

**T.C.**  
**SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**İZMİR BOZYAKA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**  
**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ**  
**ŞEF: PROF. DR. OSMAN ARSLAN BORA**

**AKUT TORAKAL MEDULLA SPİNALİS**  
**LEZYONUNDA HİPERBARİK OKSİJENİN SİNİR**  
**İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**  
**DENEYSEL ÇALIŞMA**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. KAMİL DAYAN**  
**İZMİR 2009**

## İÇİNDEKİLER

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| GİRİŞ VE AMAÇ .....                                       | 1  |
| GENEL BİLGİLER .....                                      | 2  |
| Omurilik Embriyolojisi .....                              | 2  |
| Omurilik Anatomisi .....                                  | 3  |
| Omurilik Travmasının Tarihçesi .....                      | 8  |
| Fizyopatoloji .....                                       | 10 |
| Birincil hasar mekanizmaları .....                        | 10 |
| İkincil hasar mekanizmaları .....                         | 11 |
| 1. Vasküler mekanizmalar ve Endotel hasarı .....          | 13 |
| 2. Eksitotoksisite .....                                  | 15 |
| 3. Serbest Radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonu .....  | 16 |
| 4. Nitrit oksit .....                                     | 19 |
| 5. Araşidonik Asit metabolizması .....                    | 21 |
| 6. Yangısal yanıt .....                                   | 21 |
| 7. Elektrolitler ile ilişkili ikincil hasar .....         | 22 |
| 8. Opiat reseptörleri .....                               | 24 |
| 9. Apoptoz .....                                          | 24 |
| 10. Azalmış ATP üretimi .....                             | 25 |
| Omurilik Travmasında medikal Tedavi yaklaşımları .....    | 29 |
| 1. Metilprednizolon .....                                 | 30 |
| 2. Amonosteroidler(Lazoroidler) .....                     | 31 |
| 3. Opioid reseptör antagonistleri .....                   | 32 |
| 4. NMDA- AMPA- Kainat reseptör antagonistleri .....       | 32 |
| 5. Kalsiyum kanal blokörleri .....                        | 32 |
| 6. Sodyum kanal blokörleri .....                          | 33 |
| 7. Potasyum kanal blokörleri .....                        | 33 |
| 8. Magnezyum .....                                        | 34 |
| 9. Kaspaz ve kalpain inhibitörleri .....                  | 34 |
| 10. Antioksidanlar .....                                  | 35 |
| 11. Tirotropin salıcı hormon(TRH) ve TRH analogları ..... | 35 |
| 12. Gangliozidler .....                                   | 36 |
| 13. Eritropoietin .....                                   | 36 |
| 14. Hipotermi-Epidural Soğutma .....                      | 36 |
| 15. Araşidonik Asit metabolizması modülatörleri .....     | 37 |
| 16. Diğer Tedavi denemeleri .....                         | 37 |
| Hiperbarik oksijen Tedavisi .....                         | 39 |
| GEREÇ YÖNTEM .....                                        | 45 |
| BULGULAR .....                                            | 65 |
| TARTIŞMA .....                                            | 82 |
| SONUÇ .....                                               | 90 |
| KAYNAKLAR .....                                           | 91 |

## TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince eğitimim ve öğrenimim için katkıda bulunan kliniğimizin tüm değerli uzmanlarına, tezimin hazırlanışında bana yol gösteren ve katkıda bulunan Prof. Dr.Osman Arslan Bora'ya, gösterdikleri dostluk ve destek için tüm çalışma arkadaşlarıma, tezimde yaptıkları katkılarından dolayı Doç.Dr.Taner Dağcı, Doç. Dr.Sibel Konyalıoğlu'na ve Uzm. Dr. Figen Aydın'a, manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme, asistanlık süresince benden desteğini esirgemeyen sevgili dostlarıma teşekkür ederim...

## KISALTMALAR

|                                     |                                                     |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| ADP.....                            | Adenozin difosfat                                   |
| ATA .....                           | Absolute atmosfer                                   |
| ATP .....                           | Adenozin trifosfat                                  |
| BSA.....                            | Siğır serum albumini                                |
| BOS.....                            | Beyin omurilik sıvısı                               |
| CPP.....                            | 3-(2-karboksipiperazin-4-yl) propil-1-fosforik asit |
| COX .....                           | Siklooksijenaz                                      |
| EAA .....                           | Eksitotoksik aminoasit                              |
| EPO .....                           | Eritropoietin                                       |
| GABA .....                          | Gama amino butirik asit                             |
| GM-1 .....                          | Monosialotetraheksosil                              |
| GPx.....                            | Glutasyon peroksidaz                                |
| GR .....                            | Glutasyon redüktaz                                  |
| HBO .....                           | Hiperbarik oksijen                                  |
| HNE .....                           | Hidroksinonenal                                     |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ..... | Hidrojen peroksit                                   |
| IL .....                            | İnterlökin                                          |
| LDH .....                           | Laktat dehidrogenaz                                 |
| LPO .....                           | Lipid peroksidasyonu                                |
| MDA .....                           | Malondialdehit                                      |
| MgCl <sub>2</sub> .....             | Magnezyum klorür                                    |
| MgSO <sub>4</sub> .....             | Magnezyum sülfat                                    |
| NMDA .....                          | N-metil-D-aspartat                                  |
| NO .....                            | Nitrik oksit                                        |
| NOS.....                            | Nitrik oksit sentaz                                 |
| nNOS.....                           | Nöronal nitrik oksit sentaz                         |
| eNOS .....                          | Endotelial nitrik oksit sentaz                      |
| NR .....                            | Nitrat redüktaz                                     |
| O <sub>2</sub> <sup>-</sup> .....   | Süperoksit radikali                                 |
| OH <sup>-</sup> .....               | Hidroksil radikali                                  |
| OİH.....                            | Omurilik hasarı                                     |
| pO <sub>2</sub> .....               | Parsiyel oksijen basıncı                            |
| PSS .....                           | Periferik sinir sistemi                             |
| SKY.....                            | Spinal kord yaralanması                             |
| SOD.....                            | Süperoksit dismutaz                                 |
| SR.....                             | Serbest radikal                                     |
| SSS .....                           | Santral sinir sistemi                               |
| TM.....                             | Trilazad mesilat                                    |
| TNF .....                           | Tümör nekrozis faktör                               |
| TRH.....                            | Tirotropin salıverici hormon                        |
| TXA <sub>2</sub> .....              | Tromboksan A <sub>2</sub>                           |
| XOD .....                           | Ksantin oksidaz                                     |

## ÖZET

**AMAÇ:** Bu çalışmada HBO uygulamasının deneysel spinal kord yaralanmasında akut dönem iyileşmeye etkisi HBO'nun ameliyat öncesi, sonrası veya öncesi ve sonrası verilerek etkinliği karşılaştırılarak araştırıldı.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Sprague-Dawley cinsi 48 erkek sıçan (200-250 gr) sekiz gruba ayrıldı. Spinal kord hasarlanması ekstradural olarak T9-11 seviyesine yerleştirilen anevrizma klibi ile uygulandı. Gruplar HBO almayan OİH grup ve kontrolü ile ameliyat öncesi HBO uygulaması, ameliyat sonrası HBO uygulaması, ameliyat öncesi ve sonrası HBO uygulaması ile bunların her birinin laminektomi kontrol grupları şeklinde hazırlandı. Ameliyat öncesi HBO uygulaması alan gruplar 5 gün (günde 1 seans 2.8 ATA'da ) HBO aldıktan sonra 6.cı gün opere edilerek 24 saat sonra sakrifiye edildi. Ameliyat sonrası HBO uygulaması gören gruplar ameliyattan sonraki 1.ci saatte en geç başlanarak 7 gün (günde 1 seans 2.8 ATA'da) HBO gördükten sonra 8.ci gün sakrifiye edildi. Ameliyat öncesi ve sonrası HBO uygulaması gören gruplarda ise ameliyat öncesi 5 gün (günde 1 seans 2.8 ATA'da ) sonrası 6.cı gün ameliyat edildi ve yine ameliyat sonrası en geç 1.saatte başlanacak şekilde 7 gün (günde 1 seans 2.8 ATA'da) HBO sonrası 8.ci gün sakrifiye edildiler. Spinal kord örneklerinin biyokimyasal sonuçları ile sıçanların fonksiyonel iyileşmeleri karşılaştırıldı.

**BULGULAR:** Laminektomi ile OİH'lı grup karşılaştırıldığında SOD, GPx, düzeylerinde anlamlı artma ( $p<0,05$ ) NOS ve NO düzeylerinde ( $p<0,05$ ) anlamlı azalma yapılan travmanın yeterli olduğunu göstermiştir. OİH ile PreopOİH karşılaştırıldığında NOS ve NO düzeylerinde anlamlı artma( $p<0,05$ ) bulundu, OİH ile PostopOİH karşılaştırıldığında SOD düzeylerinde anlamlı azalma ( $p<0,05$ ) NOS ve NO düzeylerinde anlamlı artma ( $p<0,05$ ) bulundu, OİH ile PrepostOİH karşılaştırıldığında SOD ve GPx düzeylerinde anlamlı azalma ( $p<0,05$ ) NOS ve NO düzeyinde anlamlı artma ( $p<0,05$ ) bulundu, PreopOİH ile PostopOİH karşılaştırıldığında SOD düzeyinde anlamlı azalma ( $p<0,05$ ) saptandı, PreopOİH ile PrepostOİH karşılaştırıldığında yine SOD düzeylerinde anlamlı azalma ( $p<0,05$ ) bulundu, PostopOİH ile PrepostOİH karşılaştırıldığında ise GPx düzeylerinde anlamlı azalma ( $p<0,05$ ) saptandı.

BBB skorlamasına göre yapılan fonksiyonel iyileşmede ise OİH grubuna göre PostopOİH ve PrepostOİH'lı gruplarda anlamlı düzelme ( $p<0,05$ ) bulundu. Katalaz düzeylerinde ise hiçbir grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

**SONUÇ:** Sonuç olarak HBO uygulaması torakal spinal sinir hasarında biyokimyasal parametrelerde ve fonksiyonel iyileşme'de yararlı bulunmuştur. HBO uygulaması ameliyat öncesi dönemde yararlı olsa da ameliyat sonrası dönemde yararı katlanarak artmaktadır. Verilen HBO uygulamasının seansları arttıkça spinal sinir biyokimyasal değerlerinde anlamlı düzelme görülmüştür. Katalaz enziminin spinal sinirdeki enzim kinematığının belirlenmeden spinal hasar araştırılmasında kullanılmasının yararı saptanamadı.

**Anahtar Sözcükler:** HBO, sıçan, spinal kord hasarı, Superoksit dismutaz, Katalaz

## ABSTRACT

**OBJECTIVE:** In this study, the effect of HBO therapy on acute-phase healing in experimental spinal cord injury was addressed via the comparison of HBO's effectiveness with preoperative, postoperative or preoperative and postoperative administration.

**MATERIAL AND METHOD:** 48 male Sprague-Dawley rats (200-250 gr.) were divided into eight groups. The spinal cord injury was applied with an aneurysm clip placed at the T9-11 level. The groups were prepared as non-HBO Sci group and its control and preoperative HBO therapy, postoperative HBO therapy, preoperative and postoperative HBO therapy groups and their respective laminectomy control groups. Preoperative HBO therapy groups received HBO for five days (1 fraction a day at 2.8 ATA); they were operated on the 6<sup>th</sup> day and sacrificed 24 hours later. The postoperative HBO therapy groups received HBO therapy for 7 days starting at the latest from the 1<sup>st</sup> hour after operation (1 fraction a day at 2.8 ATA) and were sacrificed on the 8<sup>th</sup> day. Preoperative and postoperative HBO therapy groups received HBO therapy for 5 days preoperatively (1 fraction a day at 2.8 ATA); then, they were operated on the 6<sup>th</sup> day and continued to receive HBO therapy for another 7 days starting at the latest from the 1<sup>st</sup> hour following operation (1 fraction a day at 2.8 ATA) and they were sacrificed on the 8<sup>th</sup> day. Biochemical results of spinal cord samples and functional healing of rats were compared.

**RESULTS:** When the laminectomy group was compared with the Sci group, the significant increase in SOD, GPx levels ( $p<0,05$ ) and significant decrease in pNOS and NO levels ( $p<0,05$ ) indicated the adequacy of the trauma. When Sci and PreopSci were compared, a significant increase ( $p<0,05$ ) was detected in NOS and NO levels, while the comparison of Sci and PostopSci revealed a significant decrease in SOD levels ( $p<0,05$ ) and a significant increase in NOS and NO levels ( $p<0,05$ ). When Sci and PrepostSci were compared, a significant decrease was detected at SOD and GPx levels ( $p<0,05$ ), as well as a significant increase in NOS and NO levels ( $p<0,05$ ). The comparison of PreopOIH and PostopSci indicated a significant decrease in SOD levels ( $p<0,05$ ), while the same significant decrease in SOD levels was observed in the comparison of PreopSci and PrepostSci ( $p<0,05$ ). The

comparison of PostopSci and PrepostSci indicated a significant decrease in GPx levels ( $p < 0,05$ ).

In terms of functional healing, which was evaluated on the basis of BBB scoring, significant improvement was detected ( $p < 0,05$ ) in PostopSci and PrepostSci, when compared to the Sci group. In catalase levels, however, no significant difference was detected in any of the groups.

**CONCLUSION:** As a result, HBO therapy was found to be beneficial for thoracic spinal nerve damage in terms of biochemical parameters and functional healing. While HBO therapy is already beneficial in preoperative period, its benefits increase by orders of magnitude in postoperative period. As the number of fractions given in HBO therapy increases, significant improvements were registered in biochemical values of the spinal nerve. The benefits of HBO use in spinal damage studies could not be identified without determining the enzyme kinetics of catalase in the spinal nerve.

**Keywords:** HBO, rat, spinal cord injury, Superoxide dismutase, Catalase.



## GİRİŞ ve AMAÇ

Medulla spinalis yaralanmaları yüksek oranda morbidite ve mortalite oluşturan, sosyoekonomik sorunları da beraberinde getiren travma grubunu oluşturur. Günümüzde teknolojinin gelişmesi ve motorlu taşıtların çoğalması ile artan trafik kazaları medulla spinalis yaralanmalarının daha fazla görülmesine neden olmuştur. Medulla spinalis yaralanmaları en çok genç erişkinleri etkilemekte ve 16-30 yaşları arasında daha sık görülmektedir. Vakaların yaklaşık yarısında komplet nörolojik defisit bulunurken; bunların % 54'ü kuadriplejik, % 46'sı ise paraplejiktir (1).

Medulla spinalis yaralanmalarına bağlı oluşan hasarı, bütünüyle önleyebilecek tedavi seçeneği, bütün araştırmalara rağmen halen bulunamamıştır. Bu hastaların yaşam boyu süren tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları ile yaşadıkları sosyal ve psikolojik sorunlar, ne kadar ciddi bir sağlık problemi ile karşı karşıya olduğumuzu göstermektedir.(2)

Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji oluşturmakla kalmayıp, pek çok organı ve sonuçta tüm organizmayı etkileyen patolojik olaylar zincirini başlatır. Dolaşım sistemi, solunum sistemi, sindirim sistemi, ürogenital sistem ve hatta endokrin ve immünolojik sistemler üzerine oluşturduğu etkiler nedeni ile ağır patolojik durumlara ve hatta ölüme neden olabilir. Bu nedenle omurilik yaralanmalarında acil müdahale, nöroprotektif tedavi ve cerrahi tedavi kadar diğer sistemlerin korunmasına yönelik, destek tedavilerinin de önemi büyüktür.(1)

Erişkinlerde omurilik yaralanmasından sonra aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme genellikle çok sınırlıdır. Otopsi çalışmaları, omurilik yaralanmalarının çoğunda klinik olarak tam yaralanma olsa dahi omuriliğin anatomik olarak sağlam kaldığını göstermiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalar, spinal aksonların % 12 kadar az bir oranının korunmasının, nörolojik iyileşmeyi destekleyeceğini göstermektedir(1). Hasarlı bölgeyi geçebilen fonksiyonel akson oranını arttıran ya da bu aksonlardan gelen zayıf uyarılara alt motor nöronların yanıtını arttırıcı her türlü müdahale, nörolojik iyileşmede belirgin etki gösterebilir(3).

Omurilik yaralanmasından sonra nöronal dejenerasyon ve nöronların yaşamlarını sürdürme mekanizmalarını anlamak amacı ile pek çok çalışma

yapılmıştır. Tüm çalışmalara rağmen, omurilik yaralanmalarında nöroproteksiyon ve yaralanmış omuriliğin rejenerasyonu insanda henüz başarılamamıştır. Omurilik yaralanmalarında en etkin tedavi, çarpma etkisiyle başlayan ikincil hasarın önlenmesidir. Yapılan çalışmalar hiperbarik oksijen tedavisinin (HBO) omurilikte hipersatüre plazma düzeyini artırarak antioksidanları artırdığı, ödemi azalttığı, anjiogenezi artırarak dokulardaki oksijen miktarını arttırmak sureti ile sitotoksiklerin düzeyini azaltarak tedaviye katkıda bulunduğunu göstermiştir.

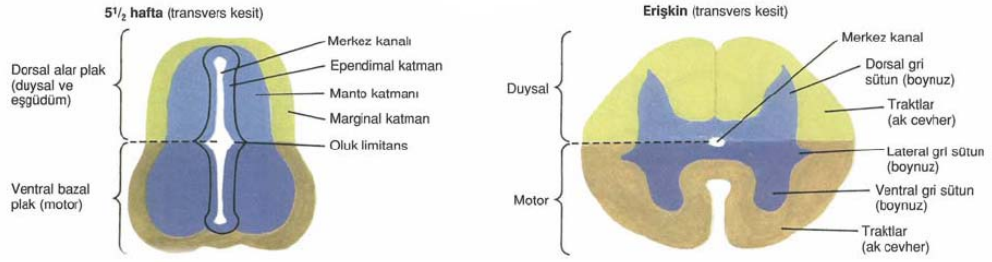
Bu çalışmada, deneysel omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi gözden geçirilmiş, yaralanmadan sonra gelişme gösteren ikincil zedelenme sürecinde tedavi amaçlı HBO'nun vazokonstriktif, antihipoksik, antiödematöz etkileri ve ortaya çıkacak olan sekonder hasar ürünlerini azaltarak koruyucu ve tedavi edici etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## **GENEL BİLGİLER**

### **OMURİLİK EMBRİOLOJİSİ**

Sinir sisteminin gelişmesi embriyonik diskin oluşması ile başlar. Sinir sistemi ektoderm katmanından meydana gelir. Embriyonik gelişmenin 18. günlük evresinde nöral plak, tüp ve tepe oluşur. Önce, blastoporus 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 midsagital bir nöral hendek belirir ve bunun her iki yanında yer alan ektodermal doku, nöral tepenin nöral katlar halinde zeminden yüksek bir yapı haline dönüşmesine katkıda bulunmak üzere programlanmıştır (4).

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(4).



**Şekil 1:** İntrauterin 5½ haftada omuriliğin transvers kesiti (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.'den Türkçeye çevrilerek alınmıştır).

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 (4).

## OMURİLİK ANATOMİSİ

### MAKROSKOPİK GÖRÜNÜM

Omurilik medulla oblongatanın uzantısı olup yaklaşık 46 cm kadardır. Atlas'ın üst kenarından başlar ve L1 vertebranın alt sınırı veya L2'nin üst kenar sınırına kadar intervertebral disk düzeyinde yer alan konus medüllaris denilen yassılaştırmış bir uca sonlanır. Konustan çıkan silindirik ve fibröz filum terminale koksiksin arkasına kadar uzanır. Duramater ve araknoid (dolayısıyla subaraknoid boşluk) ikinci sakral omura kadar uzanır (5).

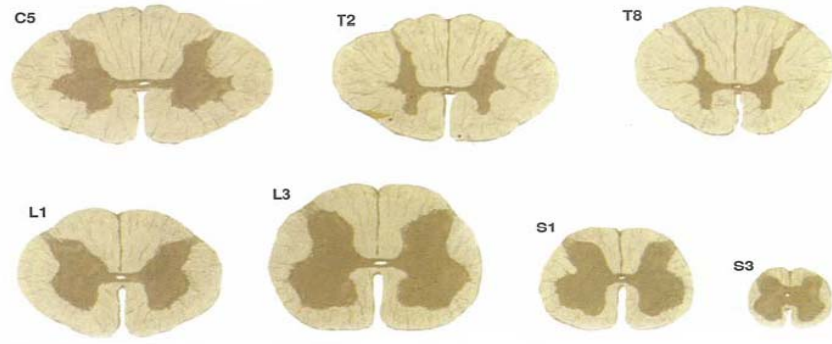
Omurilik, silindir şeklinde ön-arka yönünde hafifçe yassıdır. Ekstremitelere giden sinirlerle ilgili segmentlere karşılık gelen servikal ve lomber genişlemeler gösterir. Üst ekstremiteleri innerve eden sinirler dördüncü servikalden ikinci torakal segmente kadar, alt ekstremiteler ise üçüncü lomberden üçüncü sakrale kadar olan segmentlerle ilişkilidir (5).

**Meninksler:** Omurilik dura, araknoid ve piamater ile sarılı olup bu zarlar foramen magnumda karşılık gelen serebral meninks tabakaları ile devam etmektedir. Dışarıda yer alan katı fibroz zar olan duramater omurga kanalı duvarından bir epidural boşlukla ayrılmış olup, boşlukta yağlı gözenekli doku ve bir ven pleksusu bulunmaktadır. Duramater ile araknoid arasında potansiyel bir subdural boşluk bulunmakta ve burada son derece sıg, lenfe benzer bir sıvı bulunmaktadır (5). Spinal araknoid, ince bir membrandır. Bu zar piamaterden subaraknoid boşluk ile ayrılmış olup mezotelial septalar bulunmakta ve BOS yer almaktadır. Piamater ince bir vasküler bağ doku olup omurilik ve sinir köklerini sıkıca sarmalamıştır. Bu zar silindirik filum terminale ile devam eder. Pia her iki yanda duraya 22 tane uzantı ile bağlanmış olup bunlara ligamentum dentikulatum adı verilir (5).

**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. Omuriliğin alt kısmına bağlanmış sinir kökleri dışarı çıkış noktalarına kadar kauda ekina olarak aşağı inmektedir (5).

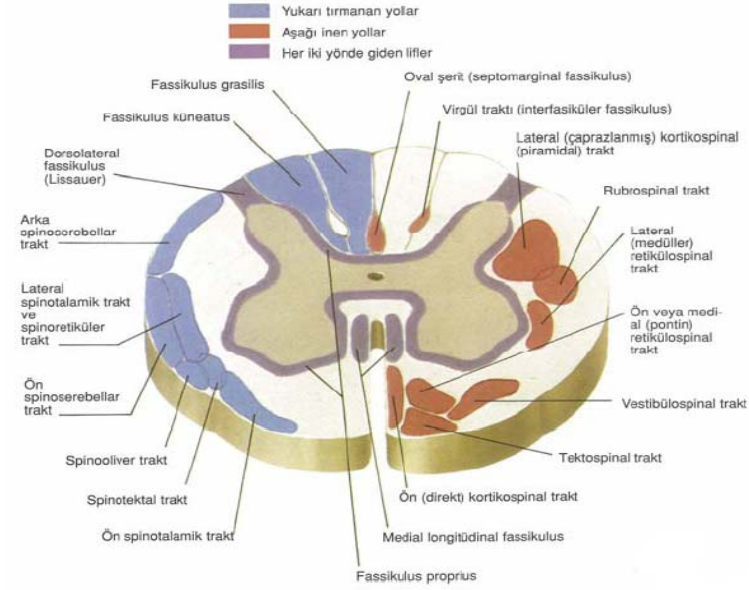
## **MEDULLA SPİNALİS İÇ YAPISI**

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 (5). 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 (5).



**Şekil 2:** Omuriliğin farklı seviyelerdeki transvers kesitleri (Netter FH: Beyin ve omuriliğin 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 ‘den Türkçeye çevrilerek alınmıştır.)

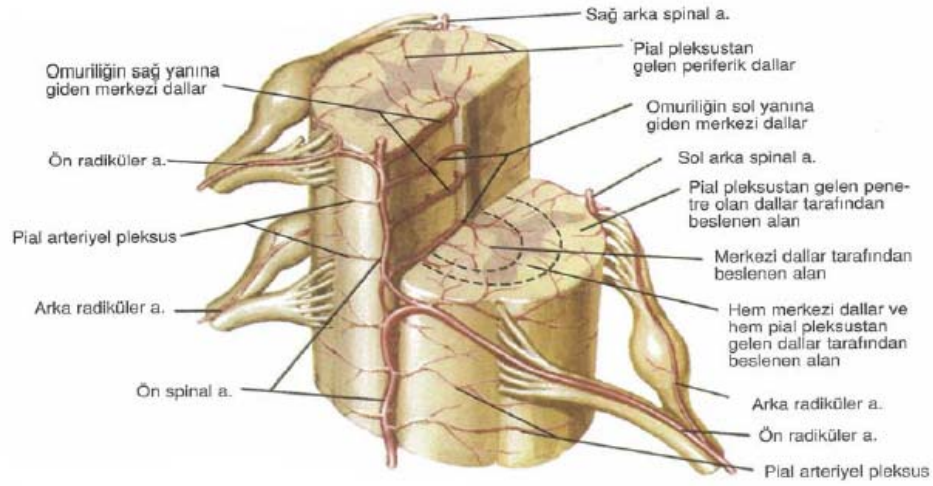
Enine kesitte gri madde, kanalis sentralisi içeren komissura grisea ile birbirine bağlanmış kolumna anterior ve kolumna posteriorlardan oluşan bir “H” harfi şeklinde görülür. Torasik ve üst lomber segmentlerinde küçük bir kolumna lateralis bulunur (6). Kolumna anteriorda sinir hücrelerinin çoğu büyük ve multipolardır. Aksonları spinal sinirlerin ön köklerinden iskelet kaslarını innerve eden alfa afferentler olarak çıkarlar. Daha küçük olanlar nöromusküler 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 nevri phrenici, n.nervi accesorii, n.lumbosacralis); lateral grup, servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur ve iskelet kası innervasyonundan sorumludur (6).



**Şekil 3:** Başlıca lif ve traktlar (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 ‘den Türkçeye çevrilerek alınmıştır.)

## OMURLIĞIN VASKÜLER YAPISI

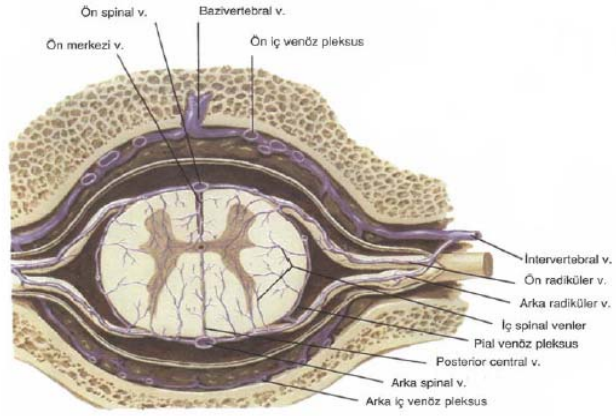
Omurlilik bir ön ve iki tane arka spinal arter oluşturan çok sayıda radiküler arter tarafından beslenir. Radiküler arterler her vertebral segment hizasında komşu arterlerden doğar. Birçok ince radiküler arter vertebral foraminadan sinir köklerine eşlik ederek mediale doğru seyrederek. Esas olarak sinir kökünün beslenmesi ile ilişkilidir. Daha kalın arterlerden bazıları dura mater’e erişirerek ince meningeal dallar verir sonra spinal arterleri oluşturmak üzere yukarı tırmanan ve aşağı inen dallara ayrılır(5). Ön spinal arter orta hat boyunca tüm omurlilik boyunca seyrederek Genel olarak her vertebral arterin dördüncü segmentinden doğan iki ön spinal dalın birleşmesinden oluşur. Ön spinal arterden gelen kan merkezi dallar ve pial pleksuslardan gelen penetre dallar yoluyla omurliliğin ön üçte ikisine dağılır. Omurliliğin dorsolumbosakral kısmı (T8’ den konus medullaris kadar olan) ana arter desteğini % 80 sol taraf interkostal (lombar) arterden doğan Adamkiewicz arterinden alır (5).



**Şekil 4:** Anterior spinal arter, posterior spinal arter ve radiküler arter arasındaki anastomoz (Netter FH: Beyin ve omuriliğin 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 ‘den Türkçeye çevrilerek alınmıştır.)

Arka spinal arterler eşleşmiş arterler olup omuriliğin tüm uzunluğu boyunca posterolateral yüzde seyreder. Radiküler arterlerin posterior dalları ile anastomoz yaparlar. Kanı omuriliğin kendilerine karşılık gelen tarafında arka üçte bir kısmına dağıtır (5).

**OMURİLİĞİN VENLERİ:** Dağılım şekilleri yönünden kendilerine karşılık gelen arterlere benzer ve pia materde bükümlü bir pleksus oluşturur. Venüller, ventral ve dorsal sinir köklerine bitişik olarak uzanan iki çift ön-yan ve arka-yan longitudinal venlere ve iki median longitudinal vene boşalan ön ve arka merkezi vene açılır. Yukarıda foramen magnum aracılığı ile medulla oblongatayı ve serebellumun alt yüzünü boşaltan venlerle bağlantı halindedir. Sinir kökleri ve radiküler arterlere eşlik eden ön ve arka radiküler venler intervertebral venleri yapmak üzere ön ve arka iç vertebral pleksuslardan gelen dallarla birleşir(5).



**Şekil 5:** Omuriliğin venleri (Netter FH: Beyin ve omuriliğin 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 ‘den Türkçeye çevrilerek alınmıştır.)

## OMURİLİK TRAVMASININ TARİHÇESİ

Spinal kord yaralanmalarının tarihçesi ile ilgili ilk referans Edwin Smith’in Surgical Papirus’unda yer alır (2). Yaklaşık 3 000 yıl önce yazılmış olan bu papirüste muhtelif olgular değerlendirilmekte ve hastalar tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmaktadır. (2). Hipokrat, M.Ö. 400 yıllarında paraplejiyi ilk kez tarif etmiş ve kolumna vertebralisin kırık ve çıkıkları ile ortaya çıkan paraliziler arasındaki ilişkiye dikkat çekmiş, ancak medulla spinalisin fonksiyonu hakkında net bir fikir belirtememiştir(2). Aulus Cornelius ise tedavi amacıyla bir traksiyon cihazı geliştirmiştir(2). Galen (M.S. 2.y.y) maymun ve diğer hayvanların spinal kordlarını kestikten sonra ortaya çıkan nörolojik defisitleri inceliyerek, farklı lezyonlara bağlı klinik tablolar hakkında veriler elde etmiştir(2).

Egeli Paulus (625-690) traksiyon ile omurilik hasarının önlenemeyeceğini düşünmüş ve ilk kez dekompresif cerrahi fikrini ortaya koymuştur. 19. yüzyıla kadar omurilik yaralanmalarında yaygın olarak konservatif yaklaşım tercih edilmesine karşın, Paulus’un dekompresif cerrahi fikrine dayanarak uygulanan cerrahi girişimlerde gelişimini devam ettirmiştir.(7) Vertebral kolon ve spinal kord yaralanmaları tarih boyunca ilgi uyandırmışsa da ilk fizyopatolojik çalışma 1890



yılında Schamus tarafından yapılmıştır (8). Deneysel medulla spinalis travma çalışmaları ise, 1911 yılında Allen ile başlamıştır (9). Allen, köpeklerde laminektomi sonrası omurilik üzerine ağırlık düşürerek kontüzyon tipi omurilik hasarı oluşturmuş ve uygulanan myelotominin ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağladığını ortaya koymuştur.(9) Bu çalışma daha önce yapılmış olan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ayrıca sekonder hasar konseptinde öncülüğünü yapmıştır.

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde omurilik çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede değişik miktarlarda travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir. 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.(10) Bu modellerle birlikte birçok deneysel omurilik hasan modeli geliştirilmiştir.(11)

**Tablo 1: Deneysel Spinal kord Yaralanması Modelleri (11).**

|                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A.Travmatik Yaralanma</b>                                                            |
| 1.Akut kinetik kompresyon: Kaf, klip, balon kompresyon, vertebral dislokasyon, impaktör |
| 2.Akut statik kompresyon: Ağırlık uygulama                                              |
| 3.Çarpma veya ağırlık düşürme                                                           |
| 4.Akselerasyon-deselerasyon                                                             |
| 5.Distraksiyon                                                                          |
| 6.Transseksiyon: Parsiyel veya komplet                                                  |
| <b>B. Non-travmatik Yaralanma</b>                                                       |
| 1.İskemi: Aort oklüzyonu, selektif arteriyel yada venöz oklüzyon                        |
| 2.Tümör kompresyonu: Ekstradural                                                        |
| 3.Kimyasal ve fotokimyasal                                                              |
| 4.Laser indüksiyonu                                                                     |

## **FİZYOPATOLOJİ**

### **BİRİNCİL HASAR MEKANİZMALARI**

Birincil mekanik zedelenme travma anında olan hasardır. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi ve penetran yaralanmalar nöral elemanların kendisinde veya omurilik damarlarında gerilme veya yırtılmaya neden olur. Diğer olası mekanik etkiler, kemik kısımlardan, ligamanlardan veya spinal kanal içindeki hematomlardan kaynaklanan kompresyonu içermektedir (12).

Bu kuvvetler sadece yaralanma esnasında akut olarak değil, kalıcı deformiteye ikincil olarak, kronik olarak da omuriliği tahrip edebilir. Posttravmatik kifoz gibi daha ileri yapısal deformasyonlar nörolojik defisitte kötüleşmeye neden olabilir. Yaralanmanın yaygınlığı ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli boyutlarına da dayanmaktadır. Geniş kanallar her hangi bir mekanik strese bir tampon sağlayabilse de, dar kanallarda böyle bir rezerv yoktur (13)

Birincil yaralanmanın dört karakteristik mekanizması vardır;

1. Persistan kompresyon ile darbe,
2. Transient kompresyon ile darbe,
3. Distraksiyon,
4. Laserasyon ve transeksiyon.

İlk ve en yaygın mekanizma persistan kompresyon ve darbedir. Burst kırıklarında geriye doğru yer değiştiren kemik fragmanların kordu sıkıştırması, kırık dislokasyon ve akut disk rüptürlerinde bu kanıtlanmıştır.(14)

İkinci mekanizma olan transient kompresyon ile yalnız darbe, altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerde hiperekstansiyon yaralanmalarında görülür (14). Distraksiyon, aksiyel planda spinal kolonu gerici kuvvetlerin oluşturduğu mekanizmadır.

Distraksiyon, fleksiyon, ekstansiyon, rotasyon ya da dislokasyondan kaynaklanan distraksiyonel kuvvetlerin spinal kordu ve/veya onun vasküler yapısını gerip yırtmasından kaynaklanır. Radyolojik anormallik olmaksızın spinal kord

yaralanmasının altında bu tip bir yaralanma yatabilir. Özellikle kartilajenöz vertebra cismi, gelişmemiş adale yapısı ve ligaman gevşekliği çocuklarda bu tip yaralanma için predispozan faktörlerdir. Aynı zamanda bu tip yaralanma travmanın radyolojik kanıtı olmadan yetişkinlerde altta yatan dejeneratif spinal hastalık durumunda SKY'na yol açan bir sendromdur (14).

Son mekanizma laserasyon ve transeksiyondur. Spinal kord laserasyonu ateşli silah yaralanması, keskin kemik fragman dislokasyonu ya da ileri derecede distraksiyondan kaynaklanır. Minör yaralanmadan komplet transeksiyona kadar değişik derecede olabilir.(14)

## **İKİNCİL HASARLANMA MEKANİZMALARI**

Omurilik yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, omurilikleri yaralanmış hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya atılmıştır.(9) Bu fenomenin açıklanması için, çeşitli patofizyolojik mekanizmalar öne sürülerek ikincil hasar kavramı gelişmiştir. Omurilik yaralanması sonrasında, omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Ducker bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiğini göstermiştir.(15)

Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji değildir. Beyindeki inen yolların nöronları omurilikteki lokal yaralanmadan (aksotomi) etkilenecek atrofi, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergilerler.(16)

Akut yaralamadan sonra kordda kanama, ödem, aksonal ve nöronal nekroz kist formasyonu ve enfarktın takip ettiği demiyelinizasyon gibi patolojik değişiklikler oluşur(12,16). Spinal şok, vasküler değişiklikler, hücre içi  $Ca^{+2}$  artışı, serbest radikal teorisi, endojen opioidler, enflamasyon ve apoptoz teorileri üzerinde en fazla durulan ikincil hasar mekanizmalarıdır (12,16).

**Tablo 2:** İkincil yaralanma mekanizmaları (12)

|                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------|
| Sistemik etkiler (Nörojenik şok)                                            |
| Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi           |
| Kalp basıncı kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon |
| Periferik dirençte azalma                                                   |
| Kalp debisinde azalma                                                       |
| Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasar                              |
| Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma                                      |
| Hemoraji: özellikle gri cevherde                                            |
| Mikrodolaşımda kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm                           |
| Biyokimyasal değişiklikler                                                  |
| Serbest radikal üretimi                                                     |
| Lipid peroksidasyon                                                         |
| Eksitotoksisite: glutamat                                                   |
| Nörotransmitter birikimi                                                    |
| Endojen opioidler                                                           |
| Katekolaminler: noradrenalin, dopamin                                       |
| Araşidonik asit salınımı                                                    |
| Eikozanoid üretimi                                                          |
| Prostaglandinler                                                            |
| Sitokinler                                                                  |
| Elektrolit kaymaları                                                        |
| İntraselüler kalsiyumda artış                                               |
| Ekstraselüler potasyumda artış                                              |
| Sodyum geçirgenliğinin yükselmesi                                           |
| Enflamatuar cevap                                                           |
| Serbest radikal üretimi                                                     |
| Akson yıkımı                                                                |
| Myelin artıklarının uzaklaştırılması                                        |
| Sitokinlerin salınımı                                                       |
| Glial hücre aktivasyonu                                                     |
| Oligodentrositlerde sitotoksik etkiler                                      |
| Wallerian dejenerasyon                                                      |
| Ödem                                                                        |
| Apopitozis                                                                  |
| Enerji metabolizmasında kayıp                                               |
| Azalmış ATP üretimi                                                         |



**SİSTEMİK VASKÜLER ETKİLER:** Akut omurilik yaralanması yaralanma şiddeti ve yaralanmanın seviyesi ile orantılı olarak birçok kardiovasküler ve hemodinamik etki yapar. Birçok çalışma posttravmatik hipotansiyon ve nörojenik şok gelişimini göstermiştir. Travmayı takiben sistolik arterial basınçta hafif ve kısa süreli bir artışı takiben, ortalama arter basıncında ve kardiyak outputta kalıcı bir düşüş olur. Hipertansif fazda plazma norepinefrin ve epinefrin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.(12)

**LOKAL VAKÜLER ETKİLER:** Omuriliğin çok farklı arteriyel kan basınçlarında omurilik kan akımını sabit tutma özelliğine otoregülasyon denir. Omurilik vasküler yatağında otoregülasyonun bozulması, perfüzyon basıncının düşmesi ile dokulara gereksinim duyduğu kadar metabolit ve oksijen ulaşmasını engelleyen nedenlerden biri de spinal şoktur (12). Tator ve arkadaşlarının klip kompresyon modeline göre yaptıkları omurilik yaralanmasında, hem yaralanma bölgesinde hem de sefalad ve kaudal komşu bölgelerde arterioller, kapiller ve venüllerde kanlanma durur.(12)

Beyaz cevher perfüzyonu travmadan sonraki 5. dakikada hızla azalır, 15. dakikadan sonra normale dönmeye başlar. Gri cevherde ise travmadan sonraki ilk 5 dakika içinde birçok hemorajik alan belirir. Perfüzyon travmadan saatler sonra bile yoktur. Lezyon bölgesinde, özellikle gri cevherde, omurilik kan akımının ileri derecede azalması iskemi gelişmesi ile sonuçlanır.(18) Posttravmatik iskeminin travmadan sonra saatler içinde kötüleşmesi, erken tedavi edilmesi halinde iskeminin önlenebileceğini düşündürmektedir. Posttravmatik omurilik iskemisi travma şiddeti ile lineer korelasyon göstermektedir. Omurilik yaralanma derecesi ve posttravmatik iskemi derecesi ile motor ve somatosensorial uyarılmış potansiyaller arasında lineer ilişkinin olduğunun bildirilmesi, posttravmatik iskeminin akson fonksiyonunun bozulması ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir.(19)

Sonuçlar göstermektedir ki beyaz cevherdeki iskemik lezyonlar anatomik olarak gri cevherdeki hemorajik lezyonlarla ilişkilidir.(19)

**ENDOTEL HASARI:** Yaralanmayı oluşturan mekanik travma, vazoaktif aminlerin salınımı, hemoraji, trombozis, platelet agregasyonu, endotel hasarı ve

şişme vazospazmı tetikleyebilir.(14) Direkt travmaya veya diğer tetikleyici ajanlara bağlı oluşan vazospazmın da iskemi'de önemli rol oynadığı gösterilmiştir (14). Ayrıca TXA2 gibi bazı maddelerin salınması sonucu oluşan tromboz da posttravmatik iskeminin şiddetlenmesine neden olmaktadır(14). Eksitotoksik aminoasitler de iskemi yapabilir.Nöronların iskemiye dayanıksızlığının sebebi bilinmemekle beraber glutamat sorumlu tutulmaktadır. (20)

Carlos ve Harlan endotel hasarının aktive olmuş nötrofiller tarafından olduğunu öne sürmüşlerdir(12). Endotel hasarına platelet yapışması, intravasküler platelet agregasyonu, mikrovasküler oklüzyon, emboli ve vazojenik ödemin eşlik etmesi nedeni ile endotel hasarını azaltmak için antiplatelet ajanlar kullanılmıştır(12). Posttravmatik omurilik kan akımını arttırmak için pek çok ajan denenmiştir. SSS'de hücre içine kalsiyum girişinin hücre ölümünde son basamaklardan birinin olduğunun gösterilmesi, kalsiyum kanal blokerlerinin serebral vazospazmda kullanılmasını gündeme getirmiştir. Bir kalsiyum kanal blokeri olan nimodipinde omurilik yaralanma modellerinde denenmiştir. Kan transfüzyonu ve dopamin, adrenalin ve nimodipin, dextran ve nimodipinin omurilik yaralanmasından sonra kan akımını arttırdığı ve nörolojik iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir(12).

## 2. EKSİTOTOKSİTE

Omurilik yaralanması sonrası eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir(20). İn vitro çalışmalar EAA'nın 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. Glutamatın toksik özelliklerini açıklamak amacı ile glutamat, SSS'ne enjekte edilmiş ve glutamatın eksitotoksik olduğu, bunun reseptör blokörleri ve serbest radikal tutucular ile önlendiği gösterilmiştir(20).

Bu sonuçlar bize glutamat toksisitesinde serbest radikallerin de olaya katıldığını göstermiştir. 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.(18)

Travmatik beyin ve omurilik yaralanmasından sonra glutamat reseptörlerinin hızla azalması, hücrenin kendisini eksitotoksisteden koruma çabası olabilir. Omurilik yaralanmasında glutamat antagonistleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. N-methyl D-Aspartate (NMDA) reseptör antagonisti olan 3-propyl-l-phosphonic acid (CPP) ve dizocilopine (MK-801) ile yapılan çalışmalar travmatik ve iskemik omurilik hasarında histolojik ve klinik iyileşmeye neden olduklarını göstermiştir(21). NMDA reseptörleri fizyolojik koşullarda ağırlıklı olarak öğrenme ve bellek fonksiyonunda rol alırken non-NMDA reseptörleri yaygın olarak hızlı eksitator sinapslarda bulunurlar . Bir çok çalışma intraselüler  $Ca^{+}$  akışı için ana rotanın NMDA reseptörleri olduğunu göstermiştir (22).

### **3. SERBEST RADİKAL OLUŞUMU VE LİPİD PEROKSİDASYONU**

İlk kez 1970'lerde Demopoulos tarafından ortaya atılan hipoteze göre oksijen serbest radikalleri ve ürünleri ilerleyici doku hasarına neden olurlar(23). Serbest radikaller dış yörüngelerinde fazladan (çiftlenmemiş) bir elektron bulunduran kuvvetli reaktif moleküllerdir. Biyolojik dokularda serbest radikallerin en sık kaynağı moleküler oksijen radikalleridir. Reaktif oksijen türevleri arasında süperoksit radikal ( $O_2$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikal ( $OH$ ), perhidroksi radikali ( $HO_2$ ) ve organik peroksi radikal ( $ROO$ ) sayılabilir. Mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit radikali oluşur. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksiti hidrojen peroksite, katalaz enzimi de hidrojen peroksiti  $H_2O$  ve  $O_2$  ye dönüştürür(24).

Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller enzimatik antioksidan mekanizmalar (sitokrom oksidaz sistemi, SOD'ler, katalazlar, glutatyon peroksidazlar) ya da nonenzimatik antioksidanlar ( tokoferol, karoten, glutatyon, askorbik asit, ürat, sistein, bilirubin, albumin), veya metal bağlayıcılar (seruloplazmin, transferrin, laktoferrin) ile inaktive edilerek doku hasardan korunur. SOD canlılarda olduğu ilk gösterilen serbest radikal süperoksitdir. Aerobik canlılarda süperoksitlerin  $H_2O_2$ 'e çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir



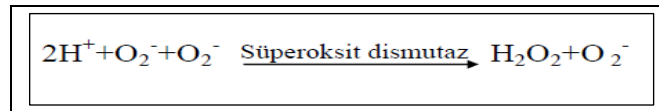
enzim olan SOD tarafından katalizlenir ve bu tepkime “dismutasyon tepkimesi” diye adlandırılır(25).

SSS, askorbat, glutatyon ve tokoferol gibi antioksidan mekanizmalara yüksek oranda sahiptir. Ancak travma sonrası dokuda bu antioksidan mekanizmalar hızla azalır. Oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler, nükleik asitler ile reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitler oluştururlar ve bunun sonucunda daha fazla serbest radikal oluşur. Omurilik yaralanmasından sonra kanamayı takiben hemoglobin, ferritin ya da transferinden demir açığa çıkar. Serbest demir veya demir şelatları iki seviyede serbest radikal oluşumunda etkili olur. Bunlardan birincisi süperoksit iyonu oluşumunda Fe<sup>2+</sup> ‘nin oto-oksidasyonu olup, ikincisi ise Fe<sup>2+</sup>’nin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında okside olup hidroksil iyonu oluşumuna sebep olmasıdır(26).

Fe<sup>+</sup> ve Cu<sup>+</sup> gibi transisyonel metal iyonları, oksidan kaynaklı doku hasarı üzerinde major rol oynarlar. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini, katalaz ve glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksiti metabolize ederler. Katalaz, SOD ve glutatyon redoks siklusundaki enzimler artmış oksidan stresiyle başa çıkacak primer antioksidan defans mekanizmasıdır. Bu enzimlerin aktif oluşu daha zararlı olan hidroksil radikali oluşumunun engellendiğini gösterir (27).

Katalaz tetramerik hemoproteindir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> reaksiyonunu katalizler. Redoks siklusunun hidroperoksitlerin redüksiyonundan sorumlu ana enzimi glutatyon peroksidazdır. 4 selenyum atomu bağlı tetramerik bir proteindir (28).

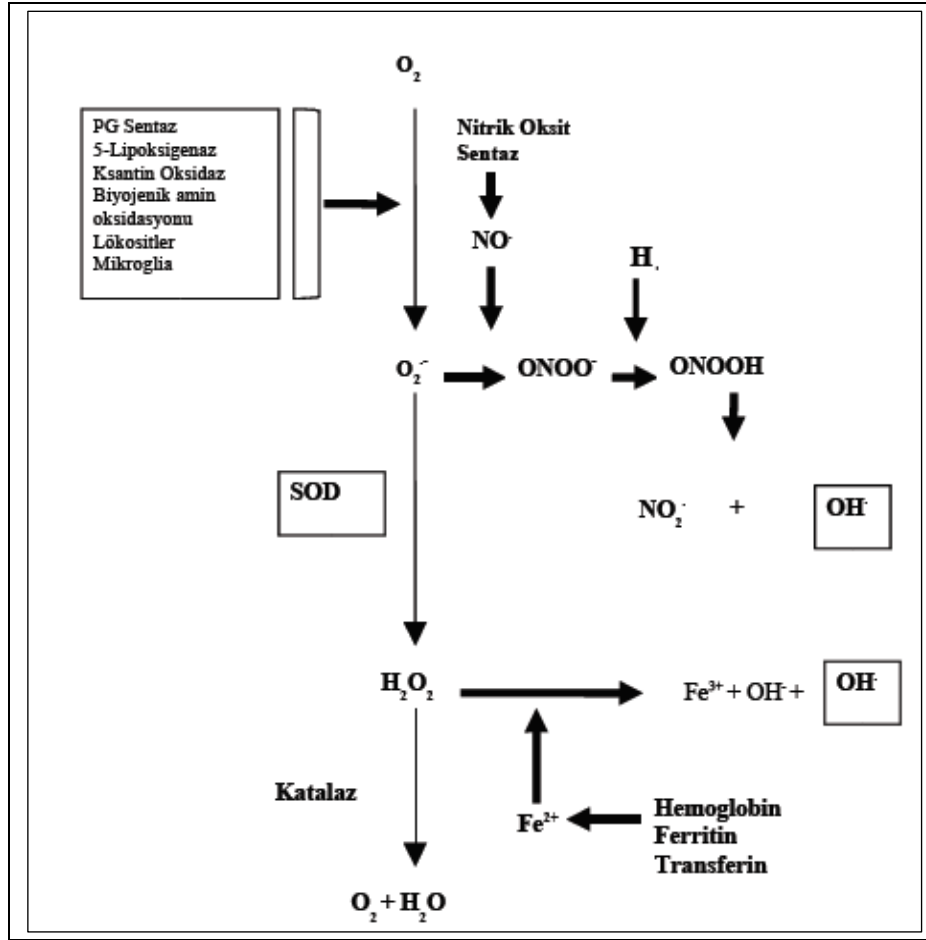
Süperoksit dismutaz, iki değerli bakır içermekte olup, süperoksit radikalini (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) bu özelliğinden dolayı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’ye dönüştürebilmektedir.



**Şekil 7:** Süperoksit dismutaz enziminin katalizlediği reaksiyon(28)

Serbest yağ asitlerinin serbest radikal ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Oluşan lipid peroksidasyonu ile birlikte mikrovasküler endotel hasarı oluşarak kan beyin bariyerinin bozulduğu deneysel çalışmalarda

gösterilmiştir(29). Akrolein (2-propenal) ve 4-hidroksinonenal (HNE) farklı hücrelerdeki zararlı etkileriyle LPO'nun en toksik yan ürünleridir. Akrolein ve HNE'in travma sonrası 4.saatte yükselmeye başlayarak, 24 saat sonra pik değerine ulaştığı ve 7 gün boyunca yüksek seviyesini koruduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre bir lipid peroksidasyon ürünü olan akroleinin, mekanik stimulusu takiben oluşan sekonder nöronal dejenerasyonda kritik bir rolü olabilir(29).



Şekil 8: Serbest radikal oluşum kaynakları (26)

#### 4. NİTRİK OKSİT

NO sekonder hasarda önemli bir rol oynar . Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-Arginin'den sentezlenen potent serbest radikal yapıda bir moleküldür (30). NO'in en küçük endojen biyolojik mediyatörlerden biri olduğu ve diğer dokularda olduğu gibi SSS'de bir takım fizyolojik ve patolojik olaylar içinde yer aldığı bilinmektedir. Vasküler tonusun düzenlenmesi, platelet fonksiyonların düzenlenmesi, inflamasyona immünolojik cevap, otonomik tonus ve duysal iletinin regülasyonu gibi birçok fizyolojik olayda rol oynarken aynı zamanda önemli bir nörotransmitter-nöromodulatördür(30).

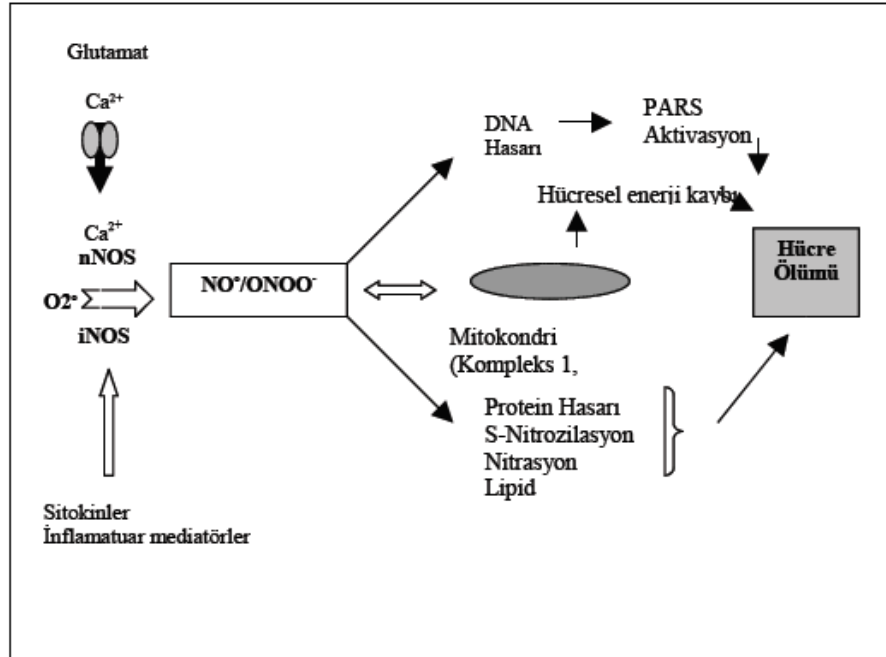
NO, NOS un bilinen 3 izoformu tarafından sentezlenmektedir. Nöronal NOS(kalsiyum bağımlı) (nNOS), endotelial (eNOS) ve üçüncü izoformu inducible NOS(Kalsiyum bağımsız) (iNOS) ki bu enflamatuvar ve diğer uyaranlarla sentezlenir (31). Özellikle patolojik koşullarda iNOS'a bağlı NO aşırı üretimi ve peroksinitrit oluşumu; protein hasarı, lipid peroksidasyonunun artışı, DNA hasarıyla birlikte hücresel enerji kaybı mitokondrial elektron transport zinciri enzimleri olan kompleks 1-2 ve akonitaz'ın demir sülfür merkezlerine etki ederek inhibisyonu sonucu mitokondrial respirasyonun durması, DNA replikasyonunun inhibisyonu ile hücre ölümüne neden olur (31). NO, spinal kord hasarına cevap olarak artış göstermekte ve NOS'ın farklı kaynaklardan oluşumuna bağlı olarak travma sonrası değişik zamanlarda yükselmektedir(31).

Diğer SSS yaralanma tiplerine benzer şekilde spinal kord yaralanmasından sonrada doku NO seviyeleri hızla yükselir. SKY sıçan modellerinde immünohistokimyasal çalışmalarda yaralanma sonrası nötrofil, makrofaj, ependimal, endotelial ve glial hücreleri içeren iNOS immünreaktivitesi gösterilmiştir . İNOS sağlıklı dokularda bulunmazken patolojik süreçlerde inflamatuvar mediatörler ve sitokinler tarafından stimülasyonu sonucu makrofajlar ve glial hücreler, endotelial hücreler, fibroblastlar, nöronlar ve vasküler düz kas hücreleri tarafından üretilir(30)

DeneySEL SKY'nda NOS inhibitörlerinin sonuçları iyileştirdiğini, kötüleştirdiğini ya da etkisi olmadığını bildiren çalışmalar vardır. Tekrarlayan yaralanma sonrası non-spesifik NOS inhibitörü olan L-NAME enjeksiyonlarının sıçanda SKY sonrası motor kayıpları azalttığı gösterilmiştir. Başka bir sıçan

çalışması ise rölatif spesifik iNOS inhibitörü olan aminoguanidinin uzun dönem fonksiyonel sonuçları iyileştirdiği ve posttravmatik kavitenin volümünü azalttığını gösterdi.(32) NOS'ın selektif uzun dönem inhibitörleri SKY'da nöroproteksiyonu indükleyebilir. NOS hasarlı nöronlarda NOS upregülasyonu gerçekleşir. Bu NO'nin nörotoksik olduğunu gösterir. Torasik spinal kordda NOS (+) hücreler dorsal boynuzda, dorsolateral funikulusta, lateral spinal nöronlarda ve santral kanal çevresinde bulunurlar. Dorsal boynuzun spinal kord lamina 1 ve 3 de NOS nöronları GABA, glisin ve asetilkolin içerirler. Bu NO ve diğer nörotransmitterlerin etkileşiminin SSS regülasyonunda önemli rol oynadığını gösterir. NOS nöronları spinal kord kan akımına etki eder ve kan \_ spinal kord bariyeri fonksiyonunu regüle ediyor görülmektedir. Dorsal hornda spinal kord iskemisi veya perifer sinir yaralanmasını takiben NOS ekspresyonu görülür. Kord hemiseksiyonu ya da darbe yaralanması NOS(+) internöronlarda özellikle lezyon rostralinde upregülasyonla sonuçlanır.(32)

NOS ekspresyonunun selektif inhibitörlerle blokajı SKY'nın indüklediği kan – spinal kord bariyer tahribatı, ödem formasyonu, hücre reaksiyonlarının azaltılması düzelmiş motor fonksiyonlarla ilişkilidir(32).



Şekil 9: NO ve/veya peroksinitrit ilişkili nörotoksitite (32).

## 5. ARAŞIDONİK ASİT METABOLİZMASI

Ca<sup>+</sup> bağımlı proteazlar ve kinazlar hücre membranını tahrip ederek hücrenin ultrastrüktürünü bozarlar. Lipaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz aktivasyonu, araşidonik asidin tromboksan, lökotrien ve prostaglandinlere dönüşmesini sağlar (14). Bu dakikalar içerisinde olur. 24 saat sonra ortaya çıkan gecikmiş araşidonik asit yüksekliğinin sebebi; Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz pompasının inhibisyonu ve doku ödemeine bağlıdır. Bunun sonucunda COX 1' in persistan birikimi görülür. COX 1' den sonra ortaya çıkan ürünler lokal kan akımı yavaşlaması, platelet agregasyonu ve vazokonstriksiyona yol açar. Bu inflamatuvar cevap lipid peroksidasyonuna neden olur. Hasar görmüş membranlarda lipid peroksidasyonu sonucunda serbest radikaller üretilir. Bu serbest radikaller membran hasarına devam eder ve bu döngü endojen antioksidanlar olan SOD, alfa tokoferol (vitamin E) tarafından kırılana kadar devam eder (14).

Artmış ekstrasellüler eksitatör nörotransmitterler nöronal aktivasyonu uyarırlar. Bu da kortikal nöronlardan COX 2'nin salınımına yol açar. COX 2'nin selektif inhibisyonunun çeşitli hayvan deneylerinde SKY sonrasında düzelmeyi kolaylaştırdığı görülmüştür (14).

## 6. YANGISAL YANIT

Omuriliğin travmatik yaralanması sonrası yangısal cevabı saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde tepe değerine ulaşır. Bu cevap endotel hasarı, yangı mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik yangısal hücrelerin göçü ve mikroglianin aktivasyonu olarak gözlemlenir. Lezyon bölgesine yangısal hücre infiltrasyonu iki dalga halindedir. Birinci dalgada polimorfonuklear granulosit infiltrasyonu varken, ikinci dalga monosit ve makrofajlar tarafından gerçekleştirilir. Polimorfonuklear granulositler lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infitre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. Polimorfonuklear granulosit infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarının korelasyon göstermesi, kan içindeki kemoatraktan maddelerin bu infiltrasyonun miktarını belirlemede önemini göstermiştir.(2)

İkinci dalgada yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferel hücreler monosit/makrofaj ve mikroglial gruptur. Burada asıl fonksiyonun hücre debrisinin fagositozu olduğu düşünölmektedir.(2) Makrofajlar ve nötrofiller doku harabiyeti ve lezyonun büyümesinde rol alırlar. Makrofaj ve mikroglialar sitokinlerin salınımıyla (TNF, İL-1, IL-6, İL-10) sekonder patolojik ve yangısal yanıtta rol alırlar. Yangı'nın SKY sonrası hem nörokonstrüktif hem de nörodestriktif işlemlere yardımcı olduğuna inanılır.(33)

## 7. ELEKTROLİTLER İLE İLİŞKİLİ SEKONDER HASAR

**Kalsiyum Kanalları:** Kalsiyum iyon konsantrasyonu ekstrasellöler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmasında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetmezliğı ve bunun neticesinde  $\text{Na}^+$  -  $\text{Ca}^{++}$  değıştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, bu büyük gradient farkı ile hücre içine  $\text{Ca}^{++}$  iyon girişı olur.  $\text{Ca}^{++}$  iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktifleştirerek hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Fosfolipazlar hücre membranlarının yıkılmasını sağlayarak araşidonat gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz araşidonik asiti prostaglandinler ve lökotrienlere dönüştürür. Bundan başka, kuvvetli vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla  $\text{Ca}^{++}$  girişine neden olurlar.(34)

Voltağ bağımlı  $\text{Ca}^+$  kanalları, eksitabl hücrelerde  $\text{Ca}^+$  girişı için önemli bir yolak oluşturlar. Fizyolojik özelliklerinin temelinde ve farmakolojik profillerine göre bu kanallar düşük voltağ aktivasyonlu ya da T tip kanallar ve birkaç yüksek voltağ aktivasyonlu kanal olarak L, N, P, Q ve R tipleri şeklinde klasifiye edilirler.(34) İntrasellöler  $\text{Ca}^+$  artışı proteazların, endonökleazların aktivasyonuna apoptoz, nekroz, mitokondrial hasar ve asidoza öncülük eder ve artmış serbest radikal üretimi aksonal yaralanma ile sonuçlanır.(35) Voltağ bağımlı  $\text{Ca}^{++}$  kanallarının bloke edilmesinin (nimodipin, nikardipin) omurilik yaralanmasında klinik sonuçları iyileştirmezken kan akımını artırdığı gösterilmiştir.(36)

**Sodyum Kanalları:** SSS beyaz cevher yaralanmasındaki anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur.  $\text{Na}^+$  kanallarından hücre içine  $\text{Na}^+$  akar. İntrasellüler  $\text{Na}^+$  konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca,  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine zararlı miktarda  $\text{Ca}^{++}$  girişine neden olur.(37)

Sodyuma bağlı hücre yaralanmasının potansiyel mekanizmaları;

1. Sitotoksik ödem indüksiyonu,
2. İntrasellüler fosfolipaz aktivitesinin stimölasyonu
3.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  kapısı yolu ile intrasellüler asidoz
4.  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  değiştiricisinin ters çalışması ile intrasellüler  $\text{Ca}^{++}$  artışı.

Travmatik aksonal yaralanma voltaj bağımlı kanallar yolu ile  $\text{Na}^+$  girişi sonrası sodyumda bir yükselme ile ilişkilidir ve membran bağımlı  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPaz disfonksiyonu ile sodyum çıkışı azalır.  $\text{Na}^+$  artışı  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  değişimi yoluyla intrasellüler asidoza neden olur.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  değişimi intrasellüler pH'nın regölasyonunda primer role sahiptir.(37)

**Potasyum Kanalları:** Omurilik yaralanmasından sonra subpial bölgede kalan aksonlarda fonksiyonel ileti bozulur. Bu aksonlarda refraktör periyot uzar, yüksek frekanslı ileti bozulur, aktivasyon eşiği yükselir, ısı bağımlı ileti bloğu olur ve ileti hızı azalır. Hızlı aktive olan  $\text{K}^+$  kanalları miyelin tarafından sarılmış olarak paranodal ya da internodal bölgelerde yerleşmiştir. Miyelin yaralandığında hızlı  $\text{K}^+$  kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli  $\text{K}^+$  denge potansiyeline yaklaşıır ve aksonal ileti bloğu oluşur.(36)

**Magnezyum;** İyi bilinen nöroprotektif ajandır. Kan - spinal kord kaçışını endotelde glutamat antagonizması ile önleyebilir. İskemi - reperfüzyon hasarı glutamat ve serbest radikal oluşumunda belirgin yükselmeye neden olur. İskemide vasküler sistemde serbest radikallerin ilk hedefi özellikle endoteldir.  $\text{Mg}^{++}$ 'un lipid peroksidasyon yan ürünlerini glutamat antagonizmasından kaynaklanan indirekt etkisi ile azalttığına inanılmaktadır (38).

## 8. OPIAT RESEPTÖRLERİ

Deneyisel modeller, SKY sonrasında belirgin bir endojen opioid peptid lokal salınımı olduğunu göstermiştir (17). İnsan omurilik yaralanmasında en çok etkilenen opioidin dinorfin olduğu ve dinorfin düzeyinin travmanın şiddeti ile direkt ilişkili olduğu bildirilmiştir (39). Fakat intratekal dinorfin uygulanmasıyla paralizi ve hücre hasarı bulguları ortaya çıkar. Opiat reseptörlerini aktive etmeyen bazı dinorfin fragmanlarının nörolojik fonksiyonu bozması, öte taraftan kappa selektif opioid reseptör antagonistlerinin omurilik yaralanmasında nöroprotektif olduklarının bulunması bu mekanizmanın oldukça karmaşık olduğunu göstermektedir. NMDA reseptör blokerlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar veren etkisini önlemesi opioidlerin eksitoksik aminoasit salınımını artırdığını ve zararlı etkilerini eksitator aminoasitler üzerinden yaptığını göstermektedir.(40) Opiat reseptör antagonistleri testiküler testosteron sekresyonunu artırır. Testosteron nöroprotektif olabilir, reaktif gliozisi ve astrositik proliferasyonu azaltırken, periferik sinir rejenerasyonunu hızlandırır.(34) İkincil hasarın önlenmesindeki opiat reseptörlerinin bloke edilme mekanizması dolaylı ve komplekstir.(34)

## 9. APOPTOZ

Apopitotik hücre ölümü indüklenebilir hücreler tarafından spesifik indükleyici bir uyarana aktif olarak regüle fizyolojik ya da programlanmış hücre ölümüdür (41). Apopitotik hücre ölümü travmatik SKY'ndan sonra 3 saat ile 8 hafta arasında gözlemlenir. Apoptoz ölen hücrenin fagositozu ile sonuçlanan, nüklear kromatinin kondensasyonu, sitoplazmik organellerin paketlenmesi ve plazma membranında değişiklikler ile karakterize bir hücre ölümü çeşididir. Apoptoz intrasellüler proteolitik bir süreç tarafından regüle edilir. Primer olarak sistein proteinlerinden oluşan kaspaz ailesinin üyelerinin proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteinini bölerek aktiflemesi ile hücre ölümünün gerçekleştirilmesi esasına dayanır.(42)



Apoptozun başlatılması için üç prototip sinyal yolu tanımlanmıştır: Birinci yolda ölüm reseptörleri pro-kaspaz-8'i ve muhtemelen diğer başlatıcı kaspazları aktifler. İkinci yol mitokondri tarafından kontrol edilir ve mitokondride yerleşmiş apoptoz proteaz aktive edici faktör-1 (APAF-1) ve kaspaz-9'u içerir. Yakın zaman önce üçüncü olarak endoplazmik retikulum apoptoz yolu tanımlanmıştır.(42)

Kaspazların buradaki kritik rolü araştırılmaktadır. Kaspazlar iskemi sonrasında ve genetik kontrolle aktive olurlar. Geçici iskeminin in vivo modellerinde kaspazları inhibe eden ajanlar yaralanmayı azaltmada oldukça etkilidir. Kaspaz-1 ve kaspaz-3 iskemide başlayan hücre ölümü kaskadının en önemli mediatörleridir. Kaspazları bloke eden maddeler irreversibldir (43). Bir hayvan modellerinde kaspaz-1 aktivasyonu gösterilmiştir ve kaspaz inhibisyonu doku hasarını azaltmakla kalmayıp nörolojik fonksiyonları düzelttiği de görülmüştür. Kaspaz 3 aktivasyonunun da SKY'sı sonrası iskemi ve travmada rol aldığı gösterilmiştir. Bütün spinal kord hücresel komponentlerinde (nöronlar, astrositler, oligodendrositler ve mikroglia) apoptotik hücre ölümü gerçekleşir. (43).

Glial ölümü inhibe etmek; nöronal korunmayı en azından iki benzer mekanizma ile destekler. Birincisi glial hasarlı nöronlara ölmek üzere olan yararlı hücrelerin iyileşmesi için gerekli olan nörotrofik ve metabolik desteği sağlar. İkincisi apoptoz sırasında ölen hücreler sitokinler, serbest radikaller gibi ek apoptoz mediyatörleri salgılar ki bunlar diğer komşu hücrelere fazladan toksik etkilidir (43).

## 10. AZALMIŞ ATP ÜRETİMİ

ATP en önemi enerji bileşenidir. Vücuttaki her dokunun yapı ve fonksiyonu dolaylı ve dolaysız olarak ATP veya eşdeğer yüksek enerjili nükleoidlere bağlıdır.(44) İskemik durumda doku enerji kaynaklarında ATP seviyeleri azalır. İleri derecede oksijen eksikliğinde SSS anaerobik metabolizmaya sahiptir. İskemi ve takip eden anaerobik solunum pek çok patolojik sürecin tetiklenmesine yol açar.(12) Oksijen eksikliği mitokondrial fonksiyonları bozar ve enerji yetersizliğine yol açar. ATP - ADP'ye hidrolize olur. Serbest radikal kurtarıcılarının hipoksi sonrası sekonder hipoperfüzyonu önlediği düşünülmektedir (44).

## **OMURİLİK TRAVMASINDA PATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER**

### **MAKROSKOPİK GÖRÜNÜM**

Birçok olguda vertebral kolon etrafındaki yumuşak doku hemorajiktir ve kırık ya da kırık dislokasyonu görünür durumdadır. En azından kolonun dıştan muayenesinde palpabldır. Ekstradural boşluklarda kan genelde görünür ve aynı zamanda kord etrafındaki subaraknoid boşluklarda da kan görülebilir. Kord komşuluğunda makroskopik hasar hafif fokal tutulumdan ciddi hemorajik distrupsiyona kadar gidebilir. Bu görüntü kırık seviyesinin üst ve alt birkaç segmentine kadar görülebilir.(40).

### **MİKROSKOPİK GÖRÜNÜM**

Travmatik spinal yaralanması spinal kord nöronları ve aksonlarının kaybı nedeniyle kalıcı nörolojik defisit nedenidir. Aksonal kayıp yaralanma sonrası 48 saatte oldukça belirgindir. Kavitasyon yaralanma merkezine rostral ve kaudal yerleşimlidir. 4. saatte lezyon merkezinde nöronal ve glial hücre kaybı görünür. Günler yıllar içerisinde apoptotik ölüm devam eder nedbeleşme ve demyelinizasyon wallerian dejenerasyona yol açar. Bütün bu değişiklikler iletim defisitine yol açar. Kronik durumda sıvı dolu kistler oluşur. SKY’nda yapılan çalışmaların oluşturduğu konsensus retrograd nöronal hücre ölümünü ve sağlam nöronların kalan birkaç aksonunu rejenere etmedeki başarısızlığını destekler niteliktedir.(45) SKY’ nın yaralanma sonrası cevabı 3 faza ayrılır; akut faz, subakut faz ve kronik faz.

### **AKUT FAZ (HEMORAJİK FAZ)**

Yaralanmadan sonraki ilk değişiklik omurilik gri cevher mikrovaskularitesindeki değişikliklerdir. Santral kanal etrafı ve ön boynuzdaki

multifokal peteşial hemorajiler saatler içinde radial olarak yayılma eğilimindedirler. Mikrotrombüslerin gözlenmesi ve kanın ekstrasvaze olması ilk 24 saatte belirginleşir. Yaralanmadan dakikalar sonra endotel bileşkeleri açılmaya başlar. Santral peteşiler genişledikçe glial reaksiyon ve nöronal dejenerasyon belirgin hale gelir. Sitoplazmik eozinofili, hayalet hücreler, Nissl cisimciğinin kaybolması, küçülmüş nöronlar, hiperkromatizasyon, irregüler şekil nekrotik değişiklik göstergeleridir. Gri cevherdeki nekrotik değişiklikler ilk saatlerde artar, 8. saatten sonra beyaz cevhere yayılmaya başlar. Hücre içi kalsiyum artışı sonucu nukleazlar, proteazlar, kinazlar, lipazlar ve NO sentetazın aktivasyonu ile hücre hasarı artar ve hücre ölümü nekroz ya da apoptoz şeklinde gerçekleşir. Travma sonrası saatler içinde akson ve miyelin kılıfı arasında oluşan ayrılma, ödem ve intramyelinik vakuoller nedeniyledir. Bu tip miyelin değişikliğinin yayılması ışık mikroskopisinde beyaz cevhere sünger görüntüsü verir.(40) 8 - 24 saatler arasında hemodinamik bozukluk ve nekroz ışık mikroskobu ile incelenebilir düzeyde olmuştur.(15)

Elektron mikroskopi çalışmalarında ise 5. dakikada aksonlar normal iken gri cevherdeki venüller eritrositlerle şişerler. 15 - 30 dakikada ise eritrositler kapiller ile venüllerin etrafına ekstrasvaze olurlar. 4. saatte myelin kılıflar yırtılır, aksonlar dejenere olur ve iskemik endotel zedelenmesi gelişir (46).

Histolojik görüntü ödem, belirgin aksonal şişmeyle birlikte uzun traktların bozulması, kanama ve enfarkt adacıklarının kombinasyonu şeklindedir. Kan akımı azalır, iskemik nekroz oluşur.(35)

## **SUBAKUT FAZ**

Travmadan günler sonra açığa çıkar. Aktive olmuş mikrogliya ve astrositler reaktif gliosis oluştururlar. Yaralanmış kan-omurilik bariyerine bağlı ödem oluşur. Ödem vasküler rezistansın artmasına ve dolayısıyla omurilik kan akımının azalmasına neden olur. Nötrofiller lezyon bölgesine gelerek sitotoksik etkileri ile nöronofaji yapabilirler. Nekrotik dokuların rezorbsiyonu ile kistik alanlar oluşur.(47) 48 saat sonra monositler ve mikrogliya (enflamasyonun subakut ve kronik

dönemlerinin karakteristik küçük yuvarlak çekirdekli hücreleri) primer lezyon sınırında çoğalmaya başlamıştır.(48)

Aktive olmuş mikroglia ve astrositler reaktif gliosis oluşturmaya başlarlar. Mikroglia, nöronal dejenerasyon varlığında, kimyasal uyarılar altında sitotoksik makrofajlara dönüşür. Yaralanmaya cevap olarak astrositler hipertrofi ve proliferasyon gösterirler. Astrositik cevap 14. günde en fazla iken, 28. güne kadar görülebilir. 8. güne kadar süren ödem hidrostatik veya filtrasyona bağlıdır. Ödem, pia elastisitesi olmadığı için vasküler rezistansın artmasına ve dolayısı ile omurilik kan akımının azalmasına neden olur.(40)

İnflamatuvar hücrelerin yaralı omuriliğe göçünde iki dalga vardır. Birincisinde, polimorfonuklear granulositler yaralanmadan saatler sonra lezyon bölgesine gelerek sitotoksik etkileri ile nöronofaji yapabilirler. 24 saatte maksimum düzeye ulaşırlar, 3. günde kaybolurlar. İkinci dalgada, lezyon bölgesine monosit ve makrofajlar gelir ve hücre debrisini fagosit ederler. Schwann hücreleri, meningeal hücreler ve fibroblastlar lezyon bölgesine göç eden diğer periferel hücrelerdir. Schwann hücrelerinin yaralı akson miyelinini tamir ederek ve nörotrofik faktörleri salgılayarak aksonal rejenerasyonda rol aldıkları gösterilmiştir. Meningeal hücrelerin görevleri tam anlaşılamamakla birlikte glia limitansı kurmak olabilir. Fibroblastlar meninks kaynaklı olabilir. Travma sonrası bazik fibroblast büyüme faktörü salınımının artması fibroblast proliferasyonu ve neoanjiogeneze ile ilişkili olabilir.(40)

Primer lezyonun aksine sekonder dorsal kolon lezyonu;

- a. Postoperatif 1. haftada maksimaldir ve sonrasında belirgin bir küçülmeye gider,
- b. Kavitasyon belirgin olarak daha azdır ve vaskülarizasyon primer lezyondan daha fazladır,
- c. Lezyon bölümü primer lezyon aksine glial hücre ve sinir lifleri ile yeniden desteklenmiştir.

Bulgular gösteriyor ki kordun belirgin yara iyileşmesi kapasitesi mevcuttur. Yara iyileşmesi işleminin progresif doku nekrozu etkileriyle başa çıkabilmesi için düzgün bir kan akımı sağlanması anahtar faktördür.(48)

## KRONİK FAZ

Yaralanmadan haftalar ve aylar sonrası, akut ve subakut faz olaylarının çözülmeye başlaması ile santral kanal ile birleşmiş, BOS ile dolu kistik kaviteler gelişir. Omurilikte yara iyileşmesi kistik kavite oluşması ile sonuçlanır. Guizar-Shagun ve arkadaşları omurilik yaralanması sonrası kist gelişmesinde üç evre olduğunu bildirmişlerdir.(49)

**Nekroz evresi:** 1. gün başlar ve travmadan sonraki 1-2. haftaya kadar sürer;

**Tamir evresi:** Travmadan sonraki 2. ve 8. haftalar arasındadır.

**Stabilizasyon evresi:** Lezyondan sonraki 8. haftadan 1. yıla kadar değişir.(49)

Geç lezyonun önemli bir komponenti de myelin kaybıdır. Orta şiddetteki taravmalarda akson devamlılığının korunduğu, ancak selektif demiyelinizasyon olduğu gösterilmiştir. Makrofajlar ortamdaki hasarlı myelini ve eritrositleri fagosit ederler (35). Kontüzyondan 2-3 hafta sonra nekrotik dokuyu absorbe eden makrofajlar lezyon bölgesini terk ederken değişik büyüklükte kaviteler oluşturmuştur. Travmadan 4-5 hafta sonra trabeküler sistem içindeki kistlerin sınırları belirginleşir. Yoğun kan damarı proliferasyonu sonrası küçük kan damarlarının hyalin kalınlaşması gerçekleşir. Zamanla fibroblast ve bununla ilişkili olarak kollajen fibroz infiltrasyonu olur.(40)

## OMURİLİK TRAVMASINDA MEDİKAL TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

Günümüzde akut omurilik yaralanmasının modern anlamda tedavisine yönelik çalışmalar, hasarın ikincil mekanizmalarını önlemeye odaklanmıştır. Geçen yıllar akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgiye sahip olmayı sağlamasına rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunamamış olması nedeniyle, özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir. Denenen bir çok ajanın tedavide ümit verici

etkilerine rağmen, yalnızca metilprednizolon'un geniş klinik çalışmalarda kabul gören tedavi şekli olmaya devam etmesi söz konusudur.(14)

Spinal kord travmasına uğramış kişiler, sempatik tonus kaybına bağlı olarak, vasküler tonusta azalma ve kanın periferde göllenmesi ile hipotansiyon, bradikardi ve soğuk ekstremitelerden oluşan triad tablosu ile karşımıza nörojenik şok tablosunda çıkabilirler(14). Bu aşamada etkili tedavi, iskemik hasarın şiddetlenmesine neden olabilecek sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyondan korunmaya yönelik olmalıdır (14). Başlangıç resüstasyon değerleri temin edilince, nörolojik fonksiyonları geliştirmeye ve devamına yönelik cerrahi ve/veya spesifik patofizyolojik hedeflere yönelik farmakolojik tedavi yöntemleri değerlendirilmelidir(14).

Akut omurilik yaralanmasına maruz kalmış hastalarda, cerrahi tedavinin zamanlaması ve endikasyonları konusunda çeşitli fikirler olmasına rağmen, birçok cerrah farmakolojik tedavi sürecinde nörolojik kötüleşme gösteren inkomplet hasarlı vakalarda erken cerrahi tedavi seçeneğini savunmaktadırlar(14).

Geliştirilmeye çalışılan farmakolojik tedavi protokolleri ilerleyici nöral hasarın azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekinin en aza indirilmeye çalışılmasını amaçlamaktadır(14).

## 1. METİLPREDNİZOLON

Akut omurilik yaralanmasının tedavisinde kortikosteroid tedavisi geniş laboratuvar ve klinik çalışmalarda denenmişti. Kortikosteroidlerin başlangıçta kullanımı spinal ödemi azaltıcı etkisine ve anti-inflamatuar özelliğine bağlanmıştır.(50) İlk araştırmalarda sadece ılımlı yararı saptanmasına rağmen, yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Geniş klinik çalışmalarda Metilprednizolon'un nörolojik fonksiyonları anlamlı olarak düzelttiği belirtilse de, yapılan çalışmaların veri analizlerinin değerlendirilmesi ve çalışma şeklinin oluşturulmasına bağlı olarak çelişkili durumlar içermekteydi (14).

Klinik çalışmalarda metilprednizolon diğer kortikosteroidler olan deksametazon ve hidrokortizon'a göre daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle ön plana çıktı. Metilprednizolon

sentetik bir glukokortikoid steroid olup, güçlü anti-inflamatuar etkisiyle birlikte akut omurilik yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir.(50)

Metilprednizolonun spinal kord hasarını azaltıcı etkisini oluşturmalarının 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 $\alpha$  ve tromboksan A2 formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir(14).

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. Akut SKY’da bu ajanın kullanılmasındaki tartışma devam etmektedir (50).

## **2. AMİNOSTEROİDLER(LAZOROİDLER)**

Yüksek doz metilprednizolon ile lipid peroksidasyonunun 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(14).

And ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada, tirilazad mestilat (TM) verilen kedilerde plasebo grubuna göre travma sonrası 4. haftada daha anlamlı düzelme olduğu gösterilmiştir.(14) Yine Hong ve ark. 10 mg/kg TM verilen kedilerde spinal kord kan akımının plasebo ve 3 mg/kg TM grubuna göre ciddi derecede yüksek olduğu göstermişlerdir.(51)

### 3. OPIOİD RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ

Deneyisel modeller SKY sonrasında belirgin bir endojen opioid peptid lokal salınımı olduğunu göstermiştir. Dinorfin kappa reseptörleri üzerinden etkilidir. Mikrosirkülatuar kan akımını azaltır, sekonder yaralanmayı artırır. Naloksan ve tirotropin releasing hormon gibi endojen antagonistler bazı havyan modellerinde spinal kord kan akımını artırıp nörolojik defisitleri azaltmışlardır. Naloksan; üzerinde en çok çalışılan opioid reseptör antagonistidir ve birçok deneyisel çalışmada omurilik yaralanması sonrası nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir.(14) Travma sonrası ilk 8 saat içerisinde verildiğinde, lezyon altında düzelmenin plaseboya oranla çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda ise nörolojik iyileşmeye katkıları olmamıştır. Bununla birlikte spesifik opioid reseptör antagonistlerinin daha faydalı olacağının düşünülmesi mümkündür.(51) Bir  $\kappa$ -reseptör antagonist olan Norbinolterfimin'nin kedilerde oluşturulan akut spinal kord travması sonrası sonuçları anlamlı derecede düzelttiği gösterilmiştir.

### 4. NMDA ve AMPA-KAINAT RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ

Akut eksperimental SKY'nın erken fazında (30-60 dakika) kompetitif NMDA antagonisti propil-1-fosforik asit (CPP)'in lipid peroksidasyonuna karşı olan etkileri ortaya çıkarılmıştır (52). MK 801 (Dizocilpine) selektif, non kompetitif NMDA blokeri, sistemik olarak uygulanabilir olması ve spinal kord hasar sonrası eksitotoksik hasarı engellemesi nedeniyle önem kazanmıştır (53). Yeni NMDA reseptör blokeri olan Dexanabinol (HU 211)'ün faz 1 klinik çalışmalarda iyi tolere edildiği ortaya konulmuş, spinal kord hasarlı hastalar üzerinde faz 2 çalışmaları yapılmaktadır (53).

### 5. KALSİYUM KANAL BLOKERLERİ

Bir çok çalışma kalsiyum kanal blokerlerinin posttravmatik spinal kord kan akımını düzelttiğini göstermektedir.  $Ca^{+}$  kanal blokerlerinin faydalı etkileri



yaralanma kaynaklı vazospazm üzerine mikrovasküleritenin düzenlenmesi ile ilgilidir. Periferik vazodilatasyonu engellemek için selektif olarak SSS damarlarına etki ederler. Sistemik hipotansiyona ve buna bağlı iskemik defisite engel olurlar. Artmış perfüzyonun aksonal perfüzyonu iyileştirdiği motor ve somatosensoryal uyarılmış potansiyeller ölçülerek gösterilmiştir (40).

Kalsiyum kanal blokörlerinin yararlı etkilerinin travma sonrası mikrovasküler yapılarda oluşan vazospazma yönelik koruyucu özelliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir.(14) Dihidropridin grubu kanal blokörlerinden Nimodipin üzerinde en çok çalışılmış ajandır. Yapılan deneysel çalışmalarda Nimodipin'in yararlı etkilerinin ancak travma öncesi başladığında ortaya çıktığının görülmesi, tedavinin klinik kullanımda öneminin ve pratikliğinin sınırlanmasına neden olmuştur.(14)

## **6. SODYUM KANAL BLOKERLERİ**

Travma sonrası hücre içi Na<sup>+</sup> miktarında ciddi bir artış söz konusudur. Bu nedenle sodyum kanal blokajının sekonder hasarın şiddetlenmesinin engellenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir.(14) Voltaja duyarlı Na<sup>+</sup> kanallarının persistan aktivasyonu hücrel toksisite ile ilişkilidir ve travmatik SKY sonrası nöral dokunun dejenerasyonuna katkıda bulunur. Bu kanalların farmakolojik blokajı sekonder patofizyolojiyi etkileyerek fonksiyonel defisitleri akut olarak azaltabilir (54). Bu konuda Tetradoksin'in lokal uygulaması ile yapılan bir çalışmada travma sonrası fonksiyonel defisitinin azaltılmasında önemli olduğu gösterilmiştir. Schwatz ve Fehlings yaptıkları deneysel bir çalışmada, bir sodyum kanal blokörü olan Riluzol'un sistemik uygulanmasında ciddi nöroprotektif etkileri olduğunu gösterdiler.(54)

## **7. POTASYUM KANAL BLOKERLERİ**

Artmış ekstraselüler potasyum nöronların depolarize olmasına yol açar. Bu da nöronal iletimi etkiler ki bu durum spinal şokun altta yatan kritik sebebidir (14). Demyelinize aksonlara K<sup>+</sup> girişini önlemek için tasarlanan bir K<sup>+</sup> kanal blokeri olan

4-Aminopiridin ile farmakoterapi sonrası inkomplet SKY'da fiziksel tıp yöntemleri ve rehabilitasyonda kronik fazda fonksiyonel iyileşme gösterilmiştir.(12) K<sup>+</sup> kanalları bloke olunca deymelinize internodlardan nöronöronal ve nöromuskuler akımı sağlamıştır (14).

## 8. MAGNEZYUM

MgSO<sub>4</sub> kontüzyon yaralanmasından sonra nöroprotektif özellik göstermiştir. NMDA reseptör blokajı ile nöral yapılarda glutamat toksisitesini önler.(38) Magnezyum eksikliği endotel hücrelerinde serbest radikal kaynaklı intraselüler oksidasyon ve sitotoksositeye neden olmaktadır. Mg<sup>+</sup>'un lipid peroksidasyon yan ürünlerini glutamat antagonizmasından kaynaklanan indirekt etkisi ile azalttığına inanılmaktadır.(38) Mg<sup>+</sup> Serbest radikal düzenlenmesini azaltarak nöral yapılarda vazoproteksiyon sağlar. Ayrıca endotelyal prostasiklin salınımını stimüle ederek spinal kord besleyen damarlarda dilatasyon sağlar (38).

Spinal travma sonrası sekonder hasardan korunmada magnezyum replasman tedavisine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Yüksek doz magnezyum tedavisinin (600 mg/kg MgSO<sub>4</sub>) farelerde akut spinal kord hasarı sonrası aksonal fonksiyonlarda anlamlı gelişme sağladığı ve lipid peroksidasyonunda ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir.(55)

## 9. KASPAZ VE KALPAİN İNHİBİTÖRLERİ

SKY, intraselüler serbest Ca<sup>+</sup> seviyesinde artışı tetikler ve bu bir kalsiyuma bağlı sistein proteaz olan kalpainin aktivasyonu ile sonuçlanır. Kalpain SSS'de yaygın olarak bulunur ve endojen kalpain spesifik inhibitör olan kalpastatin ile regüle edilir. SKY sonrası kalpain over aktivasyonu ile degrade olan kalpastatin düzenleyici etkinliğini kaybedebilir. Akut SSS yaralanmasını takiben kaspazların apoptozun önemli mediyatörleri olduğu vurgulanmıştır. Deneysel modellerde spesifik kalpain ve kaspaz 3 inhibitörlerinin verilmesi belirgin nöroproteksiyon sağlamıştır (43).

## 10. ANTİOKSİDANLAR

Akut omurilik yaralanması sonrası süperoksit ve lipid peroksidasyonu endojen antioksidanlar tarafından azaltılmaktadır. Ancak travma sonrası  $\alpha$ - tokoferol, retinoik asid, askorbik asid, selenyum, koenzim-q gibi ubikinonlar benzeri antioksidanların seviyeleri hızla düşmektedir. Bu nedenle antioksidanların replasmanı lipid peroksidasyonuna bağlı hasarın azaltılmasında etkili olabilir.(14)

Deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında vitamin A ve vitamin C tedavisinin faydalı olduğu gösterilmiştir.(14) Yine yapılan birçok SSS yaralanma modelinde  $\alpha$ - tokoferol tedavisinin doku hasarını azalttığı gösterilmiştir.(48) EPC-K1; vitamin E ve vitamin C'nin bir fosfat diester bağlamış halidir. Sonuçlar EPC-K1'in in vitro radikal kurtarıcı, protektif ve antioksidan aktivitesi olduğunu göstermektedir (53).

## 11. TİROTROPİN SALICI HORMON(TRH) VE TRH ANALOGLARI

Tirotropin salıverici hormon (TRH)' un hipofiz üzerinden tiroid stimüle edici hormon (TSH) salgılamasından başka görevleride vardır. TRH'ın antagonize ettiği faktörler: endojen opiatlar, trombosit aktive edici faktör, lökotrienler ve eksitator aminoasitler olduğu düşünülmektedir. Spinal kord kan akımını arttırdıkları, elektrolit balansını düzenledikleri, hücrel enerji düzeyini restore ettikleri ve lipid peroksidasyonunu azalttıkları düşünülmektedir. TRH'un çok kısa yarı ömrü olması nedeniyle daha stabil analogları geliştirilmiştir. TRH'un omurilik yaralanmasındaki spesifik etkisi iyi bilinmemekte ise de spinal refleksleri potansiyelize ettiği ve kolinerjik nöronlar üzerinde trofik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle TRH, yaralanmanın gelişmesini önlemekten çok iyileşme fazında daha etkili olabileceği belirtilmiştir.(35)

## 12. GANGLİOZİDLER

Gangliozydler sialik asit içeren bir glikosfingolipid grubudur ve SSS dokularında hücre dışı membranında özellikle sinaptik alanda yüksek konsantrasyonda bulunur. Tam fonksiyonları çok iyi bilinmese de deneysel kanıtlara göre nörit büyümesini ve sinaptik transmisyonu artırdığı, nöronal rejenerasyonu indüklediği, nöral gelişme ve plastisiteye öncülük ettiği gösterilmiştir (17). Bu ajanların birçok beyin hasarından sonra yaralanan dokunun sekonder yaralanmasını azaltarak fonksiyonel iyileşme sağladığı gösterilmiştir.

Gangliozyd'lerin öne sürülen etki mekanizmaları eksitatör amino asitlerin salınımını azaltmaları, protein kinaz C regülasyonu ve NO oluşumunu engellemelerine bağlıdır.(14) Protein kinaz C'nin inhibisyonu posttravmatik iskemiden korunmada önemli gözükmemektedir.(14)

## 13. ERİTROPOETİN

Eritropoietin ve deriveleri SSS'de bulunan ve doku koruyucu etkileri olan endojen sitokin mediyatörleridir. EPO'nin hematopoetik etkisi nöroprotektif etkilerinden farklıdır. Çünkü her bir fonksiyon için molekül konsantrasyonu ve reseptör afinitesi farklıdır. Sıçanda SKY'da EPO lipid peroksidasyonunu azaltmış ve ultrastürüktürel nöroproteksiyon sağlamıştır.(56) Spinal kontüzyondan 7 gün sonra histolojik inceleme sonuçlarına göre kavitasyon hacminde rhEPO tedavisi sonrası dramatik azalma gösterilmiştir. Apoptoz inhibisyonu, inflamasyon redüksiyonu, eksitabilite modülasyonu, ve nöronal kök hücrelerinin modülasyonu ve proliferasyonuna katkıda bulunmuştur (56).

## 14. HİPOTERMİ – EPİDURAL SOĞUTMA

Orta derecede hipotermi apoptotik nöronal ölüm fraksiyonunu azaltmada etkili olmuştur. Hafiften orta dereceye hipotermimin sağladığı nöroproteksiyon

mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Hipoterminin nöroprotektif etkisinin başlangıçta serebral metabolizmada belirgin düşüş sağlaması sonucu olduğuna inanılırdı. Fakat hipoterminin nöroprotektif etkisi sadece metabolik depresyon ile açıklanamaz (57). Altta yatan moleküler ve hücrel mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Hipoterminin diğer potansiyel nöroprotektif mekanizmaları; serbest radikal üretiminin azaltılması beyin ödeminin azaltılması, intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu azaltması, artmış GABA salınımı ve glutamat salınımının engellenmesidir. Spinal kordu soğutmak için kullanılan sistemik soğutma metodları soğuk intravenöz sıvı infüzyonları ve eksternal soğutma araçları uygulamasıdır, lokal soğutma ise epidural ya da intratekal kataterler yolu ile soğuk salin infüzyonu ile olur. SKY'lı hastada hipoterminin klinik uygulamasının hipotansiyon, bradikardi ve enfeksiyon gibi komplikasyonları mevcuttur. SKY'de hipotermi güvenli ve uygulanabilir hale gelmedikçe nöroproteksiyonda kullanımı tavsiye edilemez (57).

## **15. ARAŞIDONİK ASİT METABOLİZMASI MODÜLATÖRLERİ**

Araşidonik asidin tromboksan, prostaglandinler ve lökotrienlere dönüşümünden sorumlu olan enzim inhibisyonunu hedef alan tedavi girişimleri akut omurilik yaralanması sonrası denemişti. Prostaglandin (PGI<sub>2</sub>) vasküler endotelden salınan güçlü vazodilatör ve platelet agregasyon inhibisyon etkisi olan doğal bir araşidonik asit metabolitlerinin kord kan akımının artışı ile mikrosirkülasyonun düzelttiği görülmüştür.(58)

## **16. DİĞER TEDAVİ DENEMELERİ**

SKY'da asetilkolin ve serotonin seviyeleri de artar. Serotonin vazokonstriksiyona yol açar, platelet agregasyonunu artırır ve endotelial permeabiliteyi artırır. Bu nedenle serotonin antagonistleri dikkat çekmiştir. Bunlar 5 HT<sub>1</sub> ve 5 HT<sub>2</sub> reseptörlerine antagonistik etki ile minimal fayda sağlayarak sinir greftlerinin rejenerasyonu ve uzamalarına yardımcı olmuştur.(14)

Beta 2 reseptör antagonisti olan Clenbuterol motor fonksiyonlarda düzelme ve belirgin nöroproteksiyon sağlamıştır (14).

Antineoplastik ajan olan Paclitaxel ile SKY sonrasında davranışsal testler, somatosensoryal uyarılmış potansiyeller ve histolojik çalışmalarda düzelmeler görülmüştür.(14)

Protein C, antikoaglan etkili bir proteazdır. İntramedüller hemorajileri azaltmıştır (14).

Tacrolimus (FK-506), transplantasyonda immunsupresan olarak kullanılır. Nöroprotektif etkisi farelerde gösterilmiştir. Metilprednizolon ile sinerjistik etki gösterir (14).

Atorvastatin tedavisi iNOS, TNF-alfa ve İL-1 beta ekspresyonunu azaltmıştır. Ayrıca travma kaynaklı doku nekrozu, nöron ve oligodendrosit apoptozu, demyelinizasyon ve reaktif gliozise karşı da koruma sağlamıştır (14).

Siklosporin A, antiinflamatuvar, immunsupresif etkili ajan olup iç mitokondrial membranın Ca<sup>+</sup> bağımlı permeabilite değişikliklerinin inhibisyonu, peroksidasyonun inhibisyonu etisi ve osmotik şişme ile mitokondrial lizisi önler (14).

COX 2 inhibitörü olan SC-236 ile SKY sonrasında tavşanlarda nöroproteksiyon sağlanmıştır ve davranışsal defisitlerde düzelme görülmüştür (14).

Minosiklin, ikinci jenerasyon siklindir. SKY modellerinde nöroprotektif özellikleri gösterilmiştir. Antineoplastik ajan olan Paclitaxel ile SKY sonrasında davranışsal testler, somatosensoryal uyarılmış potansiyeller ve histolojik çalışmalarda düzelmeler görülmüştür(14).

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 gösterilmiştir.(58) 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 desteklenmektedir.(14)

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

## HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ (HBO)

**TANIMI VE TARİHÇESİ:** HBO tedavisinin basit tanımı; “Hastalara veya deney hayvanlarına tamamen kapalı basınç odalarında, normal atmosfer basıncından yüksek basınçlar altında %100 oksijen solutularak uygulanan tıbbi tedavi yöntemidir” şeklinde yapılabilir.(59)

Hiperbarik tedavi sanıldan daha eskiye dayanır. İlk olarak İngiliz papaz Henshaw’un denediği kapalı bir odada basıncı artırma fikri bilimsel bir temeli olmasa da “İyi bir fikir” gibi görünmüştü. Henshaw, 1662 yılında sızdırmaz bir oda inşa ederek hastalar üzerinde uygulama yaptığında henüz oksijen keşfedilmemişti. HBO tedavisinin bugünkü anlamda kullanılması 1930’lu yıllardan sonra Amerikan ve İngiliz donanmalarında dekompresyon hastalığının tedavisinde kullanılmaya başlanması ile başlamıştır. Tedavi edici hekimlikte hiperbarik odaların kullanımı ise Churchill-Davidson’un çalışmaları ile 1955 yılında başlamıştır.(59)

**BASINÇ ODALARI VE TEDAVİNİN UYGULANMASI:** Genel olarak 2 çeşit hiperbarik oda kullanılır;

- 1) Tek kişilik hiperbarik oda
- 2) Çok kişilik hiperbarik oda.

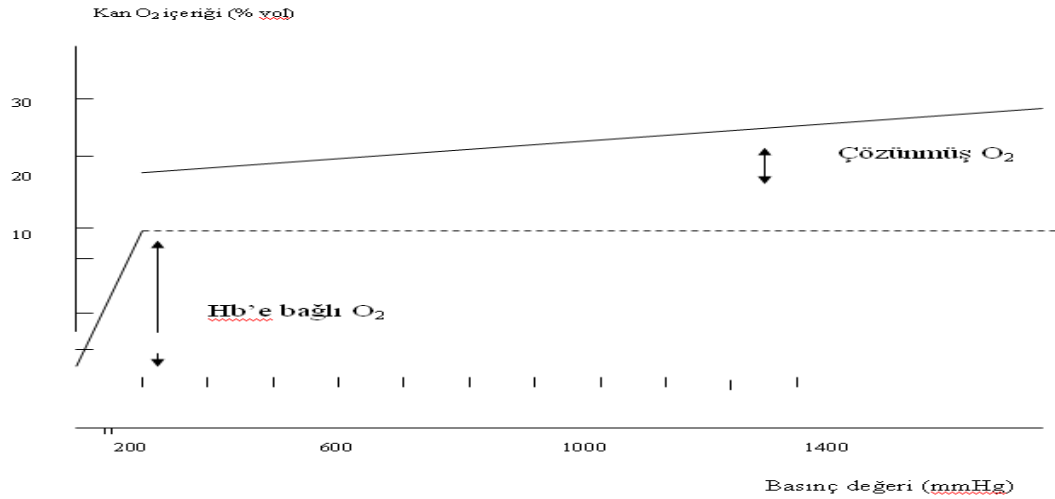
Güvenlik açısından genelde bu odaların basıncı hava ile artırılır ve hastalar özel maskeler veya oksijen başlıkları yardımıyla oksijen solurlar. Tedavi koşullarında 2 atmosferden(Yani 3 ATA(Absolute atmosphere)=2 atmosfer uygulama basıncı + 1 atmosfer dünya üzerindeki doğal basınç) fazla basınç uygulanmaz. 1 ATA= 760 mmHg’dır. Çoğu tedavi 2 veya 3 ATA basınçta verilir ve ortalama tedavi süresi 60-90 dakikadır. Uygulama sayısı, akut durumlarda 3-5 seanstan, kronik durumlarda 50-60 seansa kadar değişebilir.(59)

Bilindiği gibi normal atmosferik koşullarda (1 ATA) sağlıklı bir kişide 100 ml arteriyel kanda 20 ml, karışık venöz kanda ise 14 ml O<sub>2</sub> bulunur. Hemoglobin O<sub>2</sub> ile tama yakın (%97) doymuştur. Kanda çözünmüş olarak bulunan O<sub>2</sub> miktarı ise çok düşüktür. Hastanın oksijenasyonu arttırmak istediğimiz durumlarda, normobarik şartlarda oksijen parsiyel basıncının yükseltilmesi ancak minimal bir yarar sağlar. Oysa 1 ATA’dan yüksek basınçlardaki O<sub>2</sub> solunumuyla Hb tamamen doyurulduktan

başka plazmada çözünen O<sub>2</sub> miktarı da artacaktır. Örneğin 3 ATA'da %100 O<sub>2</sub> solunumuyla, 100 ml kanda 6 lt O<sub>2</sub> plazmada çözünmüş olacaktır. Bu O<sub>2</sub> miktarı dokuların metabolik gereksinimlerini Hb ile taşınandan bağımsız olarak karşılayabilecek düzeydedir.(59)

**Tablo 3:** Değişik Hiperbarik Şartlarda Dissolve Olan Oksijene (PaO<sub>2</sub>) Ait İdeal Değerler

| Total Basınç | Hava Solunumu | %100 O <sub>2</sub> Solunumu |
|--------------|---------------|------------------------------|
| ATA          | mmHg          | % vol                        |
| 1            | 760           | 0.32                         |
| 1.91         | 1452          | 0.77                         |
| 2            | 1520          | 0.81                         |
| 2.36         | 1794          | 0.99                         |
| 2.82         | 2143          | 1.17                         |
| 3            | 2281          | 1.31                         |
| 4            | 3040          | 1.80                         |
| 5            | 3800          | 2.30                         |
| 6            | 4560          | 2.80                         |



**Şekil 10:** PO<sub>2</sub> ile kanın O<sub>2</sub> 'i arasındaki ilişki. HBO uygulaması sırasında plazmada çözünen oksijen, dokuların metabolik gereksinimini karşılayabilecek düzeye kadar çıkararak doku hipoksisi nedeniyle bozulan fonksiyonların iyileşmesine yardımcı olur.



**GAZ KANUNLARI:** HBO'nun tedavi mekanizmalarına temel teşkil eden basınca ait fizik kanunları iyi tanımlanmış ve ortaya konmuştur.

**Boyle-Mariotte Kanunu:** Sabit sıcaklıkta gazın sabit kütesinin basıncı, onun hacmi ile ters orantılıdır. Yani hacim arttıkça basınç azalır. Hacim azaldıkça basınç artar.

$$\text{Basınç} \times \text{Hacim} = \text{Sabittir.}$$

**Parsiyel Basınç Kanunu veya Dalton Kanunu:** Bir gaz karışımı içindeki gazların her birinin parsiyel basıncı karışım içindeki miktarlarıyla doğru orantılıdır.

$$\text{Gazın parsiyel basıncı} = \text{Toplam basınç} \times \text{Gazın total hacme oranı}$$

**Henry Kanunu:** Sabit bir ısıda, bir sıvı içinde çözünen gaz miktarı sıvı üzerindeki gazın parsiyel basıncıyla doğru orantılıdır. Yani basınç arttıkça çözünürlük artar.

$$\text{Çözünmüş bir gazın Konsantrasyonu} = \text{Basınç} \times \text{Çözünebilirlik katsayısı}$$

Tabi farklı sıvılar için bir gazın çözünebilirlik katsayısı da farklıdır.(60)

**ETKİ MEKANİZMASI:** Hiperbarik Oksijenin etki mekanizması iki yönlüdür;

1.Uygulama sırasında kullanılan yüksek basınç nedeniyle basıncın doğrudan etkisi

2.Yüksek basınç ortamında yapılan %100 O<sub>2</sub> solunumu nedeniyle vücut sıvı ve dokularında yüksek oranda çözünen oksijenin etkisi.

Çözünmüş oksijenin etkileri ise bir kaç yönlüdür:

- 1) Antihipoksik etki
- 2) Antiödem etki
- 3) Antitoksik etki
- 4) Antibakteriyel etki
- 5) Yara iyileşmesi üzerine etki.(59)

**Sinir Hücresi Rejenerasyonuna Etkisi:** HBO, serebral hava embolisi, CO zehirlenmesi, vejetatif durumlar, kardiyak arrestin neden olduğu global serebral iskemi, fokal serebral iskemi, akut spinal kord hasarı, kronik beyin hasarı ve subaraknoid kanama sonrası oluşan serebral vazospazm gibi durumları kapsayan çeşitli nörolojik hastalıklarda kullanılmıştır. HBO’ nun güvenliği, yenidoğan ve hamile hastalar dahil tüm yaş ve cins gruplarında test edilmiştir. HBO’ nun nöronları koruma mekanizmaları, beyin metabolizmasında düzelme, kan- beyin bariyeri geçirgenliğinde ve beyin ödeminde azalma, intrakranial basınçta azalma, inflamatuvar cevabın zayıflatılması ve apoptotik hücre ölümünün önlenmesi olarak sıralanabilir. Ayrıca HBO İskemik tolerans ve nöronların korunmasına ön hazırlık sağlar. (60)

**Dokularda kan akımı ve Oksijenizasyonuna Etkisi:** 2 atm basınçta oksijen bulunduğu damarlarda vazokonstriksiyon olur ve doku kan akımı %20 oranında düşer. Normal doku pO<sub>2</sub>’si 30-40 mmHg’dir. Fakat enfeksiyon, travma veya ödemin sebep olduğu iskemi gibi patolojik durumlarda pO<sub>2</sub> düzeyleri düşer. pO<sub>2</sub> 30 mmHg’nın altına düşmesiyle fibroblast ve lökosit fonksiyonlarında belirgin bir azalma olur. HBO uygulaması ile fibroblast sayısı artar, kollajen oluşumu kolaylaşır ve lökositlerin bakterisidal etkileri artar. Normal bir cilt dokusuna 2 ATA’da HBO uygulandığında doku pO<sub>2</sub>’si 250-300mm Hg’ya kadar yükselir. Bu nedenle HBO uygulanan dokudaki % 20’lik kan akımı azalması, dokudaki artmış pO<sub>2</sub> basıncı tarafından fazlasıyla kompanse edilir.(60)

**Otoimmün Cevaba Etkisi:** Yapılan çalışmalarda HBO’UN sıçanlarda hem humoral, hem de hücrel immün cevabı baskılayabileceği bildirilmiştir. Ancak bunun aksini İddia eden çalışmalarda bulunmaktadır.(60)

**Serbest Radikal oluşumuna Etkisi:** Raskin ve Ark., fare Akciğerinde yaptıkları çalışmada HBO'un in-vivo ve in-vitro serbest radikallerin oluşturduğu oksidan stresin bir göstergesi olan lipoproteinleri arttırdığı gösterilmiştir.(60) Dirks ve Faiman, in,vitro sıçan beyinde, pO<sub>2</sub> arttırıldığında beyinde serbest radikal oluşumunun arttığını göstermişlerdir. Lökositlerin kullanıldığı bir Comet Assay çalışmasında HBO'un DNA hasarını arttırdığı gösterilmiştir.(60)

**Kan Hücreleri Üzerine Etkisi:** HBO hematokritte azalmaya neden olabilir ve trombosit agregasyonunu azaltır. Kan viskozitesindeki düşmeye eritrosit membran elastisitesinde artmaya neden olur. Aynı zamanda kırmızı kan hücrelerinin şekil değiştirebilme yeteneklerini arttırır. Böylece eritrositlerin daralmış kılcal damarlardan geçebilmelerini kolaylaştırır. Nötrofiller enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara karşı savunmada moleküler oksijene ihtiyaç duyarlar. Bakterinin fagositozundan sonra nötrofilde görülen oksidatif patlamalar oksijen tüketiminde 10-15 katlık bir artışa nedne olur. Bu oksidatif öldürme sürecinde silah olarak kullanılan serbest oksijen radikallerinin sentezinde oksijene ihtiyaç duyulur.(60)

**İskemi ve Reperfüzyon Hasarında doku Yaşayabilirliğine Etkisi:** İskemi enerji deposu bileşikler olan ATP ve fosfokreatin seviyelerinin azalmasına, kaslardaki laktat seviyesinin ise artmasına yol açar. İskelet kaslarında iskemiden 10-15 dk. sonra anaerobik metabolizma devreye girer ve 20-25 dk. sonra doku pO<sub>2</sub> seviyesi düşer. Doku glukoz seviyeleri, laktat üretimine ve birikimine yol açan glikoliz ve glikojenoliz artışıyla azalır. Enerji üretiminin çoğunluğu oksijene bağımlı oksidatif fosforilasyonla sağlanır. Enerji hücrede iyonların taşınması, moleküllerin hücre zarını geçmesi ve hücre membranının korunması gibi birçok faaliyet için gereklidir. Dolayısıyla iskemide kısa bir süre sonra yerine getirilemeyen bu hayati faaliyetler sonucu hücreler ölüme gider.(60) Post-iskemik fazda uygulanan HBO tedavisi ile bu etkiler önlenmiştir. Ancak bu etkinin devamı için HBO tedavisinin tekrarlanması gereklidir.Böylece post-iskemik fazda tekrarlanan HBO tedavisi ile aerobik metabolizma stimüle edilmiş olur.(60)

HBO'un yaygın endikasyon alanlarına girmeyen ancak başarılı sonuçlar ve olgu serileri olan yeni birçok araştırma alanı da bulunmaktadır. Multiple skleroz,

Septik şok, Fibromyalji, migren, Hemorajik sistit bunlara örnek olarak verilebilir. Bunlara ek olarak HBO'un serebral palsi ve otistik çocuklarda ise kullanımı tartışılmaktadır. HBO tedavisinin uyuyan(dormant) nöronların bulunduğu alanda oksijen miktarını arttırarak onları yeniden aktif hale getireceği bir hipotez olarak ortaya konmuştur.(60)

**Tablo 4:** HBO'nun komplikasyonları ve yan etkileri

|                                      |
|--------------------------------------|
| Kulağın barotravması                 |
| İç kulak penceresi hasarı            |
| Sinus sıkışması                      |
| Görsel retraktif değişiklikler       |
| Parmaklarda hissizlik                |
| Dental problemler                    |
| Klostrofobi                          |
| Hipoglisemik nöbetler                |
| Pulmoner oksijen toksisitesi         |
| Ateş                                 |
| Pulmoner damar sistemindeki yırtılma |
| Oksijen hipersensivitesi             |

**Tablo 5:** HBO'nun fizyolojik etkileri.

| <b>Etki Yeri</b>                    | <b>Fizyolojik Etkisi</b>                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Oksijen transportu ve metabolizması | Kanda O <sub>2</sub> ve CO <sub>2</sub> taşınmasında hemoglobinin inaktive olması<br>Normal oksijen metabolizmasının aktive olması                                                                       |
| Solunum sistemi                     | Solunum depresyonu<br>Akciğer kollapsına eğilimin artması                                                                                                                                                |
| Dolaşım sistemi                     | Bradikardi<br>Kardiyak atım hacminin ve beyin kan akımının azalması                                                                                                                                      |
| Periferik damar sistemi             | Beyin, böbrek ve göz damarlarında vazokonstriksiyon<br>Periferik direncin artması                                                                                                                        |
| Metabolik ve biyokimyasal           | CO <sub>2</sub> ve H <sup>+</sup> iyonu artışı ile dokularda pH'nın azalması<br>Hücre solunumunun inhibisyonu<br>SH grubu içeren enzimlerin aktivitesinin azalması<br>Serbest radikal oluşumunun artması |

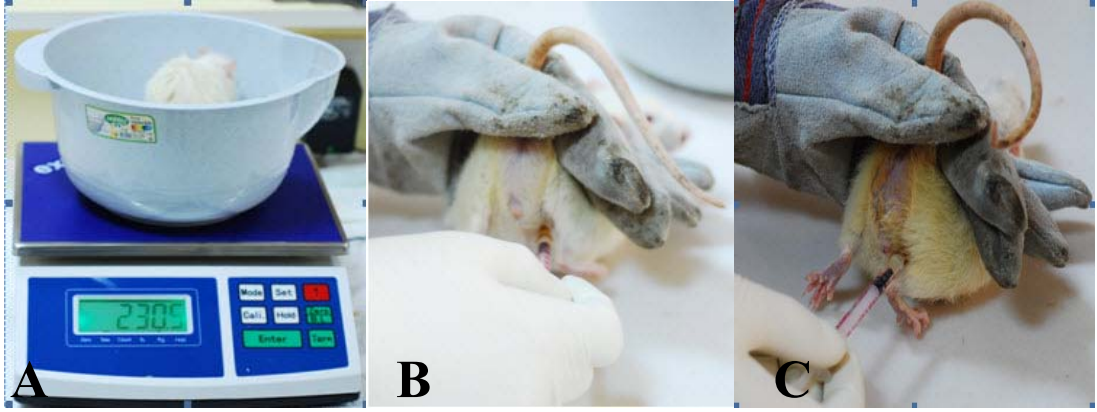
## GEREÇ VE YÖNTEM

### MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada toplam 48 adet erişkin erkek Sprague Dawley sıçan kullanılacaktır. Ameliyat öncesi ve sonrası standard laboratuvar yemi ve su ile beslenecek. Biyolojik ritme uygun olarak 12 saat karanlık-12 saat aydınlıkta 5'erli kafeslerde barındırılacak. Sıçanların bakım ve ameliyatları Ege Üniv. Tıp Fak. Fiziyojoloji Anabilim Dalında yapılacaktır. Çalışma grupları aşağıdadır.

- Grup I** : Sham (Kontrol) (n=6)
- Grup II** : Omurilik Hasarı (OİH) (n=6)
- Grup III** : Sham + Preop. HBO (n=6)
- Grup IV** : OİH + Preop. HBO (n=6)
- Grup V** : Sham + Postop. HBO (n=6)
- Grup VI** : OİH + Postop. HBO (n=6)
- Grup VII** : Sham + Preop. + Postop. HBO (n=6)
- Grup VIII** : OİH + Preop. + Postop. HBO (n=6)

**Anestezi:** 50 mg/kg Ketamin HCl (Alfamine®), 5 mg/kg Ksilazin HCl (Alfazyne®) ve acepromazine maleate (1 mg/kg) kombinasyonu intraperitoneal yoldan verilerek anestezi sağlanacaktır.

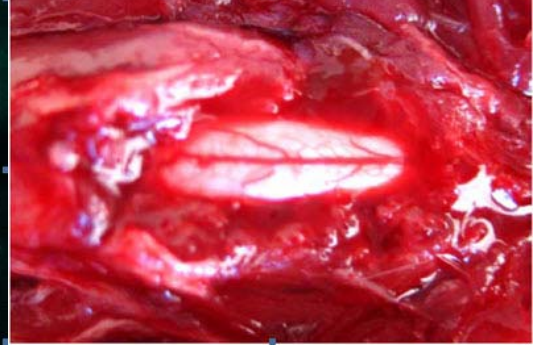


**Resim 1:** A) Sıçanların ağırlıkları önce tartıldı. Daha sonra ağırlıklarına göre verilecek anestezi dozu hesaplandı. B ve C ) İntraperitoneal olarak uygulandı.

**Omurilik Hasarı (OİH) ve Cerrahi Yöntem:** Tüm hayvaların genel anestezi sonrası sırt bölgesi traş edilerek Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi uygulanacaktır. İnterskapuler mesafe referans alınarak prone pozisyonunda T8-T12 seviyesinden cilt, cilt altı dokular ve paravertebral kas fasiası geçilerek kaslar laterale künt disseksiyonla sıyrılacaktır. Torakal 9-11 laminaları görülerek total laminektomi uygulanacaktır (Sham gruplarına yalnızca bu işlem uygulanacak omurilik hasarlanmayacaktır). Bu işlem uygulanırken hayvanların duramaterlerinin zedelenmemesine dikkat edilecektir. Daha sonra hayvanlara ekstradural olarak Rivlin ve Tator klip yöntemi ile (Rivlin and Tator, 1978) (Aesculap FE 654) bir dakika süreyle klip uygulanarak spinal travma oluşturulacaktır. Hemostazı takiben katlar anatomisine uygun olarak kapatılacaktır. Ameliyat sonrası 5 gün süreyle tüm sıçanlara profilaktik amaçla intraperitoneal olarak 30mg/kg Sefazolin Na (Cefazol®) verilecektir.



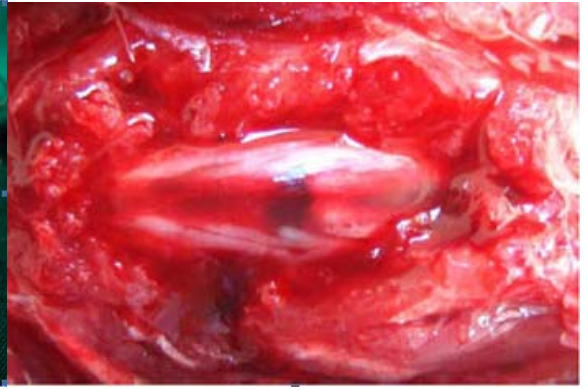
**Resim 2:** Laminektomi sonrası omuriliğin görüntüsü



**Resim 3:** Laminektomi sonrası normal omuriliğin görünüşü



**Resim 4:** Rivlin ve Tator klip yönteminin uygulandığı şekil görülmekte



**Resim 5:** Laminektomi + OİH sonrası omuriliğin görünümü



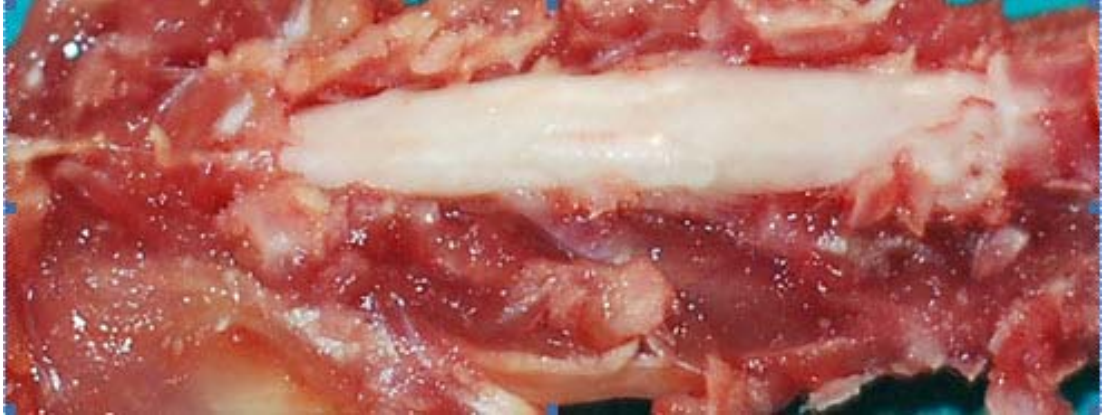


**Resim 6:** Sıçanlar altlarının bakımına dikkat edilerek yemek ve suları kontrol edilerek 5'li kafeslerde bakılmıştır.

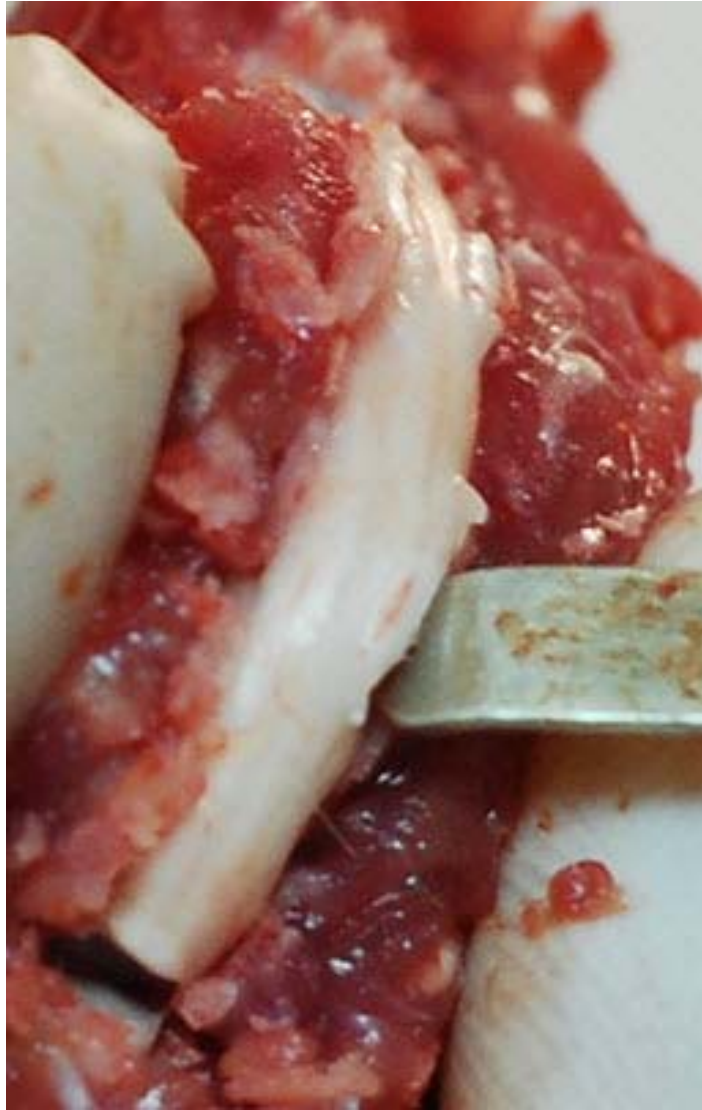


**Resim 7:** OİH'li paraplejik sıçanlar arka ayaklarının üzerine kalkıp su içmede sıkıntı duyduğundan elle suları verildi. Yemekleri yanlarına kondu.





**Resim 8:** Laminektomi yapılmış sıçanın sakrifikasyon sonrası omuriliğin görünümü



**Resim 9:** OİH'li sıçanların sakrifiye edilirken sinirin görüntüsü



**Resim 10:** OİH'li sıçanların sakrifiye edilirken sinirin görüntüsü



**Resim 11:** OİH'li sıçanların sakrifiye edilirken sinirin makroskopik görüntüsü

### **Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi**

2,80 ATA basınçta günde 1 seans ve her seans 60 dakika olacak şekilde uygulanacaktır. Tedavi Neoks hiperbarik oksijen merkezinde Sualtı hekimliği ve Hiperbarik Tıp uzmanı Dr. Figen Aydın gözetiminde verildi. Tedavinin İlk 5 dakikası basıncın arttırıldığı kompresyon(Dalış) evresi, sonraki 60 dakikalık dönem 2.8 ATA altında özel giriş ve çıkış deliklerinden %100 oksijen ventilasyonunun sağlandığı evre ve son 5 dakikalık dönem de basıncın azaltıldığı (Çıkış) evresidir.



**Şekil 11:** Hiperbarik oksijen tedavisinin uygulanışı

**Barotech Ltd. DB1 model (2009) Ar-Ge basınç odasının teknik özellikleri:**

**Çalışma basıncı:** 2.6 Bar, 3.6 ATA

**Test basıncı:** 4 ATA

**İç çapı:** 40 cm

**Toplam uzunluk:** 55 cm

**Kapı çapı:** 46 cm

**Malzeme:** Tamamı akrilik pencere ve yatay olup pleksiglass maddesinden yapılmıştır. Bütünüyle şeffaf ve net hacmi 70 lt' dir. Basınç göstergeleri; hat basıncı ve basınç odası göstergesi olmak üzere iki adet olup güvenlik regülatörü bulunmaktadır.



**Resim 12:** Çalışmada kullanılan Barotech DB1 Ar-Ge Basınç Odası

**Resim 13:** Sıçanların HBO seansı sonrası basınç odasından çıkarılkenki görüntüsü



**Resim 14:** Postop dönemde sıçanlarda idrar inkontinansı geliştiği için 12 saat arayla günde 2 kez mesane boşaltma masajları yapıldı.

**Omurilik hasarı öncesi (Preop.) HBO:** Sıçanlara OİH öncesi 5. günden başlanarak 2,80 ATA basınçta günde 1 seans ve her seans 60 dakika olacak şekilde 5 gün HBO verilecek. 6.cı gün sıçanların hepsinin ameliyatı 1 saat içinde yapılacak şekilde sham ve OİH gruplarına göre ameliyatları yapılacak ve postop 1.ci günde bütün sıçanlar sakrifiye edilecektir. Alınan spinal sinir örnekleri -80 derecede saklanacaktır.

**Omurilik hasarı sonrası (Postop.) HBO:** OİH uygulandıktan sonra 1. saatte başlanarak 7 gün boyunca 2,80 ATA basınçta günde 1 seans ve her seans 60 dakika

olacak şekilde HBO verilecek. Postop 8.ci günde bütün sıçanlar sakrifiye edilerek alınan spinal sinir örnekleri -80 derecede saklanacaktır.

**Preop. + Postop. HBO:** Sıçanlara OİH öncesi 5. günden başlanarak 5 gün boyunca 2.80 ATA basınçta HBO verilecek ve 6.cı gün bütün sıçanların ameliyatı 1 saatte bitirilecek şekilde yapılarak postop1 saatte başlanarak OİH sonrası 7 gün boyunca 2,80 ATA basınçta günde 1 seans ve her seans 60 dakika olacak şekilde HBO verilecek. Postop. 8.ci günde bütün sıçanlar sakrifiye edilerek alınan spinal sinir örnekleri -80 derecede saklanacaktır.

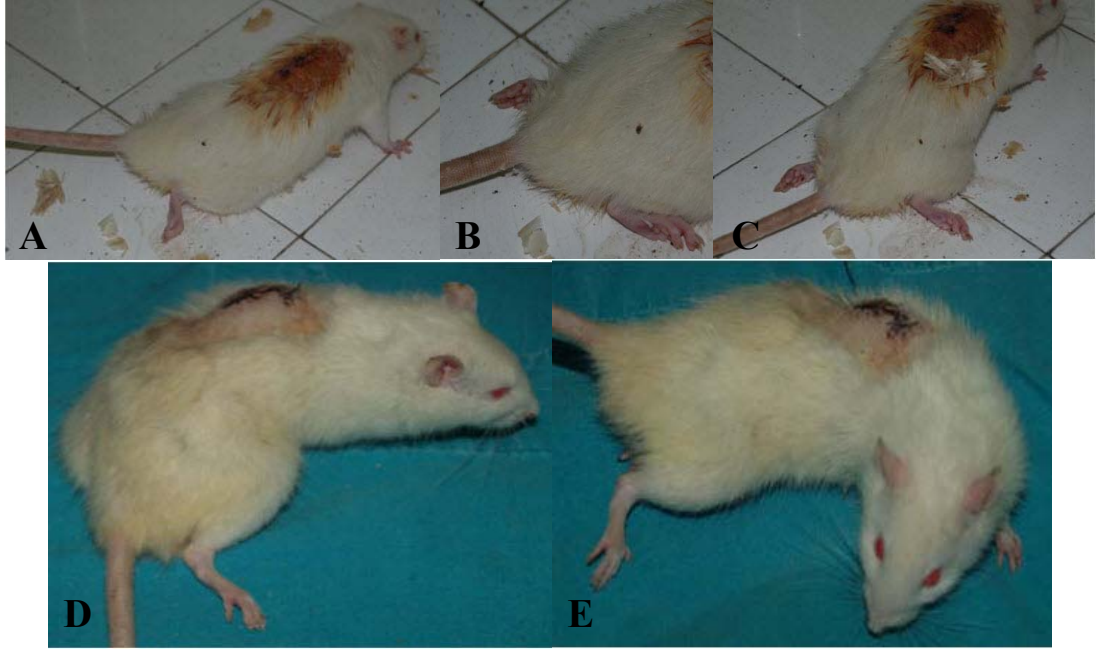
### **Motor Performansı Değerlendirme:**

BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) lokomotor skalasına göre değerlendirilecektir.

0. Gözlemlenebilir arka ayak hareketi yok.
1. Bir veya iki eklem, genellikle kalça ve / veya diz hafif hareketi
2. Bir eklemde geniş hareket veya bir eklemde geniş hareket ile diğer bir eklemde hafif hareket
3. İki eklemde geniş hareket
4. Herhangi üç farklı arka ayak eklemde hafif hareket
5. İki eklemde hafif hareket ile üçüncü eklemde geniş hareket
6. İki eklemde geniş hareket ile üçüncü eklemde hafif hareket
7. Üç arka ayakta da geniş hareket
8. Sürünürken ağırlığını destekleyemiyor veya pençelerini yerleştirerek ağırlığını kaldırarak plantar adımlama yapamıyor.Sürünerek yürüyor.
9. Pençelerinin üzerinde sadece duruş fazında ağırlığını kaldırarak durabiliyor.(Yani sadece sabit duruyorken)veya arasıra ile sık arasında değişen oranda dorsal adımlama vardır ama plantar yürüyüş yoktur.
10. Zaman zaman ağırlık dengelenerek plantar adımlama, ön ayak - arka ayak koordinasyonu yok.
11. Sık görülen ağırlık dengelenerek plantar adımlama, ön ayak - arka ayak koordinasyonu yok.
12. Sık görülen ağırlık dengelenerek plantar adımlama, Ara –sıra yapılabilen ön ayak- arka ayak koordinasyonu

13. Sık görülen ağırlık dengelenerek plantar adımlama ile sıklıkla olan ön ayak - arka ayak koordinasyonu
14. Uyumlu ağırlık dengelenerek plantar adımlama, sürekli ön ayak - arka ayak koordinasyonu var. Etkilenen taraf üzerinde duruyorken vücudunu duruş fazının sonunda bir miktar havalandırıp iç-dış rotasyon yapabilir veya sıklıkla plantar adımlamayla beraber nadiren dorsal adımlama gözlenir.
15. Uyumlu plantar adımlama ve uyumlu ön ayak- arka ayak vardır. Ayağını temizlemek için kaldırma ya hiç yoktur veya çok az ilerletebilmektedir. Ayağa kalkınca etkilenen extremitte başlangıçta vücuda paraleldir.
16. Uyumlu plantar adımlama ve yürüyüşte uyumlu ön ayak- arka ayak vardır. Ayakta artan iyileşme ile hafif ayak temizliği yapılır. Pençesinin pozisyonu vücuduna paralel ve vücudunu rotasyonel hafif çevirebiliyor.Kaldıramıyor.
17. Uyumlu plantar adımlama ve yürüyüşte uyumlu ön ayak- arka ayak vardır. Ayakta artan iyileşme ile sıklıkla ayak temizliği yapılır. Pençesinin pozisyonu vücuduna paralel ve vücudunu hafif dengede tutabiliyor.Hafif vücudunu kaldırıyor.
18. Uyumlu plantar adımlama ve yürüyüşte uyumlu ön ayak- arka ayak vardır. Ayakta artan iyileşme ile sıklıkla ayak temizliği yapılır. Pençesinin pozisyonu vücuduna paralel ve vücudunu dengede tutabiliyor. Vücudunu kaldırıyor.
19. Uyumlu plantar adımlama ve yürüyüşte uyumlu ön ayak- arka ayak vardır. Ayak temizliği sürekli yapılır.Pençesini vücuduna paralel tutuyor.Vücudunu dengede tutarak kalkabiliyor. Kuyruk her zaman yerde duruyor.Koordine edemiyor.
20. Uyumlu plantar adımlama ve yürüyüşte uyumlu ön ayak- arka ayak vardır. Ayak temizliği ve vücut temizliği devamlı yapılır. Kuyruk havada ve koordineli kullanılıyor. Gövde instabildir.
21. Uyumlu plantar adımlama ile koordineli yürüyüş vardır. Vücut temizliği sürekli ve bütün duruş ve yürüyüş fazlarında pençeler gövdeye paraleldir. Kuyruk yukarıdadır ve gövde stabildir.(61)





**Resim 15:** BBB skorlaması yapılabilmesi için hergün sıçanların her birine en az 3 dakika boyunca yürüme ve hareket analizi yapıldıktan sonra skor sonucu günlük olarak kaydedildi.

## PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Protein miktar tayini Lowry yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem, proteinlerin alkali ortamda bakır iyonları ile biüre tepkimesi vermesi esasına dayanır. Peptid bağları alkali ortamda bakır tuzları ile mor renkli kompleks oluşturur. Aynı zamanda protein yapısındaki tirozin ve triptofan amino asitleri fosfomolibdat-fosfotungstat çözeltisi (Folin-Ciocalteu) ile indirgenir.(62)

Sığır serum albüminin (BSA) ana stok standartı (1 mg/ml) olarak hazırlanmış çözeltiden 0.2 ml ve 0.4 ml alınıp, 10 ml'ye tamamlamak suretiyle elde edilen 20 µg/ml ve 40 µg/ml BSA içeren çözeltilerden 0.4'er ml alınarak standart tüplerine kondu.(62)

Doku protein tayini için homojenatlar 100 kat seyreltilip elde edilen örneklerden 0.4 ml alınarak numune tüplerine kondu. Her tüpe 2 ml protein renk reaktifi eklendi. Tüpler 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Karışıma 1:1 oranında distile su ile seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisinden 0.2 ml kondu ve karıştırıldı. Oda sıcaklığında 1 saat bekletildikten sonra 750 nm'de köre karşı

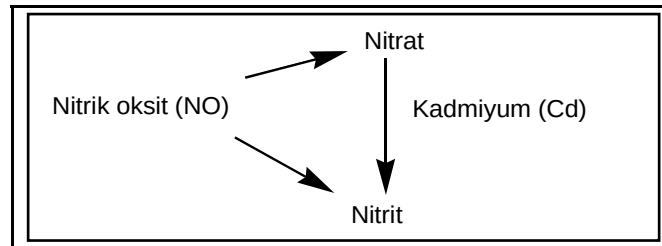
spektrofotometrede okundu. K r t pleri ise örnek yerine distile su konarak hazırlandı ve örnekler ile aynı işleme tabi tutuldu. Dokular protein miktarları, konsantrasyonu bilinen BSA   zelteleriyle oluşturulan standart eğri yardımıyla hesaplandı.(62)

### **Protein Miktar Tayininde Kullanılan Standart   zeltelerin Hazırlanması**

BSA'nın belirli konsantrasyonlardaki   zelteleri hazırlandı. Bunun için 10 mg BSA tartılarak distile su ile 10 ml'ye tamamlandı ve böylece ana stok BSA standardı (1 mg/ml) hazırlandı. Bu stok çözeltiden alınan belirli hacimler, distile su ile seyreltilerek ml'de 10, 20, 30, 40, 50, 75 ve 100  g BSA bulunduran standart çalışma   zelteleri hazırlandı. Bu   zeltelerden 0.4'er ml alınarak işlemlere tabi tutulduktan sonra spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda protein konsantrasyonlarının karşılık geldiği absorbanslar k re karşı okunup standart eğri çizildi. Her deney günü, iki ya da üç ayrı konsantrasyonda taze hazırlanan standart   zeltelerinin absorbansı, örnekler ile birlikte okunarak standart eğriden sapmalar düzeltildi.(62)

### **NON-ENZİMATİK NO MİKTAR TAYİNİ**

Dokularda NO miktar tayini, biyolojik örneklerde üretilen NO'nun son ürünü olan nitrit üzerinden Greiss ayıracı kullanılarak, kolorimetrik bir yöntemle yapılmıştır. Nitrik oksit, sulu çözeltelerde hızla nitrit ve nitrata dönüşür. Nitrat, Greiss ayıracı ile reaksiyon vermediği için, granüler kadmiyum (Cd) ile kimyasal redüksiyona uğratılarak nitrite indirgenir. Ortamdaki toplam nitrit, Greiss reaksiyonunu takiben spektrofotometrik olarak tayin edilir. Deneyde kullanılan ZnSO<sub>4</sub>   zeltisi, biyolojik örneklerdeki proteinleri çöktürür ve çökeleğin ortamdan uzaklaştırılması ile  l  mlerin daha sağlıklı alınmasını sağlar.(63)



**Şekil 12: NO'nun nitrit ve nitrata dönüşümü (63)**



Asidik çözeltilerde, nitrit nitroz aside dönüşür. Oluşan nitroz asit ile sülfanilamid arasında diazonyum tepkimesi gerçekleşir ve sülfanilamid diazonyum tuzu, N-(1-Naftil)-etilendiamin ile reaksiyona girerek kırmızı bir bileşik oluşturur ve 540 nm dalga boyunda absorbans ölçülür. Nitrat ise sülfanilamid ile diazotizasyona uğramadığı için öncelikle nitrite indirgenmeli daha sonra Griess reaksiyonuna sokulmalıdır. Bu yöntem ile 1 µM gibi düşük miktarlarda nitrit içeren 10-100 µl hacimlerinde örnekler kullanılarak, nitrit tayini yapılabilmektedir.(63)

Doku stok homojenatlarından, mikrosantrifüj tüplerine 50 µl alınıp 190 µl'ye bidistile su ile tamamlandı. Üzerine 10 µl % 30'luk (a/h) ZnSO<sub>4</sub> çözeltisi eklenerek manyetik karıştırıcıda karıştırılıp oda sıcaklığında 15 dk. inkübe edildikten sonra 1500xg'de 5 dk. santrifüj edildi. Süpernatant temiz bir tüpe aktarıldı. Böylece örneklerin protein içeriği ortamdan uzaklaştırıldı. Aynı bir mikrosantrifüj tüpüne her örnek için 0.5 g Cd granülleri kondu ve bu granüller 2'şer kez sırayla 1 ml H<sub>2</sub>O, 1 ml 0.1 M HCl, 1 ml 0.1 M NH<sub>4</sub>OH ile yıkandı. Yıkamış Cd granülleri üzerine süpernatantlar, otomatik pipet aracılığıyla aktarıldı. Tüpler sıcaklık ayarlı karıştırıcıya yerleştirilip 25°C'de 700xg'de 17.5 saat boyunca inkübasyona bırakıldıktan sonra 1500xg'de 5 dk. santrifüj edildi ve çözelti kısmı alındı. Bu çözeltiden 80 µl alınıp mikrolaka kuyucuklarına uygulandı ve 100 µl'ye bidistile su ile tamamlandı. Her örnek iki kez çalışıldı. Örneklerin bulunduğu kuyucuklara sırasıyla 50'şer µl Greiss ayracı 1 ve 2 ilave edilip mikrolaka okuyucuda 540 nm dalga boyundaki absorbans köre karşı ölçüldü. Kör olarak hiçbir işleme tabi tutulmamış 200 µl bidistile su kullanıldı. Aynı örneği içeren kuyucuk çiftlerindeki absorbansın ortalaması alınıp standart eğride karşılık geldiği NO konsantrasyonu belirlendi. Sonuçlar, seyreltme faktörü ile çarpıldıktan sonra µM/mg protein olarak verildi. (63)

#### **Non-enzimatik NO Miktar Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması**

Kit içinde hazır halde bulunan 500 µM nitrit standardından hareketle gerekli seyreltmeler bidistile su ile yapılarak 0.25 0.5, 2.5, 5, 12.5, 25, 50 µM'lık standart çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin her biri, yıkamış Cd granülleri içeren

mikrosantrifüj tüplerine alındı ve sıcaklık ayarlı karıştırıcıya yerleştirilip 25°C’de 700xg’de 17.5 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Inkübasyonu takiben 1500xg’de 5 dk. santrifüj edildi ve çözelti kısmından 100’er µl alınıp iki ayrı mikrolaka kuyucuğuna uygulandı. Daha sonra kuyucuklara sırasıyla 50’şer µl Greiss ayracı 1 ve 2 ilave edilip mikrolaka okuyucuda 540 nm dalga boyundaki absorbans kör kuyucuğuna karşı okundu. Kör olarak hiçbir işleme tabi tutulmamış 200 µl bidistile su kullanıldı. Aynı konsantrasyondaki kuyucuk çiftlerinde okunan absorbansın ortalaması alınıp NO standart eğrisi çizildi. Her deney günü, iki ya da üç ayrı konsantrasyonda taze hazırlanan standart çözeltilerinin absorbansı, örnekler ile birlikte okunarak standart eğriden sapmalar düzeltildi.(63)

## NOS AKTİVİTESİ TAYİNİ

Bu deneyin prensibi, biyolojik örneklerde zamana ve sıcaklığa bağlı bir reaksiyon ile NOS’un katalizörlüğünde oluşan NO’nun sulu çözeltilerdeki son ürünü olan total nitritin, Greiss reaksiyonu aracılığıyla kolorimetrik olarak ölçülmesidir. NOS, kompleks bir enzim olup nöronlarda, trombositlerde, nötrofillerde ve daha birçok hücrede moleküler arjinin ve oksijene etki ederek NO oluşumuna neden olur. NO’nun *in vivo* son ürünleri ise nitrit ve nitrattır.(64)

Deneyde kullanılan nitrat redüktaz (NR), nitratın enzimatik redüksiyonla nitrite indirgenmesini katalizler. NADPH ise, NOS’un kofaktörüdür ancak NADPH Greiss ayracının etkinliğini azalttığından deneydeki NADPH fazlalığı laktat dehidrogenaz (LDH) kullanılarak ortadan kaldırılır. Yöntemde NOS reaksiyonu ısı inaktivasyonu ile durdurulur, asit kullanımı NR’ı inhibe ettiği için tercih edilmez.(64)

Greiss ayracı kullanılarak spektrofotometrik olarak nitrit tayini kolay ve hassas bir yöntemdir. Asidik çözeltilerde nitrit, nitroz aside dönüşür. Nitroz asit ile sülfanilamid arasında diazonyum tepkimesi gerçekleşir. Sülfanilamid diazonyum tuzunun, N-(1-Naftil)-etilendiaminle etkileşerek 540 nm’de ölçülebilen kırmızı bir bileşik oluşturmalarının ardından absorbans mikrolaka okuyucuda ölçülür.(64)

Doku stok homojenatları, deney tamponu ile 5 kat dilüe edildikten sonra mikrolaka kuyucuklarına 40 µl uygulandı. Üzerlerine 20 µl deney tamponu ilave edildi. Her örnek için iki deneme yapıldı. Deney günü taze hazırlanmış 10'ar µl 1 mM NADPH ve nitrat redüktaz çözeltisi kuyucuklara eklendi. Mikrolaka içeriği 60 dk. oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 10'ar µl kofaktör hazırlama ve LDH çözeltileri her kuyucuğa eklendi. Mikrolaka oda sıcaklığında 20 dk. inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklara 50'şer µl Greiss Ayracı 1 ve 2 ilave edilip, oda sıcaklığında 10 dk. daha bekletildi ve örneklerin absorbansı 540 nm dalga boyunda mikrolaka okuyucuda köre karşı okundu. Kör olarak herhangi bir işleme tabi tutulmayan 200 µl HPLC saflığında su kullanıldı. Örnek absorbanslarının ortalaması alınıp standart eğri yardımıyla konsantrasyon değeri bulundu. NOS aktivitesi ise aşağıdaki formülden hareketle hesaplandı ve sonuçlar seyreltme faktörü ile çarpıldıktan sonra “nmol/mg protein” olarak verildi.(64)

$$\text{NOS aktivitesi} = (\text{C540} \times \text{200} / \text{VS}) / t \\ = \text{nmol/ml/dk}$$

**C540:** Örneğin absorbansının karşılık geldiği konsantrasyon (nmol/ml)

**200:** Reaksiyonun son hacmi (200 µl)

**VS:** Kuyucuklara uygulanan örneğin hacmi (40 µl)

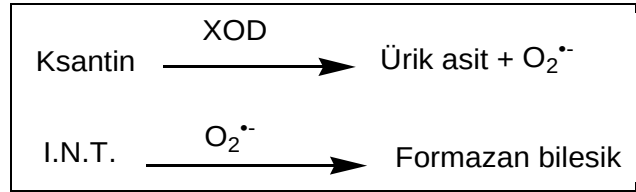
**t:** NOS reaksiyonunun inkübasyon süresi (60 dk.)

#### **NOS Aktivitesi Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması**

Kit içerisinde bulunan 600 nM nitrat standardı çözeltisi deney tamponu ile 10 kat seyreltildi ve dilüe nitrat standardından hareketle deney tamponu kullanılarak 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 nmol/ml konsantrasyonlarındaki standart çözeltiler hazırlandı. Her standart üç kez çalışıldı ve yukardaki işlemler sırasıyla uygulandı. Aynı konsantrasyondaki standardı içeren kuyucuk çiftlerinde okunan absorbansın ortalaması alınıp nitrat standart eğrisi çizildi. Her deney günü, iki ya da üç ayrı konsantrasyonda taze hazırlanan standart çözeltilerinin absorbansı, örnekler ile birlikte okunarak standart eğriden sapmalar düzeltildi.(64)

## SOD AKTİVİTESİ TAYİNİ

Dokular SOD aktivitesi tayini, deney ortamında oluşturulan süperoksit radikalinin verdiği renk reaksiyonunun SOD tarafından inhibisyonunun kolorimetrik olarak tayin edilmesi esasına dayanır. Bu yöntemde ksantin, ksantin oksidaz (XOD) enzimi katalizörlüğünde süperoksit radikale ve ürik aside dönüşür. Açığa çıkan süperoksit radikali, 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolyum kloriti (INT) kırmızı renkteki bir bileşiğe (formazan) dönüştürür. Ancak süperoksit radikalinin bir kısmı ortamda bulunan SOD enzimi ile etkileşerek bu reaksiyonu inhibe eder. Bu inhibisyonun oranına bağlı olarak SOD enzim aktivitesi tayin edilir. (65)



**Şekil 13:** SOD aktivite tayininde temel reaksiyon denklemi (65).

Doku stok homojenatı, dilüe edici ajan ile 100 kat seyreltildi. Seyreltilmiş örnekler ve hazırlanan karıştırılmış substrat çözeltisi ölçümden en az 5 dk. önce 37 °C'lık su banyosunda inkübe edildi. Temiz bir tüpe 850 µl karıştırılmış substrat çözeltisi ve 25 µl dilüe örnek konulduktan sonra 125 µl ksantin oksidaz ilave edildiği anda kronometre çalıştırıldı. Tüp içeriği manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. (65)

Kör küveti boş bırakılıp, örnek küvetine tüp içeriği aktarıldı. 30. sn., 1., 2., 3. dk.'larda ve 3.5'inci dakikada spektrofotometrede 505 nm'deki absorbans havaya karşı okundu. Her örnek için üçer ölçüm yapıldı. Tablo I'de SOD ölçüm küvetlerindeki çözelti ve miktarları gösterilmiştir. (65)

**Tablo 6.** SOD ölçüm küvetlerindeki çözeltiler ve miktarları

| <u>Çözeltiler</u>      | <u>Örnek küveti (µl)</u> | <u>Kör küveti</u> |
|------------------------|--------------------------|-------------------|
| Dilüe örnek            | 25                       | ---               |
| Karıştırılmış Substrat | 850                      | ---               |
| Ksantin oksidaz(XOD)   | 125                      | ---               |

### **SOD Tayininde Kullanılan Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve Örneklerin SOD Aktivitesinin Hesaplanması**

Kit içinde bulunan standart SOD şişesinin içeriği 10 ml bidistile su ile karıştırılıp, 4.9 Ü/ml konsantrasyonunda SOD içeren S6 standardı hazırlandı. Bu standarttan hareketle uygun seyreltmeler dilüe edici ajan ile yapılarak sırasıyla 2.45, 1.225, 0.612 ve 0.204 Ü/ml konsantrasyonlarında SOD taşıyan S5, S4, S3, S2 standartları hazırlandı. S1 standardı ise yalnız dilüe edici ajan içermektedir yani S1 reaksiyonu sırasında herhangi bir inhibisyon meydana gelmez. (65)

$$\Delta AS1/dk = \text{İnhibe olmamış reaksiyon oranı} = \% 100$$

Standart çözeltilerine örneklere uygulanan işlemler aynen uygulanıp absorbanslar okundu. Aşağıdaki formülden hareketle örneklerin ve standartların  $\Delta A/dk$  değeri hesaplandı.

$$\Delta A/dk (\text{örnek veya standart}) = (A_2 - A_1)/\Delta dk$$

**A<sub>2</sub>:** 3.5'inci dk.'daki absorbans

**A<sub>1</sub>:** 0.5'inci dk.'daki absorbans

**$\Delta dk$ :** 3 dakika

Tüm standart ve örneklerin  $\Delta A/dk$  değeri ile  $\Delta AS1/dk$  değeri arasında orantı kurularak örnek ve standart verileri % olarak ifade edildi. Sonuçlar 100'den çıkarılarak inhibe olmuş reaksiyon oranı hesaplandı.

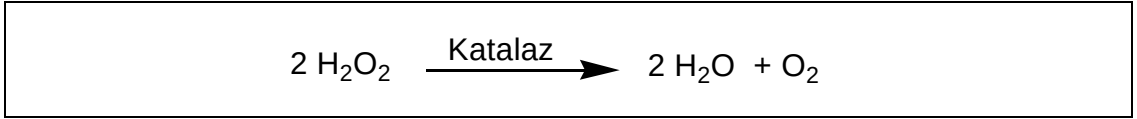
$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - (\Delta A_{std}/dk \times 100) / \Delta AS1/dk$$

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - (\Delta A_{örnek}/dk \times 100) / \Delta AS1/dk$$

Örneklerden elde edilen yüzde inhibisyon verileriyle standart inhibisyonları arasında doğru orantı kurularak örneklerdeki SOD aktivitesi Ü/ml olarak tayin edildi. Buradan elde edilen değer seyreltme faktörü ile çarpıldıktan sonra, sonuçlar “Ü/mg protein” olarak verildi ve her örnek üçer kez çalışıldığından ortalamaları alındı.

## CAT AKTİVİTESİ TAYİNİ

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in katalaz enzimi tarafından parçalanması sonucu 240 nm dalga boyunda absorbansta meydana gelen düşüş üzerinden enzimin aktivite tayinini yapan kolorimetrik bir yöntem kullanılmıştır.(66)



**Şekil 14:** Katalaz aktivite tayininde temel reaksiyon denklemi (66)

Doku stok homojenatı fosfat tamponu (50 mM, pH: 7.0) ile 100 kat seyreltilti. Temiz bir tüpe 2 ml doku homojenatı ve 1 ml 50 mM fosfat tamponu konup manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve karışım kör küvetine alındı. Ayrı bir tüpe alınan 2 ml doku homojenatı üzerine 1 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ilave edildiği anda kronometre çalıştırıldı ve tüp içeriği manyetik karıştırıcıda karıştırılıp örnek küvetine aktarıldı. Spektrofotometrede 240 nm’de absorbansdaki azalma 15., 30. saniyelerde ve 2., 3. dakikalarda köre karşı okundu. Tüm örnekler üçer kez çalışıldı.

**Tablo 7.** Katalaz ölçüm küvetlerindeki çözeltiler ve miktarları

| <u>Cözeltiler</u>                       | <u>Örnek Küveti (ml)</u> | <u>Kör Küveti (ml)</u> |
|-----------------------------------------|--------------------------|------------------------|
| Doku Homojenatı                         | 2                        | 2                      |
| 50 mM Fosfat Tamponu                    | --                       | 1                      |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi | 1                        | --                     |

Absorbans değişiminden hareketle ‘k’ değeri hesaplandı ve sonuçlar seyreltme faktörü ile çarpıldıktan sonra ‘‘Aebi Ünitesi (AÜ)/mg protein’’ cinsinden verildi.

$$k = 2.3 / \Delta t \times \log A_1/A_2$$

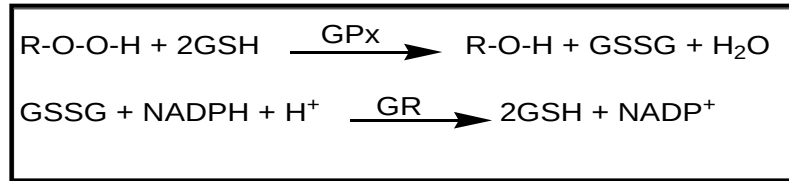
**A<sub>1</sub>**: ilk okunan absorbans

**A<sub>2</sub>**: son okunan absorbans

**Δt**: t<sub>2</sub> - t<sub>1</sub> (180 sn – 15 sn)

### GPx AKTİVİTESİ TAYİNİ

Bu yöntemde, GPx aktivitesi indirekt olarak ölçölmektedir. GPx’in organik peroksitleri indirgemesi sonucu oluşın okside haldeki glutatyon, glutatyon redöktazın (GR) katalizlediği bir tepkime ile indirgenmiş haline dönuşür. Bu dönuşüm sırasında ortamda bulunan NADPH, NADP<sup>+</sup>’ya yükseltgenir ve açığa çıkan serbest hidrojen molekülleri okside glutatyona aktarılarak indirgenmiş glutatyon sentezlenir. Bu tepkimeler gerçekleşirken 340 nm dalga boyundaki absorbansta zamana bağlı olarak bir azalma gözlenir. Bu düşüşten yola çıkılarak GPx enzim aktivitesi tayin edilir. Absorbanstaki azalma ile örnekteki GPx aktivitesi arasında doğru orantı vardır. (67)



**şekil 15:** GPx aktivite tayininde temel reaksiyon denklemi (67)

Doku stok homojenatı dilüe edici ajan kullanılarak 100 kat seyreltildi ve hazırlanan belirteç çözeltisi ile birlikte ölçümden önce en az 5 dk. 37 °C’lik su banyosunda inkübe edildi. Temiz bir tüpte 1 ml belirteç 20 µl örnek ile karıştırdıldıktan sonra üzerlerine, deney günü taze hazırlanmış H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 40 µl konduğu anda kronometre çalıştırıldı. Tüp içeriği manyetik karıştırmacıda karıştırdıldı. Kör küveti boş bırakılıp, örnek küvetine hazırlanan çözelti aktarıldı. 1., 2., 3. dakikalarda 340 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede havaya karşı

ölçüm alındı. Her örnek üç kez çalışıldı. Tablo III'te GPx ölçüm küvetlerindeki çözeltiler ve miktarları özetlenmiştir.(67)

**Tablo 8.** GPx ölçüm küvetlerindeki çözeltiler ve miktarları

| <u>Çözeltiler</u>             | <u>Örnek küveti (µl)</u> | <u>Kör küveti</u> |
|-------------------------------|--------------------------|-------------------|
| Dilüe örnek                   | 20                       | ---               |
| Belirteç                      | 1000                     | ---               |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 40                       | ---               |

Bir defaya mahsus olarak belirteç körü hazırlandı. Temiz bir tüpte 1 ml belirteç çözeltisine 20 µl distile su ilave edilip, üzerine 40 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi konduğu anda kronometre çalıştırıldı. Tüp içeriği manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve örnek küvetine aktarıldı. 1., 2., 3. dakikalarda 340 nm'de ölçüm alındı. 3. ve 1. dakikada ölçülen absorbanlar arasındaki fark ( $\Delta A_{340\text{nm/dk}}$ ) 8412 sabiti ile çarpılarak belirteç körünün Ü/L değeri bulundu.

$$\text{Ü/L Belirteç körü} = 8412 \times \Delta A_{340\text{nm/dk}}$$

Örneklerin Ü/L değeri ise aşağıdaki formülden hesaplandı:

$$\text{Ü/L Örnek} = 8412 \times \Delta A_{340\text{nm/dk}}$$

$$\Delta A_{340\text{ nm/dk}} = A_{1.\text{ dk}} - A_{3.\text{ dk}}$$

A: Örneğin absorbanı

Çıkan sonuç, belirteç körünün Ü/L değerinden çıkarılıp, seyreltme katsayısı ile çarpılarak GPx aktivitesi hesaplandı.

$$(\text{Ü/L Örnek} - \text{Ü/L Belirteç körü}) \times \text{Seyreltme katsayısı} = \text{GPx aktivitesi (Ü/L)}$$

Her örnek için yapılan üç denemenin ortalaması alındı. Ortalama GPx aktivitesi, her homojenatın protein miktarlarına bölünerek, GPx aktivitesi “Ü/mg protein” olarak verildi.



## BULGULAR

Çalışmamızda sonuçların güvenilirliğini sağlamak için Ege üniversitesi hayvan lab'da üretilen aynı cins sağlıklı genç erkek sıçanlar 6'arlı gruplara bölünerek 8 ayrı grup oluşturuldu. Dişi sıçanlar menstrual sikluslarının olması ve hormonal farklılığı düşünülerek çalışmaya alınmadı. Alınan sıçanların herhangi bir nörolojik defisiti olmadığı kontrol edildi. HBO tedavisi travma sonrası ne kadar erken verilirse etkisinin artacağı düşünülerek bütün grupların ameliyatları aynı sürede bitecek şekilde bir ekip tarafından yapıldı. Bütün gruplara travma sonrası en geç 1 saat içinde olacak şekilde HBO verilecek şekilde süre ayarlandı.

Çalışmaya katılan grupların sonuçları biyokimyasal ve fonksiyonel olarak karşılaştırıldı.

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 17.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma, min, max değer) yanı sıra niceliksel verilerin gruplararası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ,grupların ikili karşılaştırmalarında ise Mann-Whitney u testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında  $p < 0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı,  $p > 0,05$  istatistiksel anlamsız olarak değerlendirildi.

## BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME BULGULARI:

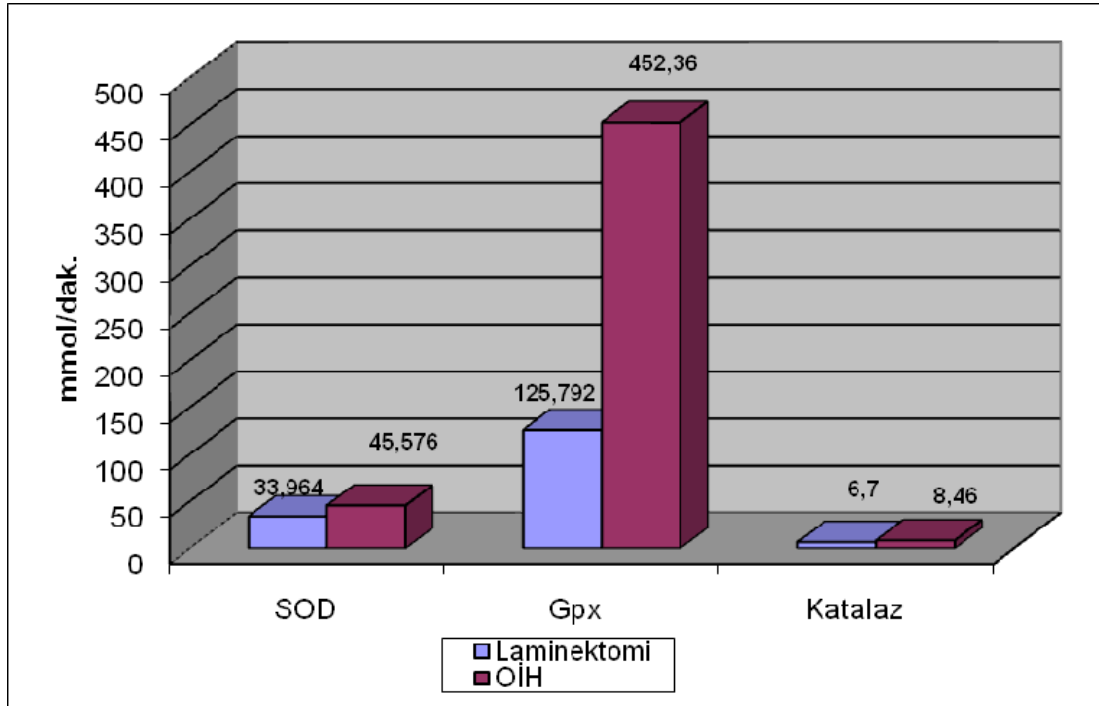
**Tablo 6:** Bütün grupların değerlendirme sonucu elde edilen enzim değerleri

| Grup          | SOD<br>ü/mg Protein | GPx<br>ü/mg Protein | Katalaz<br>Aebi ü/mg<br>protein | NO <sup>-</sup><br>mmol/mg | NOS<br>nmol/ml/dak. |
|---------------|---------------------|---------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------|
| Laminektomi   | 39.864              | 159.2               | 6.666                           | 0.65                       | 0.231               |
|               | 26.845              | 102.481             | 5.030                           | 0.674                      | 0.353               |
|               | 35.863              | 131.096             | 7.300                           | 0.597                      | 0.229               |
|               | 33.636              | 116.55              | 8.120                           | 0.479                      | 0.199               |
|               | 33.614              | 119.637             | 6.386                           | 0.59                       | 0.34                |
| OİH           | 48.219              | 409.815             | 9.310                           | 0.239                      | 0.041               |
|               | 42.127              | 528.549             | 7.586                           | 0.303                      | 0.05                |
|               | 46.696              | 450.478             | 7.025                           | 0.27                       | 0.056               |
|               | 45.262              | 420.6               | 9.919                           | 0.279                      | 0.047               |
| Prehbo        | 58.679              | 280.4               | 8.542                           | 0.58                       | 0.201               |
|               | 71.14               | 378.252             | 8.604                           | 0.703                      | 0.258               |
|               | 71.167              | 280.4               | 8.956                           | 0.626                      | 0.334               |
|               | 61.78               | 328.673             | 9.202                           | 0.754                      | 0.269               |
|               | 55.926              | 321.068             | 8.273                           | 0.718                      | 0.361               |
|               |                     | 381.906             |                                 |                            |                     |
| PrehboOİH     | 42.659              | 299.737             | 7.175                           | 0.771                      | 0.364               |
|               | 37.211              | 320.796             | 18.711                          | 0.587                      | 0.236               |
|               | 44.186              | 357.711             | 11.492                          | 0.796                      | 0.473               |
|               | 50.319              | 423.245             | 11.229                          | 0.757                      | 0.485               |
|               | 50.965              | 371.261             | 9.979                           | 0.767                      | 0.288               |
|               | 42.558              |                     | 12.077                          | 0.847                      | 0.442               |
| Posthbo       | 27.488              | 391.255             | 10.336                          | 0.525                      | 0.246               |
|               | 26.924              | 247.703             | 6.665                           | 0.393                      | 0.199               |
|               | 27.058              | 237.795             | 9.0                             | 0.631                      | 0.234               |
|               | 27.181              | 239.025             | 15.158                          | 0.79                       | 0.224               |
|               | 31.905              | 264.053             | 9.230                           | 0.815                      | 0.169               |
| PosthboOİH    | 22.384              | 458.515             | 11.433                          | 0.806                      | 0.47                |
|               | 16.668              | 346.063             | 7.535                           | 0.773                      | 0.327               |
|               | 20.784              | 325.87              | 17.924                          | 0.685                      | 0.418               |
|               | 21.775              | 514.495             | 8.435                           | 0.538                      | 0.39                |
|               | 28.483              | 465.486             | 13.211                          | 0.991                      | 0.375               |
|               | 27.123              | 331.77              | 9.694                           | 0.753                      | 0.353               |
| Preposthbo    | 27.152              | 144.722             | 4.867                           | 0.499                      | 0.277               |
|               | 26.523              | 126.79              | 6.891                           | 0.555                      | 0.235               |
|               | 30.61               | 94.782              | 5.114                           | 0.527                      | 0.184               |
|               | 35.26               | 109.424             | 5.468                           | 0.466                      | 0.224               |
|               | 35.322              | 122.675             | 5.584                           | 0.49                       | 0.218               |
|               | 40.1                | 109.424             | 5.435                           | 0.493                      | 0.364               |
| PreposthboOİH | 18.035              | 280.4               | 12.173                          | 0.925                      | 0.313               |
|               | 17.25               | 270.014             | 9.214                           | 0.953                      | 0.395               |
|               | 16.046              | 321.128             | 12.973                          | 0.879                      | 0.34                |
|               | 24.685              | 318.636             | 7.822                           | 0.982                      | 0.45                |
|               | 20.384              | 339.193             | 9.438                           | 0.617                      | 0.489               |

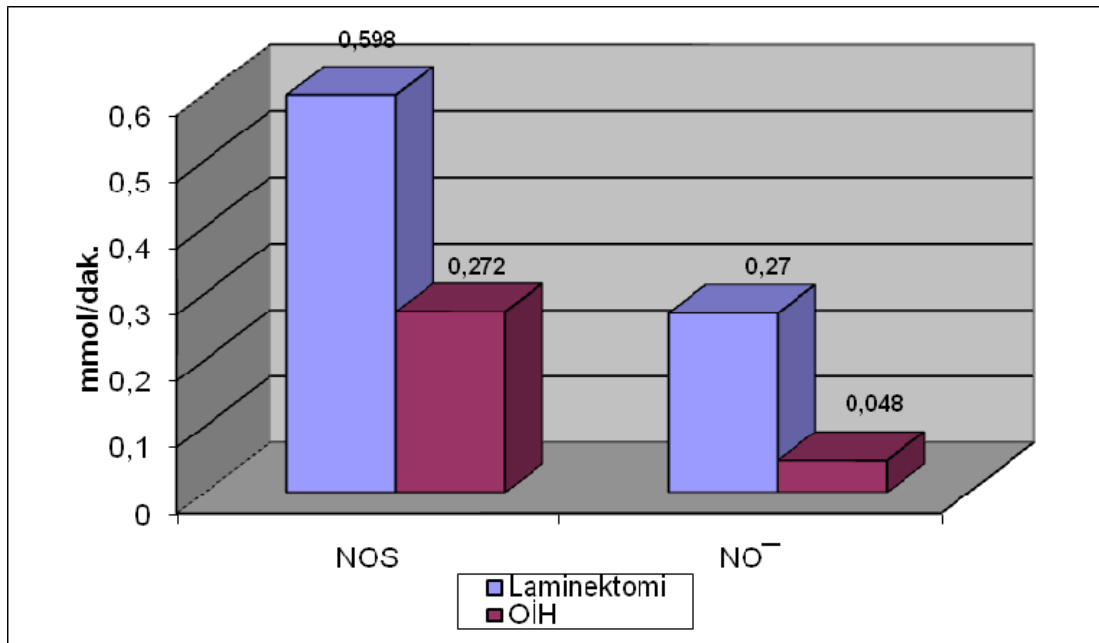
**Tablo 7:** Laminektomi – OİH

|                                          | Laminektomi      | OİH               | p             |
|------------------------------------------|------------------|-------------------|---------------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                  |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 33,964(±4,725)   | 45,576(±2,597)    |               |
| Minimum/Maximum                          | 26,845/39,864    | 42,127/48,219     |               |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                  |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 125,792(±21,277) | 452,360 (±53,625) |               |
| Minimum/Maximum                          | 102,481/159,200  | 409,815/528,549   |               |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                  |                   | 0,086         |
| Ortalama(±SS)                            | 6,700 (±1,147)   | 8,460 (±1,375)    |               |
| Minimum/Maximum                          | 5,030/8,120      | 7,025/9,919       |               |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                  |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 0,598 (±0,075)   | 0,272 (±0,026)    |               |
| Minimum/Maximum                          | 0,479/0,674      | 0,239/0,303       |               |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                  |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 0,270 (±0,070)   | 0,048 (±0,006)    |               |
| Minimum/Maximum                          | 0,199/0,353      | 0,041/0,056       |               |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı      Mann Whitney u test



**Grafik 1:** Laminektomi – OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz

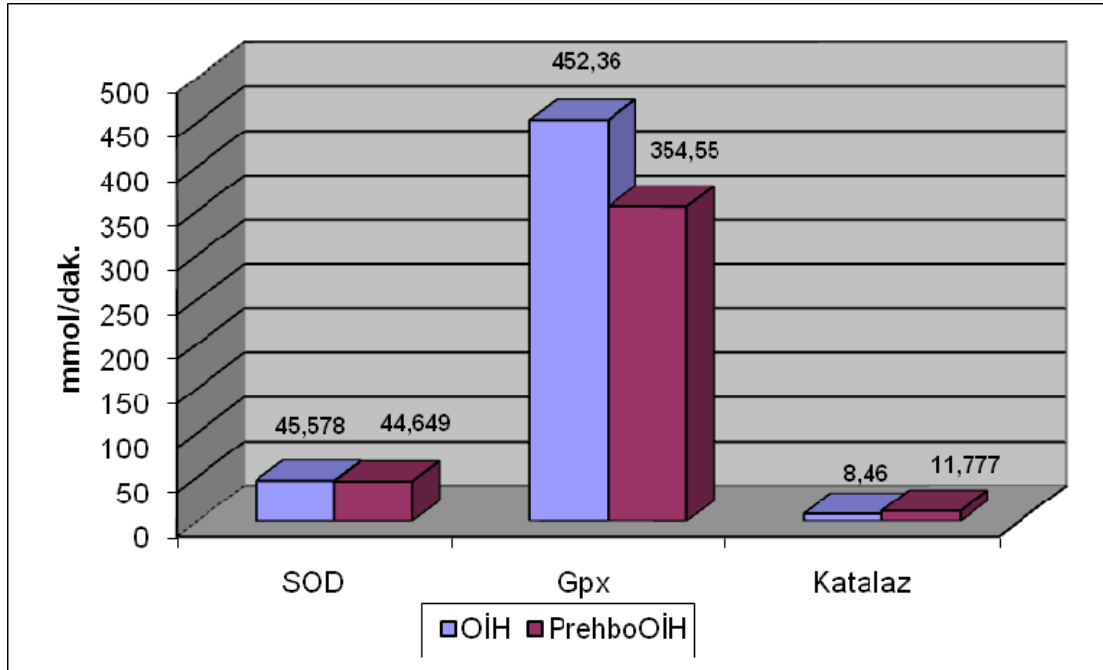


**Grafik 2:** Laminektomi – OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>

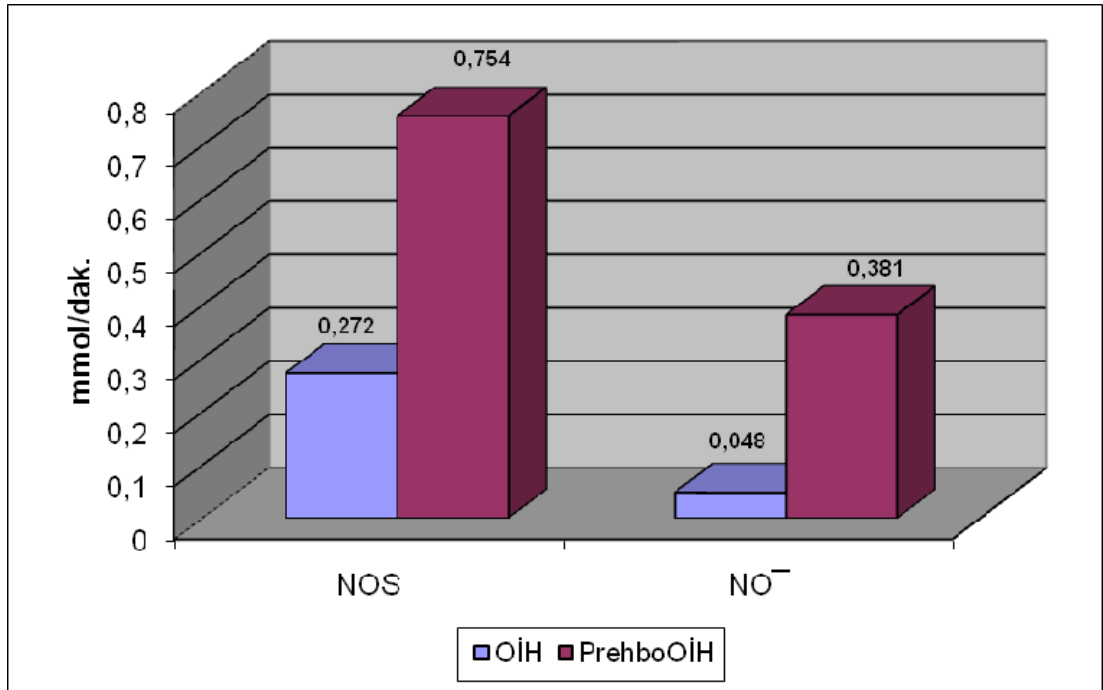
**Tablo 8: OİH – Ameliyat öncesi HBO’lu OİH**

|                                          | OİH               | Prehbo OİH        | p      |
|------------------------------------------|-------------------|-------------------|--------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |        |
|                                          |                   |                   | 0,831  |
| Ortalama(±SS)                            | 45,576 (±2,597)   | 44,649 (±5213)    |        |
| Minimum/Maximum                          | 42,127/48,219     | 37,211/50,965     |        |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |        |
|                                          |                   |                   | 0,052  |
| Ortalama(±SS)                            | 452,360 (±53,625) | 354,550 (±47,833) |        |
| Minimum/Maximum                          | 409,815 / 528,549 | 299,737/423,245   |        |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                   |                   |        |
|                                          |                   |                   | 0,055  |
| Ortalama(±SS)                            | 8,460 (±1,375)    | 11,777 (±3,820)   |        |
| Minimum/Maximum                          | 7,025/9,919       | 7,175/18,711      |        |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                   |                   |        |
|                                          |                   |                   | 0,011* |
| Ortalama(±SS)                            | 0,272 (±0,026)    | 0,754 (±0,088)    |        |
| Minimum/Maximum                          | 0,239 /0,303      | 0,587 / 0,847     |        |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                   |                   |        |
|                                          |                   |                   | 0,011* |
| Ortalama(±SS)                            | 0,048 (±0,006)    | 0,381 (±0,102)    |        |
| Minimum/Maximum                          | 0,041 /0,056      | 0,236 /0,485      |        |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı Mann Whitney u test



**Grafik 3:** OİH – Ameliyat öncesi HBO’lu OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz

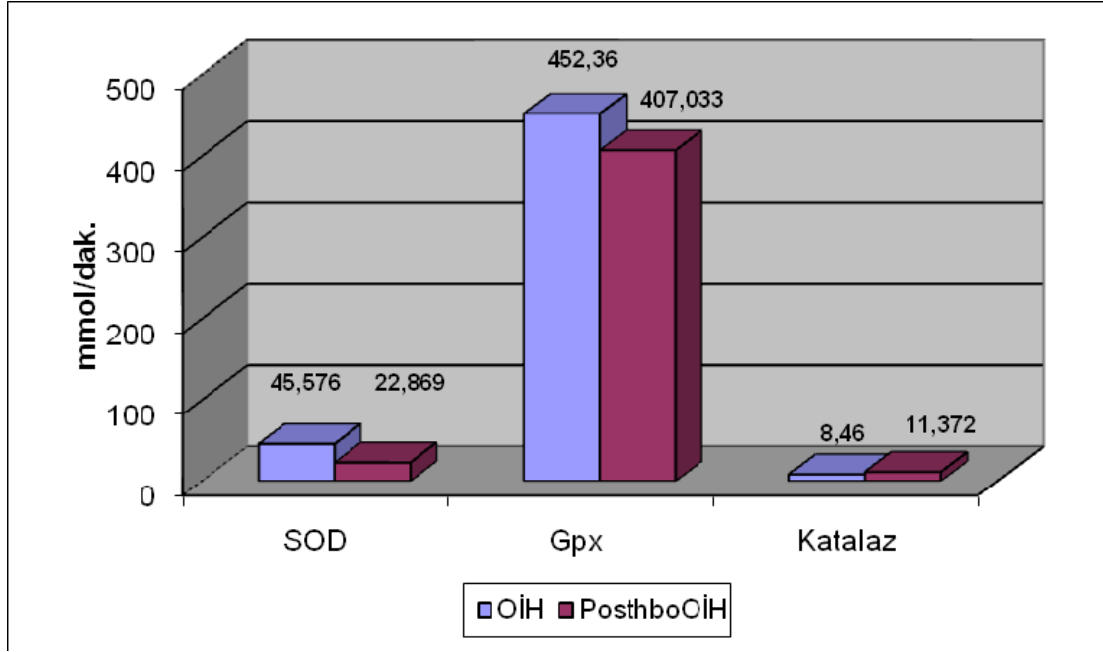


**Grafik 4:** OİH – Ameliyat öncesi HBO’lu OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>

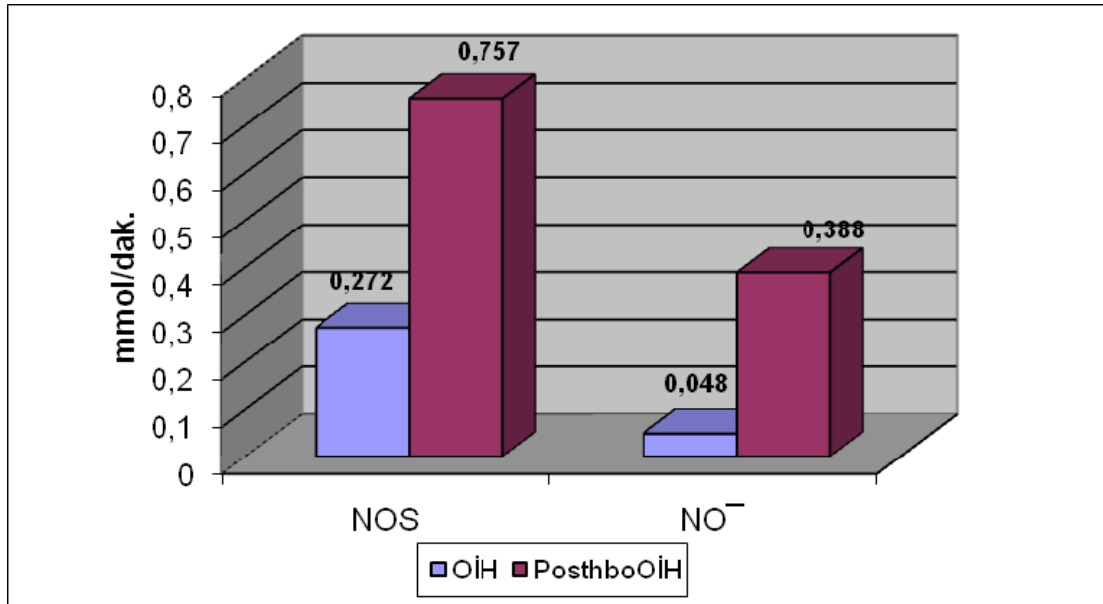
**Tablo 9:** OİH – Ameliyat sonrası HBO’lu OİH

|                                          | OİH               | Posthbo OİH       | p             |
|------------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   | <b>0,011*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 45,576 (±2,597)   | 22,869 (±4,332)   |               |
| Minimum/Maximum                          | 42,127/48,219     | 16,668/28,483     |               |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   | 0,522         |
| Ortalama(±SS)                            | 452,360 (±53,625) | 407,033 (±81,956) |               |
| Minimum/Maximum                          | 409,815 /528,549  | 325,870/514,495   |               |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                   |                   | 0,201         |
| Ortalama(±SS)                            | 8,460 (±1,375)    | 11,372 (3,807)    |               |
| Minimum /Maximum                         | 7,025 /9,919      | 7,535 /17,924     |               |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                   |                   | <b>0,011*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 0,272 (± 0,026)   | 0,757 (±0,148)    |               |
| Minimum/ Maximum                         | 0,239/0,303       | 0,538/0,991       |               |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                   |                   | <b>0,011*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 0,048 (±0,006)    | 0,388 (±0,050)    |               |
| Minimum/Maximum                          | 0,041/0,056       | 0,327/0,470       |               |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı    Mann Whitney u test



**Grafik 5:** OİH – Ameliyat sonrası HBO’lu OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz



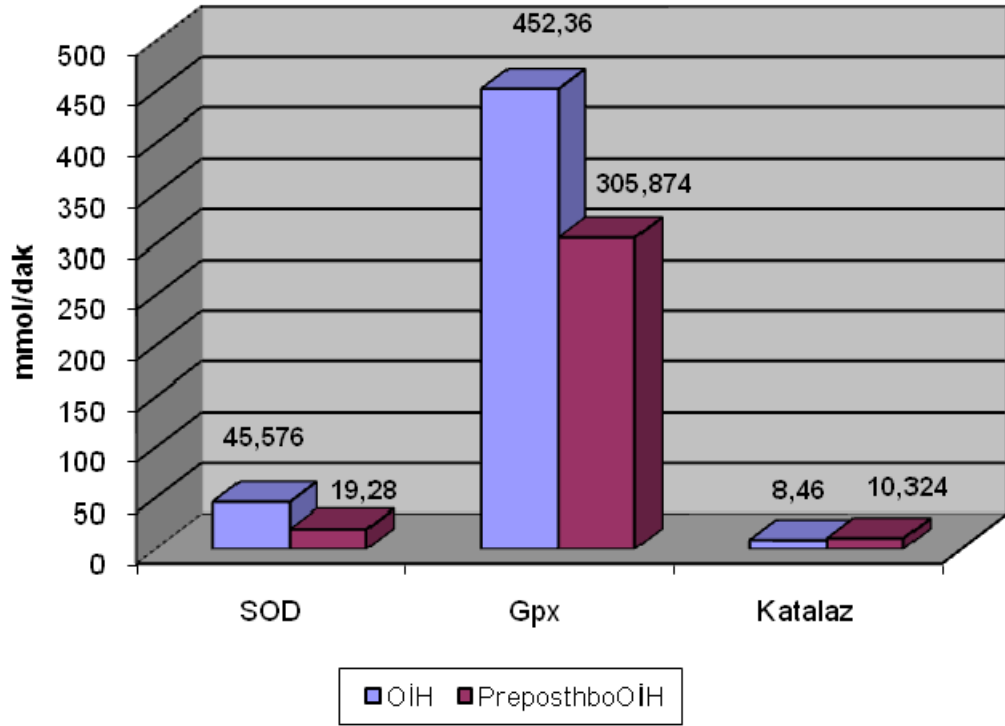
**Grafik 6:** OİH – Ameliyat sonrası HBO’lu OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>



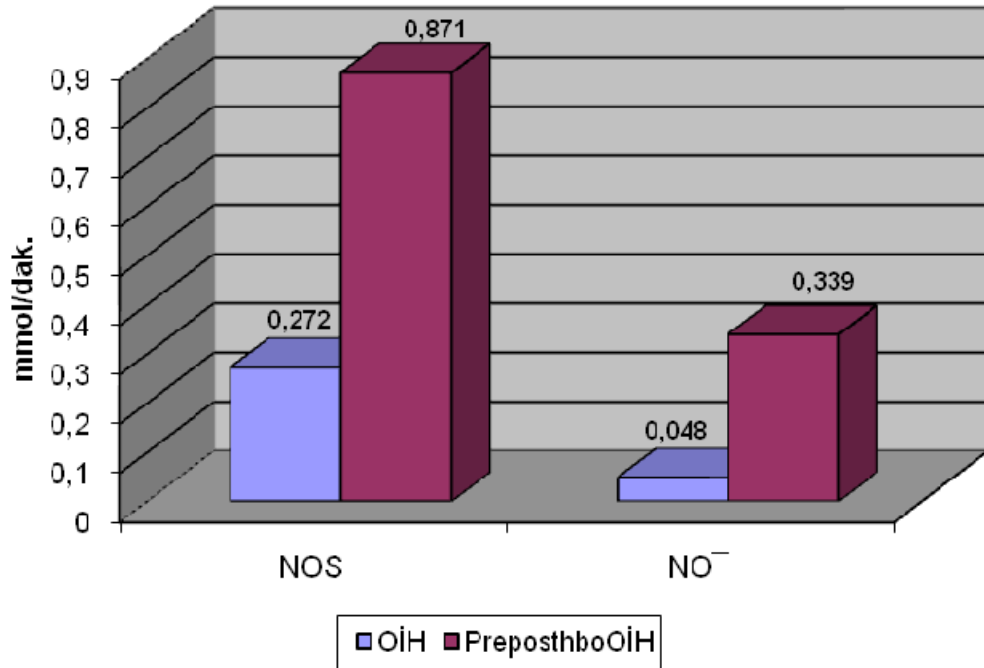
**Tablo 10:** OİH – Ameliyat öncesi ve sonrası HBO’lu OİH

|                                          | OİH               | Preposthbo OİH    | p             |
|------------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama (±SS)                           | 45,576 (±2,597)   | 19,280 ( ±3,411)  |               |
| Minimum/maximum                          | 42,127/48,219     | 16,046/24,685     |               |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama (±SS)                           | 452,360 (±53,625) | 305,874 (±29,328) |               |
| Minimum/maximum                          | 409,815 / 528,549 | 270,014 /339,193  |               |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,221         |
| Ortalama (±SS)                           | 8,460 (±1,375)    | 10,324 (2,162)    |               |
| Minimum/maximum                          | 7,025 /9,919      | 7,822 /12,793     |               |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama (±SS)                           | 0,272 (± 0,026)   | 0,871 (±0,147)    |               |
| Minimum/maximum                          | 0,239 / 0,303     | 0,617 / 0,982     |               |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | <b>0,014*</b> |
| Ortalama (±SS)                           | 0,048 (±0,006)    | 0,339 (±0,073)    |               |
| Minimum/maximum                          | 0,041 / 0,056     | 0,313 / 0,489     |               |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı    Mann Whitney u test



**Grafik 7:** OİH – Ameliyat öncesi ve sonrası HBO’lu OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz

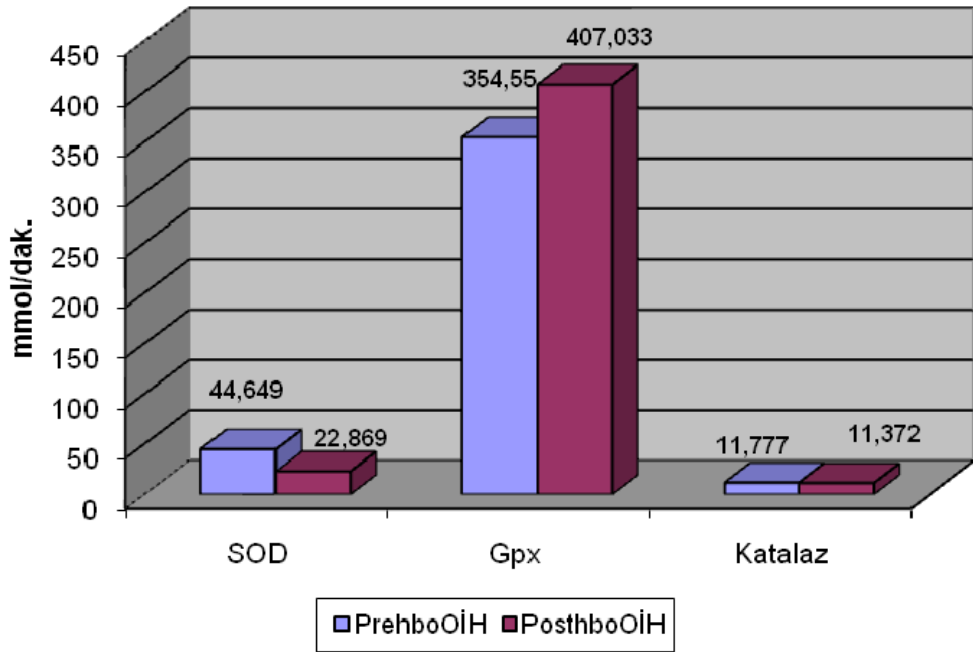


**Grafik 8:** OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO’lu OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>

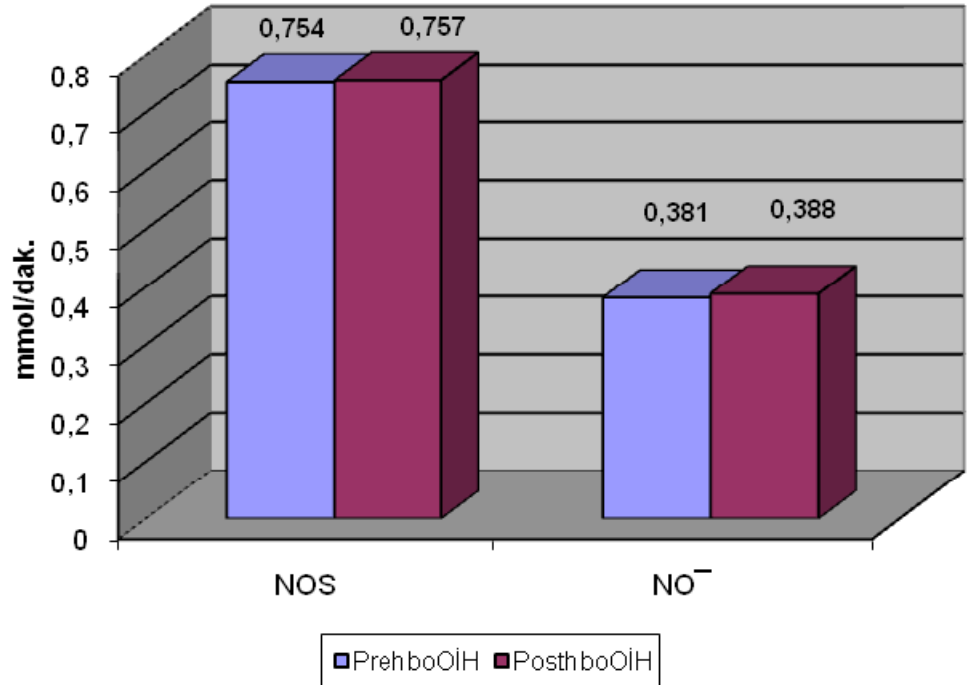
**Tablo 11:** Ameliyat öncesi HBO’lu OİH – Ameliyat sonrası HBO’lu OİH

|                                          | Prehbo OİH        | Posthbo OİH       | p             |
|------------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | <b>0,004*</b> |
| Ortalama (±SS)                           | 44,649 (±5,213)   | 22,869 (±4,432)   |               |
| Minimum / maximum                        | 37,211 / 50,965   | 16,668 / 28,483   |               |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,273         |
| Ortalama (±SS)                           | 354,550 (±47,833) | 407,033 (±81,956) |               |
| Minimum / maximum                        | 299,737 / 423,245 | 325,870 / 514,495 |               |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,749         |
| Ortalama (±SS)                           | 11,777 (±3,820)   | 11,372 (±3,807)   |               |
| Minimum / maximum                        | 7,175 / 18,711    | 7,535 / 17,924    |               |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,873         |
| Ortalama (±SS)                           | 0,754 (± 0,08))   | 0,757 (± 0,148)   |               |
| Minimum / maximum                        | 0,587 / 0,847     | 0,538 / 0,991     |               |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,873         |
| Ortalama (±SS)                           | 0,381 (±0,102)    | 0,388 (±0,050)    |               |
| Minimum / maximum                        | 0,236 / 0,485     | 0,327 / 0,470     |               |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı      Mann Whitney u test



**Grafik 9:** Ameliyat öncesi HBO’lu OİH – Ameliyat sonrası HBO’lu OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz

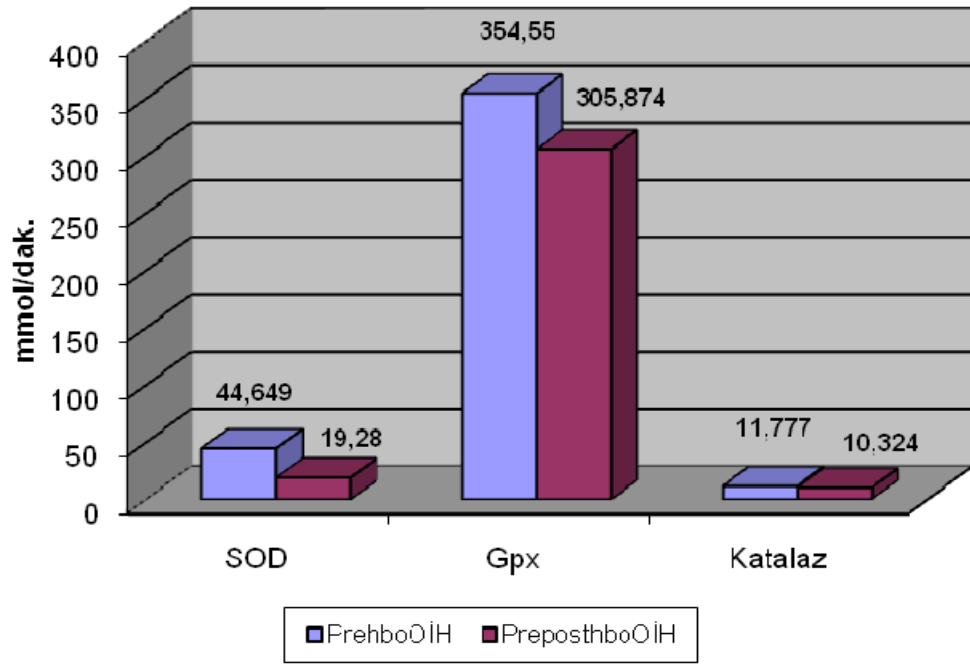


**Grafik 10:** Ameliyat öncesi HBO’lu OİH – Ameliyat sonrası HBO’lu OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>

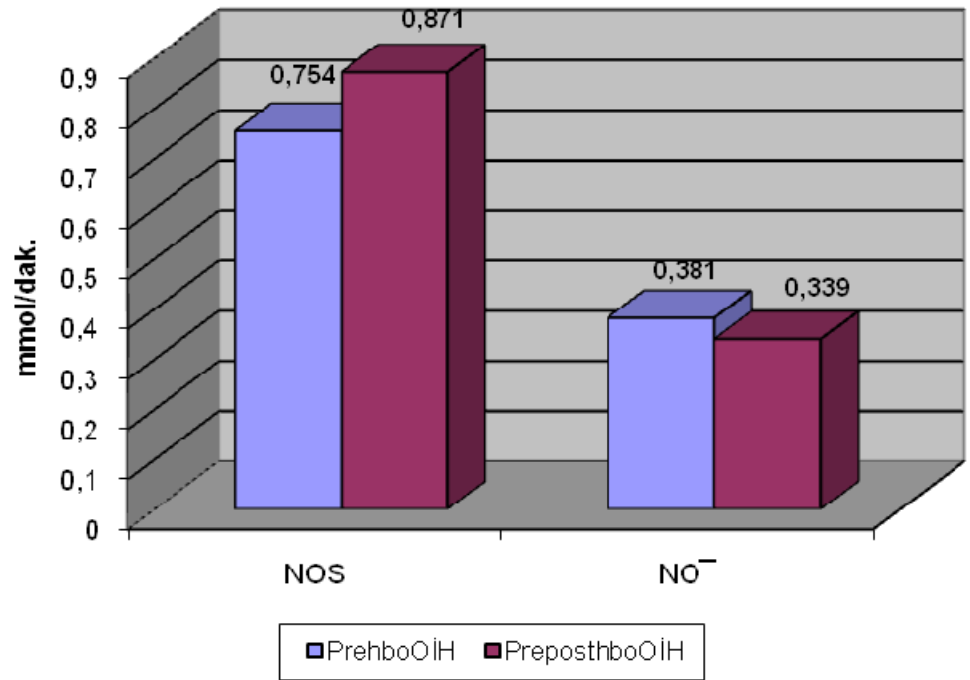
**Tablo 12:** Ameliyat öncesi HBO’lu OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO’lu OİH

|                                          | Prehbo OİH        | Preposthbo OİH     | p             |
|------------------------------------------|-------------------|--------------------|---------------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                    | <b>0,006*</b> |
| Ortalama(±SS)                            | 44,649 (±5,213)   | 19,280 (±3,411)    |               |
| Minimum / Maximum                        | 37,211 / 50,965   | 16,046 / 24,685    |               |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                    | 0,117         |
| Ortalama(±SS)                            | 354,550 (±47,833) | 305,874 (± 29,328) |               |
| Minimum / Maximum                        | 299,737 / 423,245 | 270,014 / 339,193  |               |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                   |                    | 0,715         |
| Ortalama(±SS)                            | 11,777 (±3,820)   | 10,324 (±2,162)    |               |
| Minimum / Maximum                        | 7,175 / 18,711    | 7,822 / 12,973     |               |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                   |                    | 0,068         |
| Ortalama(±SS)                            | 0,754 (±0,088)    | 0,871 (±0,147)     |               |
| Minimum / Maximum                        | 0,587 / 0,847     | 0,617 / 0,982      |               |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                   |                    | 0,715         |
| Ortalama(±SS)                            | 0,381(±0,102)     | 0,339 (±0,073)     |               |
| Minimum / Maximum                        | 0,236 / 0,485     | 0,313 / 0,489      |               |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı Mann Whitney u test



**Grafik 11:** Ameliyat öncesi HBO'lu OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO'lu OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz

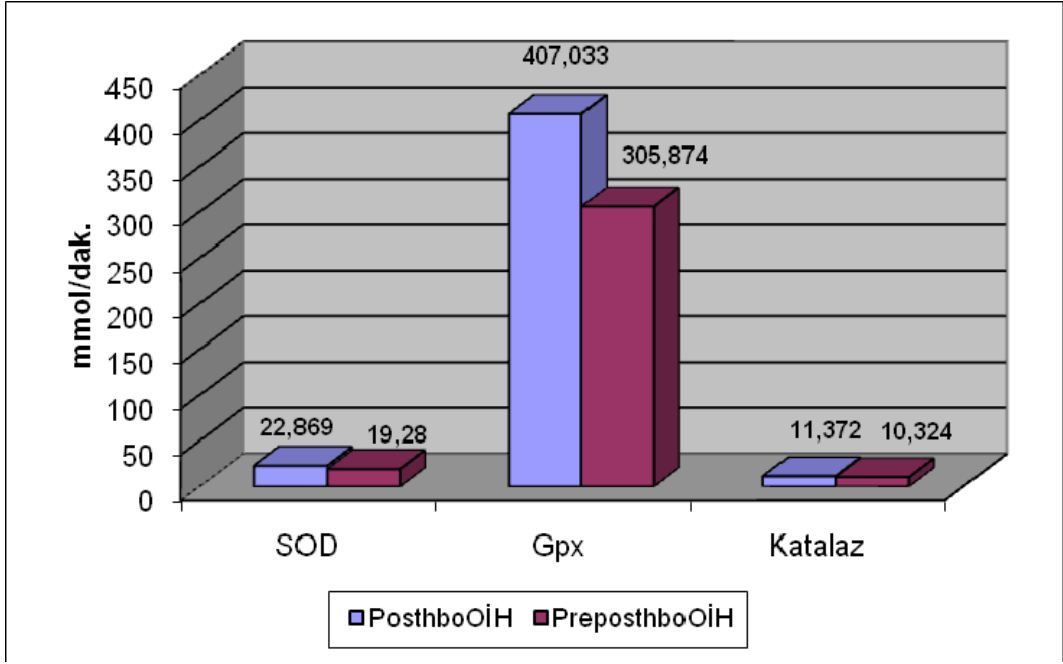


**Grafik 12:** Ameliyat öncesi HBO'lu OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO'lu OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>

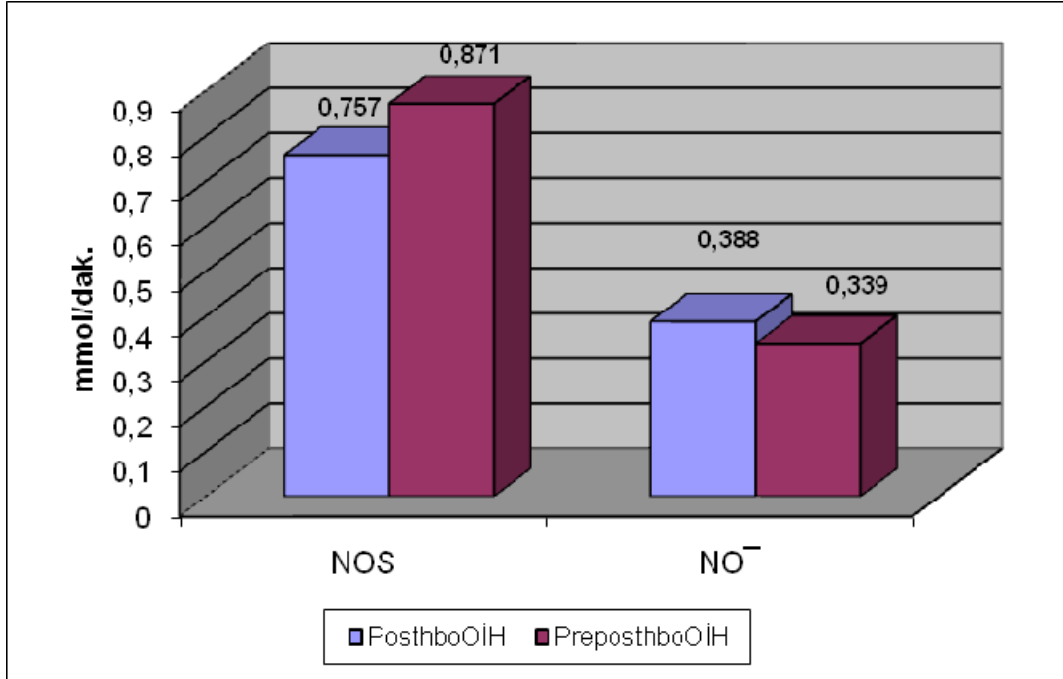
**Tablo 13:** Ameliyat sonrası HBO’lu OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO’lu OİH

|                                          | Posthbo OİH       | Preposthbo OİH    | p             |
|------------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| <b><u>SOD (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,144         |
| Ortalama (±SS)                           | 22,869 (±4,332)   | 19,280 (±3,411)   |               |
| Minimum / Maximum                        | 16,668/28,483     | 16,046 / 24,685   |               |
| <b><u>Gpx (Ü/mg protein)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | <b>0,018*</b> |
| Ortalama (±SS)                           | 407,033 (±81,956) | 305,874 (±29,328) |               |
| Minimum / Maximum                        | 325,870 / 514,495 | 270,014 / 339,193 |               |
| <b><u>Katalaz (AebiÜ/mg protein)</u></b> |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,715         |
| Ortalama (±SS)                           | 11,372 (± 3,807)  | 10,324 (±2,162)   |               |
| Minimum / Maximum                        | 7,535 / 17,924    | 7,822 / 12,973    |               |
| <b><u>NOS (nmol/ml/dak.)</u></b>         |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,273         |
| Ortalama (±SS)                           | 0,757 (± 0,148)   | 0,871 (±0,147)    |               |
| Minimum / Maximum                        | 0,538 / 0,991     | 0,617 / 0,982     |               |
| <b><u>NO<sup>-</sup> (mmol/mg)</u></b>   |                   |                   |               |
|                                          |                   |                   | 0,855         |
| Ortalama (±SS)                           | 0,388 (±0,050)    | 0,339 (±0,073)    |               |
| Minimum / Maximum                        | 0,327 / 0,470     | 0,313 / 0,489     |               |

\* p < 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı    Mann Whitney u test



**Grafik 13:** Ameliyat sonrası HBO'lu OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO'lu OİH gruplarında SOD, Gpx ve Katalaz



**Grafik 14:** Ameliyat sonrası HBO'lu OİH – Ameliyat önce ve sonrası HBO'lu OİH gruplarında NOS ve NO<sup>-</sup>



### FONKSİYONEL DEĞERLENDİRME: BBB (Basso-Beattie-Bresnahan)

lokomotor skalasına göre her sıçan hergün ve günde en az 3 dakika yürüme ve hareket analizi yapılarak sıçanların sakrifikasyonundan önce elde ettikleri en yüksek değerleri not edilerek değerlendirilmiştir.

**Tablo 14:** BBB skortlama sonucu gruplarda elde edilen değerler

| Grup     | Laminektomi | OİH | PrehboOİH | PosthboOİH | PreposthboOİH |
|----------|-------------|-----|-----------|------------|---------------|
| BBB Skor | 21.0        | 0.0 | 0.0       | 4.0        | 3.0           |
|          | 21.0        | 1.0 | 1.0       | 3.0        | 3.0           |
|          | 21.0        | 0.0 | 0.0       | 4.0        | 3.0           |
|          | 21.0        | 0.0 | 0.0       | 3.0        | 4.0           |
|          | 21.0        | 0.0 | 0.0       | 3.0        | 3.0           |
|          | 21.0        | 1.0 | 1.0       | 4.0        | 3.0           |

**Tablo 15:** BBB Skorları

|                | Ortalama ( $\pm$ SS) | Min.  | Max.  | p                  |
|----------------|----------------------|-------|-------|--------------------|
| Laminektomi    | 21,00 ( $\pm$ 0,0)   | 21,00 | 21,00 | 0,002 <sup>o</sup> |
| OİH            | 0,333 ( $\pm$ 0,516) | 0,000 | 1,000 | 1,000 <sup>1</sup> |
| Prehbo OİH     | 0,333 ( $\pm$ 0,516) | 0,000 | 1,000 | 0,003 <sup>2</sup> |
| Posthbo OİH    | 3,500 ( $\pm$ 0,547) | 3,000 | 4,000 | 0,002 <sup>3</sup> |
| Preposthbo OİH | 3,166 ( $\pm$ 0,408) | 3,000 | 4,000 | 0,241 ¶            |

Kruskal Walllis test (tüm gruplarda) (p =0,001 ve p<0,05)

<sup>o</sup> Laminektomi ile OİH p < 0,05

<sup>1</sup> OİH ile PrehboOİH p>0,05

<sup>2</sup> OİH ile PosthboOİH p< 0,05

<sup>3</sup> OİH ile PreposthboOİH p<0,05

¶ PosthboOİH ile PreposthboOİH p>0,05

## TARTIŞMA

Son yıllarda omurga biyomekaniği ve cerrahi teknikler üzerinde artan deneyimler ve rehabilitasyon konusundaki gelişmelere rağmen medulla spinalis yaralanmalarında nörolojik iyileşmede belirgin bir başarı sağlanamamaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalarda, spinal travmaların erken döneminde değişik tedavi yöntemleri uygulanarak oluşan ödem, iskemi ve doku harabiyeti önlenmeye çalışılmaktadır. Spinal kord travmatik hasarlanmaları tipik olarak aksonal hasar ve hücre ölümü sonucu oluşan, değişik düzeylerde işlev kayıplarını içerir(68).

Spinal kord yaralanmalarında hasar oluşumu iki patofizyolojik yol ile tanımlanır. Birincil hasarlanma, yaralanma sırasında kord bütünlüğünün mekanik nedenlere bağlı olarak bozulması sonucu oluşur. Birincil hasar nöronal ve vasküler mekanik hasar yaratır(69). İkincil hasarlanma geç dönemde, hücresel ve biyokimyasal süreçlere bağlı olarak hücre ölümü ve doku hasarı sonucu oluşur. İkincil hasar patofizyolojisi, serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu, eikosanoid ve prostoglandin oluşumu, proteaz aktivasyonu, glutamat gibi eksitotoksik molekülleri ve intrasellüler kalsiyum artışını içerir(68). Kısaca, ikincil yaralanma mekanizmaları hemoraji, mikrosirkülasyon kaybı, iskemi, intraselüler ATP üretiminde azalma, laktik asidoz, kalsiyum iyonu akışı artışı, ekstraselüler potasyumda artış, serbest oksijen radikallerinin üretimi artışı, yağ peroksidasyonu yoluyla membran hidrolizi, prostoglandin ve lökotrien jenerasyonu ve ödem oluşumu dahil olmak üzere hem vasküler hem de nöronal hasarları kapsar. Bunlar arasında lipid peroksidasyonunun akut yaralanmanın ardından ortaya çıkan ana ikincil mekanizma olduğu düşünülmektedir (70). Nöroprotektif strateji ikincil hasarlanma ile oluşan etkilerden korunmayı, dokuların ve işlevsel kapasitenin kaybının önlenmesini amaçlar(68).

Akut OİH tedavisi konusunda ciddi ölçüde karmaşa ve tartışma yaşanmaktadır. Son yirmi yıl içerisinde, ‘standart’ tedavi protokolünü belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır. Metilprednizolon, gangliosidler, nalokson, trilazad mezilat, nimopidin, ginkgo biloba, aktifleştirilmiş protein C, tirotropin salan hormon, prostasiklin, Vitamin E, siklohemiksid ve gabeksat mezilat dahil olmak üzere çeşitli ajanların tedavi edici etkisi hem klinik, hem de deneysel çalışmalarla incelenmiştir.

Bu ajanlar arasında, akut OİH sonrasında metilprednizolon infüzyonu kullanımı temel olarak Ulusal Akut Omurilik Yaralanması çalışmaları'nın [NASCIS I, II, III] sonuçlarının ardından yaygın olarak kabul görmüştür. NASCIS çalışmaları, yüksek metilprednizolon dozlarının yaralanmayı izleyen ilk 8 saat içerisinde verildiği takdirde nörolojik iyileşmeyi desteklediğini doğrulamıştır. Şimdiye kadar, metilprednizolonun OİH kapsamındaki koruyucu etkisi, metilprednizolonun lipid peroksitlerini engelleyerek membran kırılmasını bastırmasıyla açıklanmıştır(70).

Hiperbarik oksijenin biyolojik etkisi, dolaşımdaki plazmanın tedavi sırasında ve hemen sonrasında çözülmüş oksijene aşırı doygun hale getirilmesidir. Bu şekilde dolaşım ile oksijenin interstisyum ve dokular içerisine ulaşmasını sağlayan çevresel dokular arasındaki difüzyon gradientinin geçici olarak artmasının sağlanmasıyla HBO'nun etkisi ortaya çıkar. Oksijen ulaşımının veya oksijen metabolizmasının hasar gördüğü klinik koşullarda, hiperbarik oksijen tıbbi ve cerrahi bakımda tedavi olarak kullanılmaktadır. HBO dokunun oksijen düzeylerinin 10-15 kat arttırarak, doku hasarının iyileşmesini sağlar, ödemi azaltır ve kapiller anjiyogenezi destekler. Rölatif hipoksi süreleriyle gerçekleştirilen değişimli HBO tedavileri, doku iyileşmesini ve onarımını sağlamak üzere gerek duyulan sürekli anjiyogenezi, fibroblastik proliferasyonu, kollajen oluşumunu ve lökosit aktivasyonunu desteklemek için gerekli olan oksijen gradientlerini temin eder.(69) Kontüzyona bağlı ödem nedeniyle spinal kan akımının engellenmesi , hipoksi ve buna bağlı medulla spinalis ödemi kısır döngü oluşturarak paralizi gelişmesinde önemli rol oynar(59). HBO tedavisi destekleyici nörovasküler yatağa, gereksinim gösterdiği DNA'nın yeniden yapılandırılması için kullanılacak deneysel kök hücre implant prosedürleri ve teknikleri için fertil bir nörovasküler platform sağlar(71).

Torakal omurilikte kontrollü kontüzyon sergileyen koyunların kullanıldığı bir çalışmada, HBO tedavisi motor iyileşmesinin hızını ve kuvvetini arttırmış ve omurilik dejenerasyonunun şiddetini azaltmıştır. Bu bulgu, iskeminin omurilikteki kontüzyon yaralanmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Omurilik yaralanması sergileyen koyunları ele alan başka bir çalışmada, HBO tedavisi yaralanma sonrasında parapleji başlangıcını geciktirmek üzere uygulanmıştır. Bu ön raporun sonuçları, yaralanmayı izleyen 2 saat içerisinde uygulanan erken tedavinin motor iyileşmesini geliştirebileceğini göstermektedir.(72)

Deneysel alerjik ensefalomiyelitin kobaylarda oluşturulduğu bir hayvan çalışmasında, hastalığın oluşturulmasından 5 ila 19 gün sonra HBO tedavisi alan hayvanlar, hastalığın klinik işaretlerini bu tedaviyi almayanlara göre 4 ila 6 gün sonra göstermeye başlamış ve 4 ila 5 gün daha fazla hayatta kalmıştır. 10 hastadan oluşan bir çalışmanın sonuçları, yaralı omurilik dokusunun basınç altındaki oksijenle desteklenmesinin, motor gücü veya duyusunda herhangi bir kayıp olmaksızın, sinir işlevini geliştirebildiğini göstermektedir (72).

Maeda spinal kord yaralanmalı hayvan deneyinde; spinal kord yaralanması oluşturulmuş köpeklerde, mevcut yaralanmaya bağlı hipoksi meydana geldiğini söylemiştir. Bu çalışmasında 2 ATA'da uyguladığı HBO tedavisi spinal kord doku pO<sub>2</sub> seviyesinde dramatik artışa neden olmuştur (71).

Hartzog spinal kord yaralanmalı babunlarda yaralanmanın ilk 24 saatinde 3 ATA'da %100 oksijen tedavisiyle yaralanmada geri dönüş tespit etmiştir. Yeo spinal kord yaralanması oluşturulmuş koyunlarda önemli bir iyileşme gözlemiştir. HBO tedavisini yaralanmanın olduğu ilk saatlerde ve 3 ATA basınçta uygulamıştır. Takip eden 8 haftada motor fonksiyon geri dönüşü izlenmiştir(71). Yeo daha sonra HBO tedavisiyle artırılmış olan kan akımının yaralarını; kistik kord doku nekrozu ve çevreleyen beyaz maddenin dejenerasyonunun gerilemesini, kontrol çalışma grubundaki ile karşılaştırarak kanıtlamıştır. Higgins impakte yaralanmalara bağlı olarak gelişen kord hasarlarında spinal kord elektro potansiyellerini araştırmıştır. HBO tedavisi uygulanmış olan grupta nöronal fonksiyonlarda yararlı etkiler gözlemiştir. Higgins HBO tedavisinin HBO tedavisi eğer yaralanmadan sonra erken dönemde uygulanırsa posttravmatik spinal kord hasarlarında ilerleyici dejenerasyonun önlenmesine katkıları olduğunu yorumlamıştır(71).

Hipoksinin aktive ettiği bir transkripsiyon faktörü olan, global iskemi ve hipotansiyondan sonra ortaya çıkan, Apoptozisten sorumlu olan hypoxia-inducible factor 1 alfa (HIF-1alfa) ekspresyonunun HBO tedavisi ile baskılandığı, apoptozisin belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır (59). Wang ve ark. HBO'nun iskemiye bağlı sıçan medulla spinalisinde apoptozisi azalttığını göstermişlerdir.(73)

HBO tedavisinin omurilik yaralanması sonrasında nörolojik iyileşmeyi desteklediği ve akut omurilik yaralanmasının ilk tedavi süresini yaralanmadan sonra 6 saate çıkardığı bildirilmiştir. Bu durumlarda, çoklu HBO tedavileri tekli seanslara

göre daha etkilidir. Deneysel bir motor nöron hastalığı modelinde, HBO tedavisi motor korteksi ile omurilikteki mitokondriyal disfonksiyonu büyük ölçüde hafifletmiş ve hastalık başlangıcını geciktirmiştir.(72)

Spinal sinir iyileşmesiyle ilgili yeni araştırmalar yapılmaktadır. Örneğin inkomplet veya parsiyel iyileşmesi olan spinal kord yaralanmalarında mevcut gap'in kapatılmasında omentum transpozisyonu denenmiştir. Omentum sinir hücreleri arasında impulsların iletilmesini sağlayan nörotransmitter adlı kimyasallar ile nörovasküler faktörler açısından zengin bir kaynaktır. Cerrahlar omentumun abdomene bağlı kaldığı halde hasarlı korda entegrasyonu için teknikler geliştirmektedirler. Bu köprüleme tekniği İnme, beyin hasarları ve dejeneratif üst motor nöron hastalıklarında embriyonik kök hücre transferlerine adapte edilmiştir. Neubauer çalışmasında omentum transpozisyonu ve ilişkili hücre transplant prosedürleri uygulanan hastalarda HBO tedavisinin iyileşmeye etkisinin önemli olduğunu vurgulamıştır.(71)

Bir sıçan modelinde, HBO tedavisinin omurilik yaralanmasındaki etkisini değerlendirmek üzere manyetik rezonans görüntüleme yöntemi kullanılmıştır. 72 saatlik bir tedavi süresinde, HBO tedavisi nörolojik iyileşmeye katkıda bulunmuş ve hemorajinin yayılımının durdurulmasında ve ödemin çözülmesinde etkili olmuştur. Bu sonuçlar ışığında, Noori ve ark'ı HBO uygulamasının omurilikte vasküler hasar sergileyen hastaların tedavisinde bir tedavi olarak tavsiye edilebilir demişlerdir(72). Deneysel düzeyde yapılan çalışmalarda Demir şelatörü olan Desferoksamin verilerek spinal sinir yaralanmasında etkisi araştırılmaktadır. Buradaki ana fikir iskemiye sekonder dokuda meydana gelen hücre yıkımı ve kanama sonrası ortamda oluşan demirin serbest oksijen radikallerinin oluşumunu artırmasıdır. Demir  $H_2O^2$  ile tepkimeye girerek  $OH^-$  radikalının oluşuma neden olur. HBO tedavisinin Noori ve ark.'nın belirttiği gibi kanamayı azaltması, ortamdaki demiri azaltarak serbest radikal oluşumunu azaltacaktır. Yapılan çalışmada da HBO gören  $OIH$ 'lı grupların hepsinde kontrol  $OIH$ 'lı gruba göre oluşan serbest radikal miktarı daha az görülmüştür.

Spinal kord hasarına HBO'nun yararı sadece sinir iyileşmesi yönünde değildir. Hart ve Strauss'un yaptığı çalışmada, spinal kord hasarlı hastalardaki HBO tedavisi egzersiz kapasitesinde artışa neden olmuştur. Spinal kord hasarlı hastalarda azalmış akciğer vital kapasitesi nedeniyle egzersizi kısıtlayan ve zayıflığa yol açan

laktat, piruvat ve amonyak artışları görülür. Hart ve Strauss'un yaptıkları bu çalışmada vital kapasitesi 2.38 lt olan 22 quadrolejik hasta ile aynı yaş grubunda vital kapasitesi 5.10 lt olan sağlıklı insanlarda HBO'nun etkilerini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak HBO tedavisi doku oksijenizasyonunu arttırarak vital akciğer kapasitesini arttırmaktadır.(71) Spinal sinir yaralanması sonrası hastaların çoğunun paraplejik olduğunu ve rehabilitasyon ihtiyaçlarını düşününecek olursak HBO uygulamasının yararı görülmektedir. Yapılan çalışmada da HBO gören grupların BBB skorlamasına göre fonksiyonel sonuçlarındaki düzelme, HBO uygulaması görmeyenlere göre anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Bu çalışmada Laminektomi ile omurilik hasarı uygulanan gruplar karşılaştırıldığında OİH'lı grupta SOD ve GPx düzeylerinde anlamlı artma( $p<0,05$ ), NOS ve NO düzeylerinde anlamlı azalma saptandı( $p<0,05$ ). Katalaz düzeylerinde ise anlamlı bir fark saptanmadı( $p>0,05$ ). SOD enzimi en fazla mitokondri membranı üzerinde bulunur ve iskemiye duyarlıdır. İskemiye ikincil doku harabiyeti SOD düzeylerini hızlıca arttırarak oluşan  $O^2$  radikalini yıkar.Yapılan çalışmada da OİH'lı grupta SOD düzeylerindeki anlamlı artış, yapılan travmanın yeterli olduğunu göstermiştir. Oluşan  $O^2$  radikali SOD enzimi ile  $H^2O^2$  yıkılmalıdır. Bu yıkım yeterince hızlı gerçekleşmezse özellikle yağ dokusunda, (sinir hücresi örneğin) en tehlikeli serbest radikal olan  $OH^-$  radikaline dönüşür ve hücre harabiyetini arttırır, veya oluşan  $O^2$  radikali azot ile tepkimeye girerek serbest azot radikallerine neden olur.( $NOO^-$ ) Oluşan  $H^2O^2$ daha sonra GPx veya aynı substratı kullanan Katalaz enzimi ile  $H^2O$ 'ya yıkılır. SOD değerlerine benzer şekilde GPx değerlerinde de anlamlı artış görülmüş olup bu durumda travmanın serbest radikal oluşumunu arttırdığını göstermiştir. Aynı durum NO ve NOS değerlerinde de travmanın kontrol grubuna göre anlamlı enzim değişikliği yarattığını göstermiştir. Katalaz, GPx gibi substrat olarak  $H^2O^2$  kullanır, yalnız etkisi için daha yüksek substrat konsantrasyonuna ihtiyaç duyar. Bu çalışmada GPx'de anlamlı yükseliş olup katalazda olmamasının nedeni olarak, katalaz'ın substrat afinitesinin azlığı düşünüldü.

Noori ve ark.'nın yaptıkları çalışmada hiperbarik oksijen uygulamasının, travmatik omurilik yaralanmasının erken evrelerinde, omuriliğin uzun traktlarında ciddi yaralanma sergileyen nöronal unsurların muhafaza edilmesine yardımcı

olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, HBO seansları sırasında 8 hastada ölçülen arterial ve serebrospinal sıvı PO<sub>2</sub> düzeyleri tedavi sırasında büyük artış göstermiştir. Serebral spinal sıvı PO<sub>2</sub> düzeyinin yüksek olması, omurilik dokusunun oksijenasyonunun peroksit tedavi sırasında arttığının bir göstergesi olabilir demişlerdir. Bu koruma etkisinin, fokal doku hipoksisinin ortadan kaldırılması ya da doku ödeminin azaltılması ile bağlantılı olabileceğini belirtmişlerdir (72). Bu çalışmada da OİH'lı grup ile ameliyat sonrası 7 gün HBO tedavisi gören OİH'lı grup karşılaştırıldığında SOD düzeylerinde anlamlı bir azalma( $p<0,05$ ), NOS ve NO düzeylerinde anlamlı bir artma( $p<0,05$ ) saptandı. Bu değerler HBO uygulamasının serbest oksijen radikallerinin oluşumunu anlamlı bir şekilde azalttığını göstermiştir. Noori ve ark'nın bahsettiği ödemi azaltıcı etkisi, HBO'nun yapılan çalışmada serbest radikalleri azaltıcı etkisinin bir yolunu açıklamaktadır.

HBO tedavisinin terapötik aralığı ile ilgili literatürde birçok yayın vardır. Huang, iskemik hasardan 30 dakika sonra başlatılan HBO tedavisinin, tavşanlardaki iskemik omurilik hasarı karşısında koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. Fakat bununla birlikte, iskemik hasardan 6 saat sonra gibi gecikmeli HBO tedavisi, prognozu değiştirmemiştir.(74) Huang ve ark. iskemik travmadan sonra 3 saat'e kadarki tek doz HBO'nun veya 6.cı saat'e kadarki seri HBO uygulamalarının morfolojik ve nörolojik iyileşmeyi geliştirdiği, ancak 6.cı saatte başlayan tek doz veya 24.cü saatte başlayan seri HBO uygulamalarının etkili olmadığını göstermişlerdir.(74) Bu çalışmadaki OİH'lı grup ile OİH öncesi ve sonrası HBO uygulaması gören gruplar karşılaştırıldığında SOD ve GPx düzeylerinde anlamlı azalma( $p<0,05$ ), NOS ve NO düzeylerinde anlamlı artma ( $p<0,05$ ) bulguları elde edildi. Enzim düzeylerindeki azalma ve daha az HBO uygulaması gören gruplarda görmediğimiz GPx düzeylerinde ameliyat öncesi ve sonrası HBO uygulaması gören gruptaki anlamlı azalma HBO uygulamasının süresi arttıkça etkinliğinin arttığını ve uzun süreli uygulamaların daha etkili olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca bu sonuç Huang ve ark'nın yaptığı HBO'nun terapötik aralığı ile ilgili sonuçla uyumludur.

Bu çalışmada ameliyat öncesi HBO gören OİH'lı grup ile ameliyat sonrası HBO gören OİH'lı grup karşılaştırıldığında ameliyat sonrası HBO gören OİH'lı grupta SOD düzeylerinde anlamlı bir azalma ( $p<0,05$ ) görüldü. Diğer parametrelerde anlamlı bir fark görülmedi. SOD düzeylerindeki bu azalma ameliyat sonrası HBO

uygulamasının, ameliyat öncesinden daha etkili olduğunu göstermiştir. Kaldiki ameliyat öncesi HBO gören OİH'lı grup dahi kontrol grubuna göre daha etkili saptanmıştı. Görüldüğü üzere ameliyat sonrası HBO'nun etkisi katlanarak artmaktadır. HBO uygulaması özellikle hipoksi koşullarında daha etkili olmaktadır.

Çalışmadaki ameliyat öncesi HBO gören OİH'lı grup ile, hem ameliyat öncesi hem de ameliyat sonrası HBO gören OİH'lı grup karşılaştırıldığında SOD düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü. ( $p < 0,05$ ) Bu durum beklendiği gibi travma sonrası ve çoklu seanslar şeklinde uygulanan HBO'nun daha etkin olduğunu göstermektedir.

Çalışmada ameliyat sonrası HBO gören OİH'lı grup ile hem ameliyat öncesi hem de ameliyat sonrası HBO gören OİH'lı grup karşılaştırıldığında, ameliyat öncesi ve sonrası HBO gören OİH'lı grupta GPx düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu. ( $P < 0,05$ ) GPx düzeylerinin HBO görme süresi uzadıkça azalması HBO'nun oluşan  $O^2$  radikallerinin  $H_2O_2$  dönüşmeden başka bir yolla elimine edilmesine aracılık ettiğini düşündürmektedir. Diğer parametrelerde anlamlı fark olmaması HBO'nun travma öncesi uygulanmasının yararlı ama beklentileri karşılamaktan uzak olduğunu göstermektedir.

SOD ve GPx hücrenin reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı savunması açısından kritik enzimler arasındadır. Yüksek metabolik aktivite sırasında, ROS üretimi bu antioksidanların lokal nötralizasyon kapasitesini aşarak, ROS akümülyasyonuna neden olabilir.(69) Tipik konsantrasyonlardan fazla  $O^2$  inhalasyonu, birçok hücre türünde ROS jenerasyonunu teşvik eder.  $O^2$  ve  $H^2O^2$ , HBO'nun etkisini ortaya koyması için en çok kullanılan reaktif moleküllerdir. HBO, çok ilginç bir tedavi yöntemidir, çünkü kendi başına oksidatif stres ürettiği ama patolojik koşullarda kullanıldığında oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir(69). Kahraman ve ark.'nın belirttiği HBO'nun ROS oluşumuna neden olmasına, yapılan çalışmada rastlanmamıştır. Yapılan çalışmada herhangi bir travması olmadan ameliyat öncesi 5 gün HBO verdikten sonra OİH yapılp ertesi gün sakrifiye edilen grup ile OİH'lı grup karşılaştırıldığında; NOS ve NO düzeylerinde ameliyat öncesi HBO verilen grupta anlamlı bir artma saptandı. ( $p < 0,05$ ). Bu durum ameliyat öncesi HBO'nunda sinir iyileşmesinde etkili olduğunu gösterdiği gibi sinir yaralanmasında erken dönemde ilk değişen parametrenin NOS ve NO olduğunu düşündürmüştür.



Kahraman ve ark'nın bahsettikleri ROS artışı muhtemelen tedavi dozunda olmayıp yüksek basınçta uygulanan HBO tedavisi sonucu (4 ATA) oluşuyor olabilir.

Bu çalışmada katalaz enzim düzeylerinde anlamlı bir fark saptanamadı. Bunun nedeni olarak Katalaz enziminin  $H_2O_2$  düzeylerine düşük afinitesi olması nedeniyle oluşan  $H_2O_2$ 'nin öncelikle GPx tarafından yıkılması olabileceği varsayımı ilk akla gelen neden oldu. Ancak yine de spinal korda ait katalaz enzim kinetiğinin ( $H_2O_2$  optimal konsantrasyonu) belirlenmesinden sonra kesin birşey söylemek mümkün olacaktır.

## SONUÇ

Literatürde HBO'nun etkileri ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen HBO'nun spinal sinir yaralanmasında enzim düzeylerine etkisi ile ilgili kısıtlı sayıda yayın vardır. HBO'nun travma öncesi ve sonrası uygulamalarda spinal sinir fonksiyonlarının düzelmesinde etkili olduğu görüldü. Travma sonrası uygulamadaki artmış etkinliği iskemi sonrası HBO uygulamasının antihipoksik etki ile yaralanma sonrası dokunun ihtiyacı olan O<sup>2</sup>'nin plazmada çözünmüş olarak taşınmasını sağlamasındandır. Bu durum iskemi sonrası ATPaz'ın çalışmasının devamını sağlayarak dokunun ihtiyacı olan aerobik metabolizmanın devam etmesini, dokunun enerji ihtiyacını karşılamasına yardımcı olarak, ATPaz bağımlı Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> ve K<sup>+</sup> kanallarının gradientinin korunması yoluyla doku hasarını azalttı. Apoptozis ve DNA hasarını azaltması HBO'nun yapılan çalışmada hasarı azaltan bir diğer yolu olduğu düşünüldü. İskemi sonrası oluşan vazodilatasyon ve kanama, doku harabiyetini arttıran etmenlerdendir. HBO uygulaması iskemi sonrası vazokonstriksiyon ile kanamayı azaltarak kanama sonrası ortamda oluşacak demirin ve buna bağlı olarak serbest radikallerin oluşmasını önleyerek (Haber Weiss reaksiyonu sonucu oluşacak OH<sup>-</sup> radikalini) etkili olmuştur. NO'nun hem oluşmasını önleyerek hem de yarattığı etki olan vazodilatasyonu, vazokonstriktör etki ile düzelterek doku iyileşmesine katkı sağlamaktadır.

Yapılan bu çalışmada katalaz enzim düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Bu durum katalaz enziminin spinal sinir yaralanması sonrası iyileşme takibinde yararlı olmadığını göstermiştir.

HBO'nun spinal sinir yaralanmasında etkili olduğu literatürde ispatlanmış olsa da uygulanacak olan tedavinin ne kadar sürdürülmesi gerektiği konusunda net bir bilgi yoktur. Bundan sonraki çalışmalarda etkisinin kaçınıcı uygulamadan sonra değişmediğine yönelik araştırmalar yapılmasında yarar vardır.

## KAYNAKLAR

1. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O et al: Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord* 38: 697-701, 2000.
2. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 76: 319-370, 1996
3. Rao Muralikrishna Adibhatla, J.F. Hatcher, Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in cerebral ischemia, *Free Radical Biology & Medicine* 40 (2006) 376 – 387
4. 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.
5. 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.
6. Snell RS: Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomik, Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, İstanbul, 2000, s: 157-177.
7. Ohry A, Ohry KK. Spinal cord injuries in the 19th century. *Churchill Livingstone, Edinburg* 1989; 9-35
8. Dohrmann GJ: Experimental spinal cord injury. *Arch Neurol* 27: 468- 473, 1973.
9. Murat Döşoğlu, Talat Kırış, Nail izgi, Ö. Faruk Ünal, Omurilik Travmalarında İkincil hasar mekanizmaları *Turkish Journal of Trauma & Emergency surgery* volüm 4, sayı 3 July 1998
10. Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003; 28(13):1481-1484.
11. Gregory W. J. Hawryluk, James Rowland, Brian K. Kwon, Michael G. Fehlings, Protection and repair of the injured spinal cord: a review of completed, ongoing, and planned clinical trials for acute spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 25 (5):E14, 2008
12. Tator CH: Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*, 75: 15-26, 1991.
13. Kaptanoğlu E, Charles H, Tator CH: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.baskı, Meta basım, Bornova, İzmir, 2002, s: 813-832.

14. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J: Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. Clin. Neuropharmacology, 24 (5): 254-264, 2001.
15. Thomas B. Ducker, Erland Nelson, S. David Gertz, Marshall L. Rennels, Otis R. Blaumanis, Spinal Cord Injury: The Role of Vascular Damage in the Pathogenesis of Central Hemorrhagic Necrosis. Arch Neurol-Vol 34:332-333, June 1977.
16. İplikçioğlu C: Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.Baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 2002, s: 459-465.
17. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. Neurosurgery, 44: 1027-1040, 1999.
18. Istvan Miko, Robert Gould, Scott Wolf, Sherif Afifi, Acute Spinal Cord Injury International anesthesiology Clinics Volume 47, Number 1, 37–54, Lippincott Williams & Wilkins, 2009
19. Brian K. Kwon, Tom R. Oxland, Wolfram Tetzlaff, MD, Animal Models Used in Spinal Cord Regeneration Research; Spine, Volume 27, Number 14, pp 1504–1510
20. Giulian D, Robertson C. Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. Ann Neurol 1990;27:33-42.
21. Faden A, Lemke M, Simon R, Noble L. N-methyl-D-Aspartate antagonist MK-801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: Behavioral, anatomic and neurochemical studies. J Neurotrauma 1988;5:33-45.
22. Fields RD, Yu C, Nelson PG: Calcium network activity, and the role of NMDA channels in synaptic plasticity in vitro. J Neurosci, 11: 134-146 1991.
23. H. Hugenholtz, D.E. Cass, M.F. Dvorak, D.H. Fewer, R.J. Fox, D.M.S. Izukawa, J. Lexchin, S. Tuli, N. Bharatwal, C. Short, High-Dose Methylprednisolone for Acute Closed Spinal Cord Injury – Only a Treatment Option. Can. J. Neurol. Sci. 2002; 29: 227-235
24. Dr.Mustafa B. Çekmen, Dr.Mehmet Turgut, Dr.Yusuf Türköz, Dr.A. Denizmen Aygün, Dr.Engin M. GÖZÜKARA. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'in Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. T Klin Pediatri 2001, 10
25. Yiqin Xiong, Edward D. Hall, Pharmacological evidence for a role of peroxynitrite in the pathophysiology of spinal cord injury. Experimental Neurology 216 (2009) 105–114

26. Aslan Güzel, Mehmet Tatlı, Ali İhsan Ökten, Süleyman Çaylı, Omurilik Yaralanmasının Patoloji ve Fizyopatolojisi, C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 28 (2): 73 – 78, 2006
27. Mc Cord JM, Fridovich I: Superoxide Dismutase, An Enzymic Function For Erythrocuprein. The Journal of Biological Chemistry, 22: 6049-55, 1969.
28. Heffner JE, Repine JE: Pulmonary strategies of antioxidant defense. Rev Respir Dis, 140: 531-554, 1989.
29. Luo J, Uchida K ve Shi R: Accumulation of Acrolein-Protein Adducts after Traumatic Spinal Cord Injury. Neurochemical Research, 30: 291-295, 2005.
30. Cemil Tümer, Dicle Tıp Dergisi (Journal of Medical school) C:29 S: 3 2002
31. Araceli Diaz-Ruiz, Antonio Ibarra, Francisca Perez-Severianoa, Gabriel Guizar-Sahagun, Israel Grijalva, Camilo Rios, Constitutive and inducible nitric oxide synthase activities after spinal cord contusion in rats Neuroscience Letters 319 , 129–132, 2002
32. Sharma H, Badgaiyan RD, Alm P, et al: Neuroprotective effects of nitric oxide synthase inhibitors in spinal cord injury-induced pathophysiology and motor functions. Ann.N.Y.Acad. Sci.1053: 422-434, 2005.
33. Bethea JR, Dietrich WD, Targeting the host inflammatory response in traumatic spinal cord injury. Current opinion in neurology, 15:355-360, 2002
34. Agrawal SK, Nashmi R, Fehlings MG: Role of L-and N-type calcium channels in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. Neuroscience, 99: 179-188, 2000.
35. Zileli M: Omurilik yaralanmasının farmakolojik tedavisi. Omurilik ve Omurga Cerrahisi. Ed. Zileli M, Özer AF, 2. Baskı, Saray Medikal yayıncılık, İzmir, 2002, s: 833- 840.
36. Zekai Seçkin, M. Serdar Alp, Şükrü Akyol. Toygun Orbay, Ömur Ataoğlu, Deneysel spinal kord yaralanmalarında farklı ilaçların etkisi, Türk Nöroşirürji Dergisi 2: 10-13. 1991
37. Agrawal SK, Fehlings MG: Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: Role of Na, Na-K ATPase, the NA-H exchanger and the Na-Ca exchanger. J. Neuroscience, 16 (2): 545-552, 1996.
38. Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Solaroğlu İ, et al: Magnesium sulfate treatment in spinal cord injury: emphasis on vascular changes and early clinical results. Neurosurg. Rev, 26: 283-287, 2003.

39. Randall J. Dumont, Subodh Verma, David O. Okonkwo, R. John Hurlbert, Paul T. Boulos, Dilantha B. Ellegala, Aaron S. Dumont, Acute Spinal Cord Injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy Clinical Neuropharmacology Vol. 24, No. 5, pp. 265–279
40. Benli K, Temel nöroşirurji; Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi.1. Baskı, Ankara: Hacettepe Üni. Hastaneleri Yayınevi, (2004)
41. Luo J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. Spinal cord, 36: 683-690, 1998.
42. Crowe MJ, Breshnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in the rats and monkeys. Nat Med 1997;1:73-76.
43. Li M, Ona VO, Chen M, et al: Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. Neuroscience, 99: 333- 342, 2000.
44. Çakır E, Baykal S, Karahan SC, et al: Acute phase effects of ATP-MgCl<sub>2</sub> on experimental spinal cord injury. Neurosurg. Rev, 26:67-70, 2003.
45. Hwan AH, Yeop BY, Gwang L, et al: Molecular insights of the injured lesions of rat spinal cords: Inflammation, apoptosis and cell survival. BBRC, 384: 560-570, 2006.
46. Dohrmann GJ, Wagner FC, Bucy PC: The Micro Vasculature in Transitory Traumatic Paraplegia. An Electron Microscopic Study in Monkey. J Neurosurg, 35: 263-271, 1971.
47. Hall ED, Wolf DL, Braughle JM, Kia T: Effect of a Single Large Dose of Sodium Methylprednisolone Succinate on Experimental Posttraumatic Spinal Cord Ischemia Dose Response and Time-action Analysis. J Neurosurg, 61: 124-130, 1984.
48. Zhang Z, Guth L: Experimental spinal cord injury: Wallerian degeneration in the dorsal column is followed by revascularization, glial proliferation, and nerve regeneration. Experimental Neurology, 147: 159-171, 1997.
49. Carlos TM, Harlan JM. Leucocyte-endothelial adhesion molecules. Blood 1994;84:2068-2101.
50. Ducker TB, Zeidman SM: Spinal cord injury. Role of steroid therapy. Spine 1994; 19:2281-2287.

51. Hong Xie, James H. Woods, John R. Traynor, Mei-Chuan Ko, The Spinal Antinociceptive Effects of Endomorphins in Rats: Behavioral and G Protein Functional Studies. *Spinal Analgesia of Endomorphins* Vol. 106, No. 6, June 2008.
52. Görgülü A, Kırış T, Ünal F, et al: Superoxide dismutase activity and the effects on NBQX and CPP on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Res Exp Med* 199;285-293, 2000.
53. Faden AI, Simon RP: A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurology*. 23:623-626, 1988.
54. Schwats G, Fehlings M: Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with riluzole. *J Neurosurg (Spine2)*, 94: 245-256, 2001.
55. 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.
56. Erkan Kaptanoglu, İhsan Solaroglu, Ozerk Okutan, H. Selcuk Surucu, Filiz Akbiyik, Etem Beskonakli, Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg Rev* 27:113–120, 2004
57. Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, et al: Effects of EPC-K On lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine*, 25(1): 24-29, 2000.
58. Bruce A. Citron, Paul M. Arnold, Cyril Sebastian, Fan Qin, Sundaravalli Malladi, Syed Ameenuddin, Mary E. Landis, Barry W. Festoff, Rapid Upregulation of Caspase-3 in Rat Spinal Cord after Injury: mRNA, Protein, and Cellular Localization Correlates with Apoptotic Cell Death. *Experimental Neurology* 166, 213–226 (2000)
59. Maide Çimşit; *Hiperbarik Tıp*, 1. Baskı Ankara, Eflatun yayınevi 2009
60. Topal Turgut, Korkmaz Ahmet; *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008, 28:206-216
61. BASSO, D. M., M. S. BEATTIE, AND J. C. BRESNAHAN. 1995. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J. Neurotrauma* 12: 1–21.
62. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin-phenol reagent, *J Biol. Chem.*, 193: 265-275.

63. Hamada, Y., Ikata, T., Katoh, S., Tsuchiya, K., Niwa, M., Fukuzawa, K. (1995). Roles of nitric oxide in compression injury of rat spinal cord, *Free Rad. Biol. Med.*, 20: 1-9.
64. Kobzik, L., Reid M.B., Bredt D.S., Stamler J.S. (1994). Nitric oxide in skeletal muscle, *Nature*, 372: 546-8.
65. Rikans, L.E., Hornbrook, K.R. (1997). Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging, *Biochim. Biophys. Acta*, 1362:116-127.
66. Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*, *Methods in Enzymol.*, 105: 121-126.
67. Mohamed,A.E.,Mohamed,A.B.,Farahat, E.S., Elsaid, A.A., Fattah, A.E.(2005). Glutathione peroxidase activity in patients with renal disorders, *Clin.Exp. Nephrol.*,9:127-131
68. Alaeddin Kerimoğlu, Özgül Paşaoğlu, Güngör Kanbak, Volkan Hancı, Filiz Özdemir, Metin Ant Atasoy; Deneysel spinal kord yaralanmasında koenzim Q10'un etkinliği *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2007;13(2):85-93
69. Serdar Kahraman, Bülent Düz, Hakan Kayali, Ahmet Korkmaz, Sükrü Öter, Ahmet Aydın, Ahmet Sayal; Effects of Methylprednisolone and Hyperbaric Oxygen on Oxidative Status after Experimental Spinal Cord Injury: A Comparative Study in Rats *Neurochem Res* (2007) 32:1547–1551
70. Merih İş, Mustafa Onur Ulu, Taner Tanrıverdi, Hakan Yıldız, Fevzullah Akyüz, Aylin Aksoy, Ferruh Gezen, Mustafa Uzan, The Use of Methylprednisolone, Vitamin E and Their Combination in Acute Spinal Cord Injury: An Experimental Study *Turkish Neurosurgery* 2006, Vol: 16, No: 1, 2-8
71. Kenneth P.Stoller, HBOT in spinal cord injury, *Hyperbaric Medical Center of New Mexico*.2007
72. Noori S. Al-Waili, Glenn J. Butler, Jorge Beale, Mahdi S. Abdullah; Hyperbaric Oxygen in the Treatment of Patients With Cerebral Stroke, Brain Trauma, and Neurologic Disease *Advances in Therapy®* Volume 22 No. 6 November/December 2005
73. Liping Wang, Wenxian Li, Zhimin Kang, Yun Liu, Xiaoming Deng, Hengyi Tao, Weigang Xu, Runping Li, Xuejun Sun, John H. Zhang;Hyperbaric Oxygen Preconditioning Attenuates Early Apoptosis after Spinal Cord Ischemia in Rats, *Journal of Neurotrauma* 26: 55–66 (January 2009)
74. Lixin Huang, Maheshkumar P. Mehta, Anil Nanda, John H. Zhang,The role of multiple hyperbaric oxygenation in expanding therapeutic windows after acute spinal cord injury in rats *J Neurosurg (Spine)* 99:198–205, 2003