Katoh K, Ikata T, Katoh S, et al: Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett.* 1996; 216: 9-12.
79. Lee D, Scott AL, Jerry LA: Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptosis and maintain cell functionality. *The J Biol Chem.* 2000; 275: 16007-16014.
80. Bracken MB, Holford TR: Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg.* 1993; 79: 500-507.

81. Bracken MB, Shepard MJ, Collinbs WF, et al: A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxane in the treatment of acute spinalcord injury. *N Engl J Med.* 1990; 322: 1405-1411.
82. Choi DW: Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture in calcium dependent. *Neurosci Lett.* 1985; 58: 293-297.
83. Choi WS, Lee EH, Chung CW: Cleavage of bax is mediated by caspase dependent or independent calpain activation in dopaminergic neuronal cells: protective role of Bcl 2. *J Neurochem.* 2001; 77: 1531-1541.
84. Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord.* 1998; 36: 683-690.
85. Lu J, Ashwell K, Ken WS, Waite P: Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine.* 2000; 25: 1859-66.
86. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature.* 1980, 284: 555-556.
87. Emery E, Aldana P, Bunge MB. Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* 1999;89: 911-920. .
88. Wolman L: The disturbance of circulation in traumatic paraplegia in acute and late stages: a pathological study. *Paraplegia.* 1995; 2: 213-226.
89. Krajewski S, Krajewska M, Ellerby LM, Welsh K, Xie Z, Deveraux QL, Salvesen GS, Bredesen DE, Rosenthal RE, Fiskum G, Reed JC: Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci, USA,* 1996; 96: 5752-5757.
90. Toshiyuki Nakagawa, Junying Yuan: Cross-talk between Two Cysteine Protease Families: Activation of Caspase-12 by Calpain in Apoptosis. *J. Cell Bio.* 2000; 150: 887-894.
91. Takagi T, Takayasu M, Mizuno M et al: Caspase activation in neuronal and glial apoptosis following spinal cord injury in mice. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2003;43: 20-29.

92. Chan S.L, Mattson MP: Caspase and calpain substrats: Roles in synaptic plasticity and cell death. *J. Neurosci. Res.*1999; 58: 167-190.
93. Swapan KR, Edward LH, Naren LB: Calpain in the pathophysiology of spinal cord injury: neuroprotection with calpain inhibitors. *Brain Res. Reviews.* 2003; 42: 169-185.
94. Kaya M: Bir kalpain inhibitörü olan AK295'in nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Taksim Eğit. Araç. Hast. Nöroşirurji Kliniği, 2005, İstanbul.
95. Li M, Ona VO, Chen M, Kaul M et al: Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience.* 2000; 99: 333-342.
96. Choi DW: Calcium mediated neurotoxicity: relationship to spesific channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci.* 1998; 11: 465- 469.
97. Himi T, Ishizaki Y, Murota S: A caspase inhibitor blocks ischaemia induced delayed neuronal death in the gerbil. *Eur J Neurosci.* 1998;10: 777- 781.
98. Yakovlev AG, Faden AI: Caspase-dependent apoptotic pathways in CNS injury. *Mol Neurobiol.*2004; 24: 131-144.
99. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW: Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci.*1997; 15: 5395-5406.
100. Hall E, Braughler J. Free radicals in CNS injury. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 1993;71: 81–105.
101. Anderson DK, Braughler JM, Hall ED, Waters TR, McCall JM, Means ED. Effects of treatment with U-74006F on neurological outcome following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1988;69: 562–7.
102. Hall ED. Effects of the 21-aminosteroid U74006F on post-traumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 1988;68: 462–5.

103. Hall ED, Yonkers PA, Horan KL, Braughler JM. Correlation between attenuation of posttraumatic spinal cord ischemia and preservation of tissue vitamin E by the 21-aminosteroid U74006F: evidence for an in vivo antioxidant mechanism. *J Neurotrauma* 1989;6:169–76.
104. Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ: Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *BrainRes.* 1991; 547:344- 348.
105. Choi DW: Excitotoxic cell death. *J Neurobiol.* 1992; 23: 1261 1276.
106. Regan FR: the vulnerability of spinal cord neurons to excitotoxic injury: Comparison with cortical neurons. *NeurosciLett.* 1996;213:9-12.
107. Alessandri B, Bullock R: Glutamate and its receptors in the pathophysiology of brain and spinal cord injuries. *Prog Brain Res.* 1998; 116:303-330.
108. Faden A. Opioid and nonopioid actions mechanisms may contribute to dynorphin's pathophysiological actions in spinal cord injury. *Ann Neurol* 1990;27:67–74.
109. Faden A, Jacobs P, Holaday J. Opiate antagonist improves neurologic recovery after spinal injury. *Science* 1981;211:493–4.
110. Faden A, Jacobs T, Holaday J. Thyrotropin-releasing hormone improves neurologic recovery after spinal trauma in cats. *N Engl J Med* 1981;305:1063–7.
111. 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* 1990;322(20):1405–11.
112. Uzun O, Unal S. Guncel bilgiler ışığında Enfeksiyon hastalıkları. *Bilimsel Tıp*, Ankara 2002;821-834.
113. Greene KA, Marciano FF, Sonntag VKH. Pharmacological management of spinal cord injury: current status of drugs designed to augment functional recovery of the injured human spinal cord. *J Spinal Disord* 1996;9(5):355–66.
114. Greene KA, Marciano FF, Sonntag VKH. Pharmacological strategies in the treatment of spinal cord injuries: a critical review. *Crit Rev Neurosurg* 1994;4:254–64.

115. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. GM-1 ganglioside in human spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992;9(2):S517–30.
116. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal cord injury—a randomized placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 1991;324(26):1829–38.
117. Bregman BS, Broude E, McAtee M, Kelley MS. Transplants and neurotrophic factors prevent atrophy of mature CNS neurons after spinal cord injury. *Exper Neurol* 1998;149(1):13–27.
118. Bregman BS, Diener PS, McAtee M, Dai HN, James C. Intervention strategies to enhance anatomical plasticity and recovery of function after spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997;72:257–75.
119. Bregman BS, McAtee M, Dai HN, Kuhn PL. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exper Neurol* 1997;148(2):475–94.
120. Diener PS, Bregman BS. Fetal spinal cord transplants support growth of supraspinal and segmental projections after cervical spinal cord hemisection in the neonatal rat. *J Neurosci* 1998;18(2):779–93.
121. De La Torre JC. Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 1981;6(4):315–35.
122. Lewin MG, Hansebout RR, Pappius HM. Chemical characteristics of spinal cord edema in cats: effects of steroids on potassium depletion. *J Neurosurg* 1974;40:65.
123. Nacimiento AC, Bartels M, Herrmann HD. Dexamethasone prevents loss of axonal conduction and reflex activity, and reduces spread of structural damage in acute spinal cord trauma. *Soc Neurosci Abstr* 1979;5: 727.
124. Ducker TB, Zeidman SM: Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* 1994; 19: 2281-2287.

125. Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5):265-279.
126. Tuma RF; Vasthare US, Arforks KE, Young WF. Hypertonic saline administration attenuates spinal cord injury. *J Trauma* 1997;42: 54-60.
127. Marion DW. Head and spinal cord injury. *Neurol. Clin.* 1998; 16(2):485-502.
128. Imanaka T, Hukuda S, Maeda T. The role of GM-1 ganglioside in the injured spinal cord of rats. *J Neurotrauma* 1996;13:163-170.
129. Bracken MB, Shepard M, Holford TR. Methylprednisolone or tirilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurgery* 1998;89: 699-706.
130. Hurlbert RJ. Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standard of care. *J Neurosurgery* 2000;93(suppl):175-179.
131. Nesathurai S. Steroids and spinal cord injury: revisiting the NASCIS 2 and NASCIS 3 trials. *J Trauma* 1998;45: 1088-1093.
132. Rhoney DH, Luer MS, Hughes M. New pharmacological approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 1996;16: 382-392.
133. Hall ED. effects of the 21-aminosteroid U-74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 1988;6: 176-179.
134. Kaptanoğlu E, Tator CH. Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma strat. In Zileli M; Omurilik ve omurga cerrahisi 2nd ed. 2002, s:813-832.
135. Hall ED, Wolf DL, Althaus JS. Beneficial effects of the alpha opioid receptor antagonists. *Brain Res* 1987;435:174-180.
136. Faden AI, Takemore AE, Portogese TS. Alpha selective opiate antagonists norbinaltorphimine improves outcome after spinal cord ischemia. *J Neurosurg* 1986; 64:951-961.
137. Imanaka T, Hukuda S, Maeda T. The role of GM-1 ganglioside in the injured spinal cord of rats. *J Neurotrauma* 1996;13:163-170.

138. Faden AI. Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997; 72:377-386.
139. Hall ED, Braugler JM. Role of lipid peroxidation in posttraumatic spinal cord degeneration. *CNS Trauma* 1987;3:281-293.
140. Weir B. Calcium antagonists, cerebral ischemia and vasospasm. *Can J Neurol* 1984; 11:239-246.
141. Suzer T, Coskun E, Islekel H. Neuroprotective effects of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999;37:480-484.
142. Teng YD, Wrathall JR. Local blockade of sodium channels by tetrodotoxin ameliorates tissue loss and long term functional deficits resulting from experimental spinal cord injury. *J Neurosci* 1997;17:4359-4366.
143. Schwartz G, Fehlings MG. Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with Riluzole. *J Neurosurg* 2001;94:245-56.
144. Katzung BG. *Basis and clinical pharmacology*. Stamford: Appleton-Lange 1998; 304-317.
145. Woodman D.D.: Erythropoietin, *Comparative Haematology International*; 2:1-7, 1992.
146. Dordal M.S., Wang F.F., Goldwasser E.: The role of carbohydrate in erythropoietin action, *Endocrinology*; 116:2293, 1985.
147. Miyake T., Kung CKH. and Goldwasser E.: Purification of human erythropoietin, *J. Biol. Chem.* 252:5558-5564, 1977.
148. Wang F.F., Kung CKH., Goldwasser E.: Some chemical properties of human erythropoietin, *Endocrinology*; 116:2286, 1985.
149. Fisher J.W.: Erythropoietin, In Massry S.G., Glassock R.J., *Textbook of Nephrology*, 3rd Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland USA,; 191-197, 1995.

150. Annable L., Cotes P.M., Mussett M.V.: The second international reference preparation of erythropoietin, human, urinary, for bioassay, *Bull. Org. Mond. Sante*; 47: 99-112, 1972.
151. Fried W., Barone-Varelas J., Morley C.: Factors that regulate extrarenal erythropoietin production. *Blood Cells*; 10: 287, 1984.
152. Krantz S.B. : Erythropoietin, *Blood*; 77(3):419-434, 1991.
153. Naughton B.A. , Birnbach D.L. Liu P. , et al. : Erythropoietin production and kupffer cell alterations following nephrectomy, hypoxia or combined nephrectomy and hypoxia, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*; 160:170-174, 1979.
154. Jacobson L.O., Goldwasser E., Fried W., Plzak L.: Role of the kidney in erythropoiesis, *Nature*; 179:633, 1957.
155. Caro J., Erslev A.J., Silver R., Miller O., Birgegard G.: Erythropoietin production in response to anemia or hypoxia in the newborn rat, *Blood*; 60(4):984-988, 1982.
156. Giger U.: Erythropoietin and its clinical use, *Comp. Continuing Education Article*; 14(1):25-34, 1992.
157. Rodgers G.M., Fisher J.M., George W.J.: The role of renal adenosine 3', 5'-Monophosphate in the control of erythropoietin production, *Am. J. Med.*; 58:31-38, 1975.
158. Zanjani E.D., Poster J., Burlington H.: Liver as a primary site of erythropoietin formation in the fetus, *J. Lab. Clin. Med.*; 89:640, 1977.
159. Cotes P.M.: Erythropoietin hormones in blood, 3rd Ed., Vol.4, Academic Press Inc., London; 195-211, 1983.
160. Spivak J.L. and Watson A.J.: Hematopoiesis and the Kidney *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, Second Ed., Raven Press, Ltd., New York; Chapter 42, 1553-1593, 1992.
161. Goldwasser E., et al.: The effect of interleukin-3 on hemopoietic precursor cells. In: *Normal and neoplastic hematopoiesis*, Alan R. Liss, New York; pp: 301-309, 1983.
162. Youssoufian H., Longmore G., Neumann D., Yoshimura A., Lodish H.F.: Structure, function and activation of the erythropoietin receptor, *Blood*; 81:2223-2236, 1993.

163. Sawyer S., Krantz S.B., Sawada K.: Receptors for erythropoietin in mouse and human erythroid cells and placentas, *Blood*; 74(1):103-109, 1989.
164. Sawada K., Krantz S.B., Dai C.H., Koury S.T., Horn S.T., Glick A.D., Civin C.: Purification of human blood burst-forming units-erythroid and demonstration of the evolution of erythropoietin receptors, *J. Cell Physiol.*; 142:219, 1990.
165. Sawyer S.T. : Receptors for erythropoietin. Distribution, structure and role in receptor-mediated endocytosis in erythroid cells, In Harris JR (ed): *Blood Cell Biochemistry*, vol I, New York, NY, Plenum; pp:365, 1990.
166. Erslev A.J. : Erythropoietin, *N. Eng. J. Med.*; 324(19):1339-1344, 1991.
167. Juul S.E. , Yachnis A.T., Rojiani A.M., Christensen R.D.: Immunohistochemical localization of erythropoietin and its receptor in the developing human brain, *Pediatric and Developmental Pathology*; 2:148-158, 1999.
168. Anagnostou A., Liu Z., Steiner M., Chin K., Lee E.S., Kessimian N., Noguchi C.T.: Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 91: 3974-3978, 1994.
169. Anagnostou A., Lee E.S., Kessimian N., Levinson R., Steiner M.: Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on erythro-endothelial cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 87: 5978-5982, 1990.
170. Chin K., Yu X., Cokic B.B., Liu C., Shen K., Mohrenweiser H.W., Noguchi C.T.: Production and processing of erythropoietin receptor transcripts in brain. *Molecular Brain Research*; 81: 29-42, 2000.
171. Koury M.J., Bondurant M.C.: Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells, *Science*; 248:273, 1990.
172. Wintrobe M.M.: *Clinical Hematology*, Lea-Febiger, Philadelphia; 690, 1981.
173. Spivak J.L., Hogans B.B.: The in vivo metabolism of recombinant human erythropoietin in the rat, *Blood*; 73:90-99, 1989.
174. Naets J.P., Wittek M.: A role of the kidney in the catabolism of erythropoietin in the rat, *J. Lab. Clin. Med.*; 84:99-106, 1974.
175. Fu J.S., Leria J.J.L., Rice J.C., Fisher J.W.: Pharmacokinetics of erythropoietin in intact and anephric dogs, *J. Lab. Clin. Med.*; 111:669-676, 1983.

177. Piroso E., Erslev A.J., Flaharty K.K. et al.: Erythropoietin life span in rats with hypoplastic and hypoplastic bone marrows, *Am. J. Haematol.*; 36:105-110, 1991.
178. Dilek İ., Uysal V.A., Üstün C.: Rekombinant Human Eritropoietin ve klinik uygulamaları, *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi*; 7(2):1-7, 1997.
179. Fisher J.W.: Erythropoietin: Physiology and pharmacology update, *Exp. Biol. Med.*; 228(1):1-14, 2003.
180. İşlek İ., Albayrak D.: Eritropoietin, *O.M.U. Tıp Dergisi*; 10(1-2):65-72, 1993 .
181. Macdougall I.C. : Optimizing the use of erythropoietic agents-pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations, *Nephrol. Dial. Transplant.*; 17(5):66-70, 2002.
182. Johnson C.A., Wakeen M., Taylor C.A., Zimmerman S.W., Burkart J.,Bhattacharya A., Kosorok M.R.: Comparison of intraperitoneal and subcutaneous epoetin alfa in peritoneal dialysis patients, *Peritoneal Dialysis International*;19(6):578-582, 1999.
183. Tarlov I.M.: Acute spinal cord compression in paralysis, *J. Neurosurg.*; 36:10-20,1972.
184. Morhishita E., Masuda M., Nagao M., Yasuda Y., Sasaki R.: Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death, *Neuroscience*; 76(1):105-116, 1997.
185. Sadamoto Y., Igase K., Sakanaka M., Sato K., Otsuka H., Sakaki K., Masuda S., Sasaki M.: Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery, *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 253:26-32, 1998.
186. Zaman K., Ryu H., Hall D., O'Donovan K., Lin K.I., Miller M.P., Marquis J.C., Baraban J.Y., Semenza G.L., Ratan R.R.: Protection from oxidative stress-induced apoptosis in cortical neuronal cultures by iron chelators is associated with enhanced DNA binding of hypoxia-inducible factor-1 and ATF-1/CREB and increased expression of glycolytic enzymes, p21 waf1/cip1 and erythropoietin, *J. Neurosci.*; 19(22):9821-9830, 1999.9(6):578-582, 1999.

187. Miyamoto T.A.: A word of caution in interpreting the ischemic time causing apoptosis in spinal cord ischemia, *The J. Thoracic Cardiovascular Surg.*; 117:1038- 1039, 1999.
188. Shabsigh R, Kaufman JM, Steidle C, Padma-Nathan H. Randomized study of testosterone gel as adjunctive therapy to sildenafil in hypogonadal men with erectile dysfunction who do not respond to sildenafil alone. *J Urol.* 2004;172:658-63.
189. Wespes E, Amar E, Hatzichristou D, et al. EAU Guidelines on erectile dysfunction: an update. *Eur Urol.* 2006;49: 806-15.
190. Allen D, Seftel. Phosphodiesterase type 5 inhibitors: Molecular pharmacology and interactions with other phosphodiesterases *Current Pharmaceutical Design* 2005;11: 4047–4058.
191. Neumeyer K, Kirkpatrick P. Tadalafil and vardenafil. *Nat Rev Drug Discover.* 2004 Apr;3(4): 295-296
192. Blount MA, Beasley A, Zoraghi R, Sekhar KR, Bessay EP, Francis SH, Corbin JD. Binding of tritiated sildenafil, tadalafil, or vardenafil to the phosphodiesterase-5 catalytic site displays potency, specificity, heterogeneity, and cGMP stimulation. *Mol Pharmacol.* 2004 Jul;66(1):144-52
193. Borel O, Cecil, Andy Mckee, Augusto Para, Michael M Haglund, Amy Solan: Possible role for vascular cell proliferation in cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2003 Feb;34(2):427-33
194. Li Zhanga, Zhenggang Zhanga, Rui Lan Zhanga, Yisheng Cuia, Margot C. LaPointeb, Brian Silvera, Michael Choppa, Tadalafil, a long-acting type 5 phosphodiesterase isoenzyme inhibitor, improves neurological functional recovery in a rat model of embolic stroke, *brain research* 1118(2006)192-198
195. Schwarz ER, Kapur V, Rodriguez J, Rastogi S, Rosanio S. The effects of chronic phosphodiesterase-5 inhibitor use on different organ systems. *Int J Impot Res.* 2007 Mar-Apr;19(2):139-48. Epub 2006 Jun 8. Review
196. Okhawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95: 351-358.
197. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37: 112– 9.

198. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37: 277–85.
199. Kim P, Schini VB, Sundt TM Jr, Vanhoutte PM. Reduced production of cGMP underlies the loss endothelium-dependent relaxations in the canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *Circ Res*. 1992 Feb; 70(2): 248-56
200. Serarslan Y, Yönden Z, Ozgiray E, Oktar S, Güven EO, Söğüt S, Yılmaz N, Yurtseven T. Protective effects of tadalafil on experimental spinal cord injury in rats. *J Clin Neurosci*. 2010;17(3):349-52.

