

T. C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ A. D.

DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA DİLTİAZEMİN
DOKU KALSİYUMU VE HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
ARŞ. GÖR. DR. ERKAN ESKEN

DANIŞMAN
PROF. DR. ERTUĞ ÖZKAL

KONYA 2006

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Spinal kord hasarının fizyopatolojisi.....	2
2.2. Sistemik etkiler.....	5
2.3. Vasküler etkiler.....	5
2.4. Serbest radikaller.....	6
2.5. Eksitotoksisite.....	8
2.6. Kalsiyuma bağlı sekonder hasar.....	9
2.7. İmmünolojik etkiler.....	12
2.8. Apoptoz.....	13
2.9. Mitokondrilerin sekonder hasardaki etkisi.....	14
2.10. Spinal kord hasarında tedavi yaklaşımları.....	15
2.11. Histopatolojik değişiklikler.....	20
3. MATERYAL VE METOD	23
4. BULGULAR	25
4.1. İstatistiksel çalışmalar.....	25
4.2. Histopatolojik sonuçlar.....	26
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	33
7. ÖZET	34
8. SUMMARY	35
9. KAYNAKLAR	36
10. TEŞEKKÜR	39

KISALTMALAR

AMPA : alfa amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-4-propiyonat

ARC :Apoptosis repressor with card

ASM : antioksidan savunma mekanizmaları

Ca⁺² : kalsiyum

COX-1 : Siklooksijenaz-1

COX-2 : Siklooksijenaz-2

FADD : Fas-associated death domain

FAS :Apoptosis-1,CD95

ICAM-1 : İnterselüler adhezyon molekülü-1

m-RNA : mesenger RNA

NMDA : N-metil-D-aspartat

ROT : reaktif oksijen türleri

SSS : santral sinir sistemi

SEP :Somatosensoriyel evoked potansiyel

SKH : spinal kord hasarı

TNF : Tümör nekrozis faktör

TNFR-1 : TNF receptör-1

TRADD : TNF receptör associated death domain

GİRİŞ

Spinal kord yaralanmaları herhangi bir etkene bağı olarak oluşan ve motor, duyuşal, reflex gibi fonksiyonların tümünü veya bir miktarını azaltan her türlü hasar olarak tanımlanmaktadır. Spinal kord yaralanmaları günümüzde motorlu araçların çoğalması ile gittikçe artan sıklıkta karşımıza çıkmaktadır. Motor kazaları en sık neden iken daha sonra sportif kazalar ve iş kazaları görülmektedir. Spinal kord yaralanmaları kalıcı sekel bırakmaları, uzun süre yatağa bağımlı hale getirmesi sebebi ile ciddi iş ve güç kaybı ve yüksek tedavi maliyetlerine neden olmaktadır. Bu durumun kişisel ve toplumsal bedeli yanında hastanın kendisi ve yakınlarına olumsuz psikososyal etkileride bulunmaktadır.

Spinal kord yaralanmaları patofizyolojisi primer ve sekonder spinal kord hasar mekanizmaları içermektedir. Primer hasara travmanın etkisi ile nöronların ve damarların mekanik zararı yol açar . Yinede spinal kord yaralanmalarında sekonder hasar mekanizmaları omuriliğe daha çok zarar vermektedir. Sekonder hasar mekanizmaları iyileşme sürecini sınırlamakta ve uzun dönemli morbitideyi belirlemektedir. Bu nedenle sekonder hasar mekanizmalarının iyi anlaşılması hedeflenen tedavi girişimlerinin gelişmesini kolaylaştıracaktır (1).

Kalsiyum iyonlarının travma ve iskemi sonrası büyük rol oynadığı anlaşılmıştır. Spinal kord travmasından sonra oluşan sekonder hasar mekanizmalarında ekstraselüler kalsiyumun hücre içine girmesi ve hücre içine kalsiyumun artarak hücre ölümüne kadar giden reaksiyonlar zinciri başlar. Kalsiyum hücre ölümünde son ortak yoldur. Bu çalışmada travma sonrası kalsiyumun hücre içine giriş yollarından en önemli yollardan biri olan L tipi kalsiyum kanallarına, L tipi kalsiyum kanal blokeri olan diltiazemin, etkisi incelendi. Ayrıca kalsiyumun hücre içine girişini engelleyerek, sekonder hasarlardan apoptoz sürecine etkisi ve diğer histopatolojik değişiklikler incelendi. Travma sonrası, travma bölgesine komşu dokulardan kalsiyum göçü ve iskemi-reperfüzyon sonucu bu bölgedeki doku kalsiyum değişikliklerine diltiazemin etkisi araştırıldı.

GENEL BİLGİLER

1. Spinal Kord Hasarının Fیزیopatolojisi

Akut spinal kord hasarının fیزیopatolojisi, primer ve sekonder olarak iki mekanizma ile oluşmaktadır.

1. Primer spinal kord hasarı
2. Sekonder spinal kord hasarı

1. Primer Spinal Kord Hasarı:

Primer spinal kord hasarının 4 karakteristik mekanizması vardır:

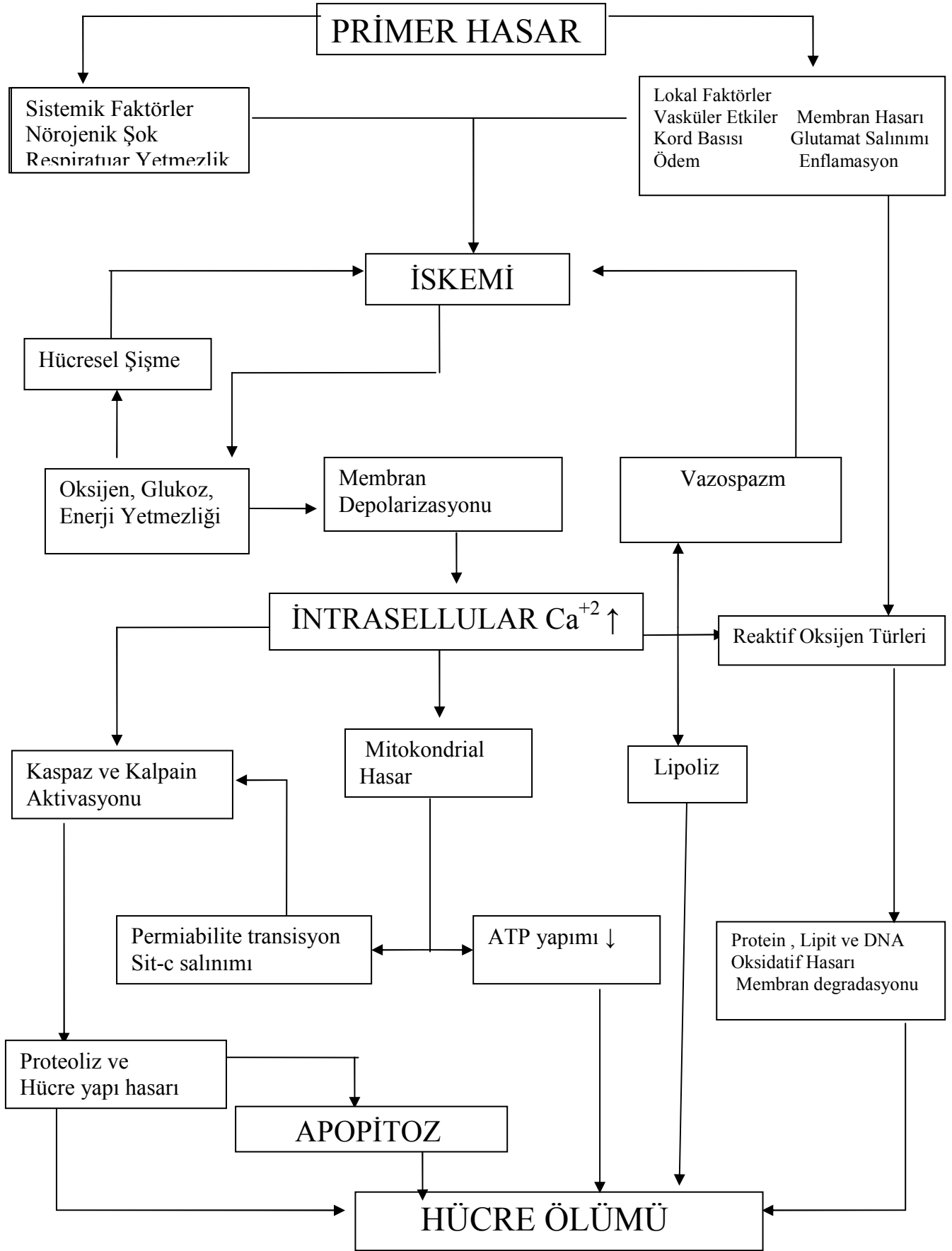
- 1) Kalıcı kompresyonla etki (impact plus persistent compression)
- 2) Geçici kompresyonla etki (impact alone with transient compression)
- 3) Distraksiyon
- 4) Laserasyon/transseksiyon

Primer spinal kord hasarında ilk ve en sık mekanizma "kalıcı kompresyon"la olan etkidir (2, 3). Bu mekanizma disloke kırık, akut disk rüptürü ve kanal içine kaçmış, patlama kırıklarında görülmektedir. İkinci mekanizma ise geçici kompresyon etkisiyle oluşur ve genelde dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerdeki hiperekstansiyon travmasında görülmektedir. Distraksiyon, spinal kolonun aksiyal plandaki kuvvetli gerilmesidir ve üçüncü primer hasar mekanizmasını oluşturur. Fleksiyon, ekstansiyon ve rotasyondan kaynaklanan distraksiyonel kuvvetlerin spinal kord ve kan akımında kesilme, gerilme yaratmasından ortaya çıkmaktadır. Bu tip hasar radyolojik anormallik olmadan görülen spinal kord yaralanmalarında özellikle de kırık daksı vertebral korpus, az gelişmiş kas yapısı ve ligaman esnekliği ile buna yatkın olan çocuklarda sık görülür (2, 4). Laserasyon / transseksiyon tipi hasar genelde silahla yaralanma, kesici kemik fragman dislokasyonları veya ciddi distraksiyonda görülmektedir. Laserasyon ufak hasardan tam traksiyona varan değişik derecelerde olabilir.

Primer hasarda ilk mekanik zarar santral gri cevherden başlarken, beyaz cevher nispeten korunmaktadır. Gri cevherin hasar görmeye yatkınlığı daha yumuşak olan yapısına ve daha fazla olan damarlanmasına bağlanmaktadır. Genelde omurilik içindeki kanama arka kısımdan başlar ve ilk mekanik hasardan sonra omurilik içindeki kan akımı kesilir. Omurilik kan akımındaki kesilme hipoksi ve iskemiye bağlı lokal enfarktlerin gelişimine neden olmaktadır. Bu özellikler, daha yüksek metabolik ihtiyaçları nedeni ile gri cevherde hasar verici olmaktadır. Hasar yerinden geçen nöronlar fiziksel olarak kopmuş ve azalmış myelin kalınlığı göstermektedir (5). Sinir iletimi, mikrohemorajiler ve ödeme bağlı olarak hasar yerinin yakınında da bozulabilmektedir (6,7). Gri cevherin hasar sonrası ilk saatte geri dönüşümsüz olarak hasar gördüğü düşünülürken beyaz cevherde bu 72 saatte olmaktadır .

2-Sekonder spinal kord hasarı:

Sekonder spinal kord hasarı, primer mekanik hasardan sonra gelişen ve omuriliğe daha fazla zarar veren hasar tipidir. Bu zararda etkin olan sekonder mekanizmalar; nörojenik şok, kanama ve iskemi-reperfüzyon gibi vasküler etkiler, serbest radikal teorisi, eksitotoksisite, kalsiyuma bağlı sekonder hasar ve sıvı-elektrolit bozuklukları, immunolojik hasar, apoptosis, mitokondrium fonksiyon bozuklukları gibi başlıklar altında özetlenebilir. Sekonder spinal kord hasarına yol açan mekanizmalar algoritm olarak şekil (I) de verilmiştir.



Şekil I: Spinal kord hasarı sonrası primer hasarın sekonder hasarı oluşturması

2.Sistemik Etkiler (Nörojenik Şok):_Medulla spinalis yaralanması nörojenik şoka neden olmaktadır. Bu terimin birkaç tanımı olmakla beraber genelde vazomotor imputların ciddi paralizisine bağlı yetersiz doku perfüzyonu anlamında kullanılmaktadır. Başka bir tanımla arteriol ve venüllere giden vazodilatör ve vazokonstriktör etkilerin dengesinin ciddi bozukluğudur. Nörojenik şok periferik rezistansın düşmesi, düşük kardiak out-put, bradikardi ve hipotansiyon ile karakterizedir. Bu etkiler, düşük sempatik tonus, artmış vagal tonusa bağlı düşük myokard fonksiyonu ve hatta kalbin kendisinde ki sekonder değişiklikler gibi altta yatan anormalliklerle ilişkilendirilmiştir. Nörojenik şokta gelişen sistemik etkenler eğer etkin tedavi edilmezse nöral doku hasarını arttırmaktadır (8).

3. Vasküler Etkiler (Kanama ve İskemi-Reperfüzyon): Vasküler etkiler, hem spinal kord hasarının başında hem de takip eden zamanda ciddi hasar yaratmaktadır. Bu vasküler etkiler hemorajik ve iskemik hasar oluşturmaktadır. Hasarların hem rostral hem de kaudalinde ki alanlarda ilk mekanik travmaya bağlı olarak mikrosirkülasyon, özellikle de venüller ve kapillerlerde hasar görülmektedir. Anterior spinal arter gibi geniş damarlarda bu mekanik zarara bağlı hasarlar daha az görülmektedir (9,10). Kanama veya peteşilere neden olan bu hasar, zaman içerisinde hemorajik nekroza gitmektedir.

Pekçok araştırmada posttravmatik iskeminin mevcudiyeti değişik spinal kord kan akımı ölçme teknikleri ile gösterilmiştir (10). Direkt travmaya bağlı vazospazm ve intravasküler tromboz da posttravmatik iskemiyeye katkıda bulunmaktadır (10). Sonuç olarak medulla spinalis yaralanmasındaki vasküler etki, muhtemelen altta yatan mekanik travma, mikrosirkülasyon kaybı ve otheregülasyonun bozulmasına bağlı olarak kanamaya neden olmaktadır. İskemi ise bu vasküler etkinin bir sonucu olarak tromboz, vazospazm ve mikrosirkülasyon kaybı veya sistemik hipoperfüzyona bağlı düşük kan akımından kaynaklanmaktadır.

İskemideki düşük perfüzyon, reperfüzyon veya hiperemi döneminden önce görülmektedir. Bu olay laktat gibi asidik metabolitlerin birikmesine bağlı olarak perivasküler pH'ın düşüşüne bağlanmıştır . Bu tip reperfüzyon ROT ve diğer toksik yan ürünlerin üretilmesinden kaynaklanan hasar ve hücre ölümünden sorumludur (11, 12). Oksijen kökenli serbest radikaller (superoksit, hidroksil, nitrik oksit ve peroksinitrit gibi diğer yüksek enerjili oksidanlar), en çok erken reperfüzyon döneminde olmak üzere, iskemide üretilirler (13,14). Bu yüksek derecede reaktif oksijen ve nitrojen türleri spinal kord travmasının sekonder hasarını arttıracak şekilde oksidatif stresi çoğaltabilirler.

Bunlar nitrikoksit sentazlar, fosfolipazların kalsiyum ile aktive edilmesi, ksantin oksidaz, enflamatuar hücreler ve Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarını da içeren pekçok sellüler yoldan üretilirler (11). Bu oksidatif stresler nörotravmada olduğu gibi hücrenin koruyucu antioksidan kapasitesi aşıldığında reaktif moleküllerin üretimi, en sonunda proteinler, lipitler ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olmaktadır (11, 14). Daha spesifik olarak bu moleküller, mitokondrial solunum zinciri enzimlerinin inaktivasyonu, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz inaktivasyonu, Na-K ATPaz inhibisyonu, sodyum membran kanallarının inaktivasyonu ve diğer anahtar proteinlerinin oksidatif bozulmalarını, ek olarak lipit peroksidasyonunu ve zararlı etkilerinin başlatılmasını yönetirler.

Spinal kord travmalarına sebep olan diğer patojenik mekanizmalarla, oksidatif stres ortak noktalar taşımaktadır. Bu da kalsiyum fazlalığı, mitokondrial sitokrom c salınımı, kaspaz aktivasyonu, apoptoz ve eksitotoksositeye bağlıdır. Özet olarak reaktif oksijen ve nitrojen moleküllerinin üretilmesi medulla spinalis yaralanmasına katkıda bulunur ve diğer sekonder hasar mekanizmaları ile bağlantılıdır (14).

4. Serbest Radikal Teorisi: ROT, dış yörüngelerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron taşıyan, eşleşmemiş elektronlarından dolayı reaktiviteleri yüksek molekül yada bileşiklerdir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yollar veya dış etkenlerin etkisiyle oluşmaktadırlar. Yaşam süreleri kısa olup, dengesiz yapıları nedeniyle aktif olan ROT organizmada ki tüm hücre bileşenleri ile etkileşime girebilmektedirler. ROT'un oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı anti oksidan savunma mekanizmaları ASM'ları ile bir dengededir. Bu denge bozulursa ROT'ne bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır.

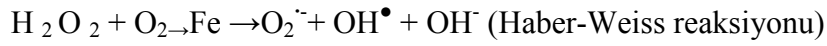
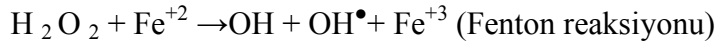
ROT, hidrojen atomu ve oksijen molekülleridir. Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} , Mo^{+5} gibi geçiş metal iyonları eşleşmemiş elektronları olmasına rağmen ROT olarak kabul edilmezler. Bunlar reaksiyonları katalizleyerek ROT oluşumunda rol oynarlar (6).

Aerobik organizmalarda moleküler oksijenin elektron alma eğilimi nedeniyle ROT başlıca oksijenden oluşmaktadırlar. Oksijen hücre içinde çeşitli reaksiyonlar sonucunda su haline dönüşür ve hücre kendisine enerji sağlar. Oksijenin bir kısmı ise suya dönüşemez ve superoksit anyonu ve hidroksil radikalini oluşturur.

Mitokondride elektron transportu superoksit ile yapılmaktadır. Superoksit dismutaz superoksiti hidrojen peroksit (H₂O₂) çevirmektedir. H₂O₂ bir radikal olmamasına karşın radikal oluşumunda öncül bir maddedir. Katalaz enzimi ise H₂O₂'i tekrar su ve oksijene çevirir. Fe⁺² ve diğer katalistler H₂O₂'yi güçlü oksidan olan hidroksil radikaline (HO) çevirirler (Fenton reaksiyonu) .

Bu radikaller lipidlerle, proteinlerle ve nükleik asitlerle reaksiyona girer ve daha çok ROT açığa çıkaran lipidperoksitleri yaparlar (1,11,14,15). Tüm biyolojik membranlar lipid peroksidasyonuna duyarlıdır. Lipid peroksidasyonu, ROT ile başlatılan zar yapısında ki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur ve otokatalitik bir olay olarak devam etmektedir. SSS yüksek oranda poliansatüre yağ asidi içerdiğinden lipid peroksidasyonuna çok duyarlıdır.

Biyolojik sistemlerde ROT, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olmakla beraber, lipid peroksidasyonunda asıl etkili olanın hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir.



Süperoksid ve hidrojen peroksit iskemik dokuda ortaya ilk çıkan reaktif radikallerdir. Bunlar, ancak geçiş metallerinin (Fe⁺² veya Cu⁺²) varlığında bunlarla reaksiyona girerek (Fenton reaksiyonu) peroksidatif hasar oluşumundan sorumlu olan hidroksil radikalini (OH[•]) oluştururlar (6, 16). ROT türleri tablo I de verilmiştir.

Tablo I. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Superoksit	$O_2^{\bullet-}$	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	HO^{\bullet}	Hipoklorid asit	HOCl
Peroksil	ROO^{\bullet}	Ozon	O_3
Alkoksil	RO^{\bullet}	Singlet Oksijen	$^{\bullet}O_2$
Hidroperoksil	HO_2^{\bullet}	Lipid Hidroperoksit	LOOH

5. Eksitotoksisite: Akut medulla spinalis yaralanmasında biyokimyasal bozukluklar ve eşlik eden sıvı-elektrolit bozuklukları önemli bir rol oynamaktadır. Eksituar nörotransmitterlerin salınarak birikip bunların spinal kord dokusuna direkt hasar verdiği hipotezi ileri sürülmüştür. SSS'nin major eksituar nörotransmitteri olan glutamat hasar sonrası çok aşırı salınmaktadır. Bu birikme direkt ve indirekt hasara neden olur (17). Glutamik asit veya onun iyonize şekli olan glutamat sinir uçlarında α -oksooglutarik asit ve glutamin ile bir denge halinde bulunmaktadır. Sinir ucunda, sinaps aralığına salıverilen glutamik asidi içeri pompalayan yüksek afiniteli bir up-take mekanizmasının varlığı gösterilmiştir. Glutamik asit sinir ucunda glutaminaz enziminin yardımıyla glutaminin hidrolizi sonucu oluşmaktadır. Az bir kısmı ise oksoglutaratın oksidasyon ve transaminasyonu ile glukozdan sentez edilmektedir. Sinir ucundan glutamat salınımının kalsiyuma bağımlı olduğu gösterilmiştir. Başlıca glutamat hücre reseptörleri N-metil-D-aspartat (NMDA) ve alfa-amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-4-propionat-kainat (AMPA-kainat) olup, bunların aktivasyonu iskemik hasarın oluşturulmasında kritik role sahiptir (18). Eksitotoksisite nöronal hasara neden olan glutamat reseptör aktivasyonu olarak tanımlanmıştır. Glutamat reseptör aktivasyonu; intrasellüler sodyumun birikimi, sitotoksik ödem ve intrasellüler asidoza neden olup, Na-K ATPaz bozukluğu, sodyum ve suyun daha fazla intrasellüler birikimini ve potasyumun ekstrasellüler kaybını arttırmaktadır (1). Ek olarak intrasellüler kalsiyum birikerek fizyolojide ve takip eden hasarda önemli değişikliklere

neden olmaktadır (19). Aslında intrasellüler kalsiyum birikimi SSS'de toksik hücre ölümünün son ortak yoludur.

Glutamat nörotoksitesi reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunca da yönetilmektedir. Eksitotoksisite; özellikle NMDA reseptörleri tarafından yönetilen, en sonunda nöronal ölüme yol açan, lipid peroksidasyonu, Na-K ATPaz aktivasyon inhibisyonu, membran sodyum kanallarının inaktivasyonu, mitokondri solunum zinciri enzim inhibisyonu, gliseraldehit 3P dehidrogenaz inaktivasyonu ve önemli proteinlerin diğer oksidatif modifikasyonları gibi mekanizmalara neden olan kompleks olayları başlatmaktadır (11).

6. Kalsiyuma Bağlı Sekonder Hasar ve Sıvı-Elektrolit Bozuklukları: Nöron ve kas hücreleri gibi istirahat halindeki uyarılabilir hücreler kalsiyuma karşı geçirgen değildir. Ekstrasellüler 1mM konsantrasyonunda bulunan serbest kalsiyum, istirahat halindeki hücrede intrasellüler olarak 0. 1 μ M konsantrasyonda bulunan serbest kalsiyumun yaklaşık 10 bin katı yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (20).

Ekstrasellüler kalsiyum, membrandaki kalsiyum kanallarının eksitasyon sırasında açılması (aktivasyonu) sonucu, konsantrasyon gradientine uyarak pasif şekilde hücre içine girmektedir. Ayrıca membrandaki Na^+ - Ca^{+2} değiş-tokuş mekanizması da hücre içine kalsiyum girişine ikincil katkıda bulunmaktadır. Hücre içinde aşırı kalsiyum birikmesinin önlenmesi, hücre içi ve dışı arasında ki konsantrasyon gradientinin sürdürülmesi ve hücrenin aşırı kalsiyumun sitotoksik etkisinden korunması esas olarak sarkolemmal (membranal) kalsiyum pompası yani $\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2}$ -ATPaz (kalsiyumu dışarı pompalar) ve endoplazmik (sarkotübüler) kalsiyum pompası tarafından sağlanmaktadır. Hücre içine dışardan giren kalsiyum, sarkoplazmik retikulumda ki depodan ve sitoplazma membranının iç yüzüne bağlı kalsiyum havuzundan kalsiyum salıverilmesine neden olmaktadır.

Intrasellüler kalsiyum dengesi üç sistemle düzenlenir;

1. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları,
2. Reseptör bağımlı kalsiyum kanalları,
3. Intrasellüler ikincil haberciler yoluyla işleyen intrensek mekanizmalar (21).

Nöronlarda dahil değişik bir çok hücreye kalsiyum girişini sağlayan kalsiyum kanallarının iki şekli vardır.

1. Voltaj Bağımlı Kalsiyum Kanalları: Yaklaşık 250 kD molekül ağırlığında ve en az üç alt birimden oluşan bir glikoproteindir. Membranın depolarize olması ile aktive olup, membran boyunca voltaj değişimine yol açarak kalsiyum kanallarının açılıp, ekstrasellüler kalsiyumun içeri girmesine neden olmaktadır. Voltaj bağımlı kanalların kalpte iki (L ve T) ve nöronlarda üç tipi (L, T, N) vardır. L ve N tipi kalsiyum kanalları astrositler ve oligodendrositlerde bulunduğu ve aksonlarda bulunmadığı gösterilmiştir. Bu kanalların alfa 1 subünitlerine göre yapılan klasifikasyona göre P, Q ve R tipleride bulunmaktadır(23). L ve N tipi kalsiyum kanalları Bunlar açık kalma zamanlarına ve diğer elektrofizyolojik özelliklerine göre ayırt edilirler. Bunlardan L tipinin açık kalma süresi en uzun olup (Long), T tipi kısa süre açık kalmaktadır (Transient). Nöronlarda ki N tipi ise, ara tipi (Intermediate) oluşturmaktadır (21). Voltaj bağımlı kanallar hücre membran depolarizasyonu ile aktive olurlar ve sonuçta kalsiyum hücre içine girer. T ve N tipi kanallar, kalsiyum antagonistlerine duyarsız olup, yavaş olan L kanalları kalsiyum antagonistlerince inaktive olarak kalsiyumun nöron içine girmesinde önemli bir yer tutmaktadırlar.

Travmatik spinal kord hasarında sekonder hasarın bir ölçüde voltaj bağımlı kalsiyum kanalları aracılığı ile kalsiyum tarafından oluşturulduğu görülmektedir. Periaksonal astrositler ve oligodendrositlerin posttravmatik aksonal iletim kaybında L ve N tipi kalsiyum kanallarının bir rolü olduğu düşünülmüştür.

2. Reseptör Bağımlı Kalsiyum Kanalları: Bunlar hücre membranında özel bir G proteini aracılığı ile bir reseptöre kenetlenmiş bulunan ve reseptörün kendine uyan agonist madde molekülleri tarafından aktivasyonu sonucu açılan ve özellikle NMDA ile aktive olan kanallardır. Reseptör bağımlı kanallar kalsiyumdan başka sodyumu da geçirirler. Kalsiyum antagonistleri bu tip kanalları voltaja bağımlı olan kanallar kadar güçlü bir şekilde bloke etmezler (21). Voltaj bağımlı kanallar ve reseptör bağımlı kanallar arasındaki ayırım tam belirgin değildir, çünkü voltaj bağımlı kanallar reseptör bağımlı kanal olaylarından etkilendiği gibi reseptör bağımlı kanallar da voltaj bağımlı olaylardan etkilenebilmektedir (23).

Aşırı nöronal kalsiyumun voltaj bağımlı kanallar ile girişi, aminoasitlerce stimüle edilen eksitator reseptör bağımlı kanallar ve non spesifik membran sızıntısı iskeminin yerleşmesinde geridönüşümsüz nöron ölümünün oluşmasında kritik faktörler olabilir . Yüksek intrasellüler kalsiyum konsantrasyonları sekonder hasara değişik mekanizmalarla neden olmaktadır.

Bu mekanizmalardan birisi mitokondnal fonksiyonları etkilemektedir (24). Bu etkileme hasarın başlangıcında hipoksi ve iskemi tarafından zaten bozulmuş olan hücresel solunumu inhibe eder. Artmış intrasellüler kalsiyum ayrıca bir sıra kalsiyuma bağımlı proteazlar ve lipazları (kalpain, fosfolipaz A₂, lipooksijenaz ve siklooksijenaz) stimüle etmektedir. Kalpain aktivitesi, deneysel SKH'da ki lezyonunun etrafında aktive edilmiş glial ve enflamatuvar hücrelerde artmaktadır (25). Kalpainler akson myelin ünitesindeki önemli yapısal proteinler de dahil pek çok önemli yapısal elemanı degrade edebilirler (25). Ayrıca diğer kalsiyuma bağlı proteazlar ve kinazlar hücre membranlarını yıkabilir ve nörofilamanlar gibi hücre strüktürünün belirli yapılarını eritebilirler. Lipaz, lipooksijenaz ve siklooksijenaz aktivasyonu araşidonik asidin belirli tromboksanlar, prostoglandinler ve lökotrienlere dönüşümünü aktive eder ve metabolitlerin artması hasardan sonraki birkaç dakika içinde oluşmaktadır. Ayrıca araşidonik asidin miktarında, Na-K ATPaz inhibisyonu ve doku ödemeine bağlı olarak yaklaşık 24 saat sonra artış olmaktadır. Deneysel SKH sonrası mikroglia/makrofajlar tarafından üretilen siklooksijenaz-1 (COX-1) birikiminde artış olmakta ve endotelyum tarafından oluşturulan COX-1'de yükselme olmaktadır. Araşidonik asidin dönüştürülmesi ile oluşan bu maddeler azalmış olan kan akımını, trombosit agregasyonu ve vazokonstriksiyonu arttırarak daha da azaltmaktadırlar . Bunlar ayrıca enflamatuvar yanıt ve lipid peroksidasyonunu da arttırırlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikallerin üretimine neden olan basit bir siklus oluşturmaktadır. Bu radikaller daha fazla lipid peroksidasyonu ve serbest radikallerin oluşumuna neden olacak şekilde membranlara zarar verirler. Bu siklus, alfa-tokoferol ve süperoksit dismutaz gibi endojen antioksidanlar tarafından durdurulana kadar devam etmektedir.

Siklooksijenaz-2 (COX-2) yakın zamanlarda sekonder hasara katkıda bulunan bir etken olarak çalışılmıştır. COX-2, m-RNA ve protein üretimini, deneysel SKH sonrası uyarmaktadır (26). Ayrıca membran hasarı ve eksitotoksisite de rol alan ortak bir substrat olarak düşünülebilir. Kalsiyumun içeriye girişi membran bağlantılı fosfolipazların aktivasyonu ve araşidonik asit salınımı ile bağlantılıdır. Artmış ekstrasellüler eksituar nörotransmitterler nöronal aktivasyona ve sonuçta kortikal nöronlardaki COX-2 ekspresyonunun uyarımına neden olmaktadır (27). Sonuçta; nöronal ölüm direkt toksisite nedeni ile de oluşabilmektedir. COX-2'nin selektif inhibisyonu, ilk hayvan çalışmalarında spinal kord hasarını azaltmıştır (7, 26).

Artmış ekstrasellüler potasyum, nöronların aşırı depolarizasyonuna ve nöronal iletimin bozulmasına neden olarak spinal şokun altında yatan sebebi oluşturabilir. Diğer bir elektrolit bozukluğu ise magnezyum kaybıdır. Intrasevüller magnezyum kaybı, glikoliz, oksidatif fosforilasyon, protein sentezi ve magnezyumun kofaktör olarak rol aldığı enzimatik reaksiyonların bozulmasına neden olabilir. Magnezyum kaybı, intrasevüller kalsiyum birikimi ve buna bağlı patofizyolojik mekanizmaların artışına neden olmaktadır. Magnezyumun_NMDA reseptörlerini bloke ettiği ve buna bağlı olarak eksitotoksisiteyi azalttığıda düşünülmektedir. Ayrıca magnezyum, endojen opioidlerin bağlanmasını değiştirerek oluşan fizyolojik bozuklukları azaltabilmektedir.

7. İmmünolojik Etkiler: SKH; SSS'de ki bazı hücrelerin aktivitesinde de değişikliklere neden olmaktadır. Bazı glial hücre tipleri pH ve eksituar aminoasitlerin regülasyonu ile hemostazı korumaya çalışmaktadırlar. SKH sonrası bu glial hücrelerce hemostazın düzenlenmesi başari lamayarak, doku asidozu ve eksitotoksik prosese katkıda bulunmaktadır. Diğer glial hücreler nöral büyümeyi etkileyen belli maddeler salgılamaktadır. Bu maddeler arasında nörotrofik büyüme faktörleri ve bu etkiyi durduran inhibitör faktörler vardır (28). Ayrıca SSS hasarı sonrası hücre sel atıkları yok etmekle görevli diğer glial hücrelerin oksidatif ve lizozomal enzimlerinin aktivitesi artarak daha ileri hücre sel hasara neden olabilmektedirler. Spinal kordda travma sonrası bifazik lökosit cevabı vardır. Başlangıçta nötrofil infiltrasyonu ön plandadır. Litik enzimlerin bu lökositlerce salınımı, nöronlar, glia ve kan damarlarında olan hasarı arttırabilir (29). İkinci fazda ise hasar görmüş dokuyu fagosite eden makrofajların toplanması ve göçü vardır.

Immunolojik aktivasyonun ilerleyen doku hasarı veya nöral rejenerasyonu arttırdığına dair bilgi mevcuttur. Halbuki yaralı spinal kord içindeki bazı immun hücrelerin önemi halen tartışma konusudur. Makrofajlar ve mikroglia nöral rejenerasyonun içindeki yapılar olarak düşünülmüştür. Bununla beraber bazıları bu hücrelerin oligodendrosit lizisi ile (TNF- α ve nitrik oksit üretimini içeren bir prosesle) (30) nöral ölüm ve demiyelinizasyonu arttırdığını düşünmüştür. Spinal kordun doğrudan kontüzyonu, SSS myelininin bir bölümüne, bağışıklık sisteminin duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır. Daha önce belirtilen lökosit infiltrasyonunun iki fazının, korunmuş aksonların demiyelinizasyonuna primer hasardan 24 saat sonra başlayan ve sonraki birkaç günde en yükseğe varan miktarda katkıda bulunduğu görülmüştür (29). Bu süreç gri ve beyaz cevherdeki kavitasyon alanlarının oluşumuna yani Wallerian dejenerasyonuna neden olarak, sonuçta yara oluşumuna yol açmaktadır. Yara oluşumu fibroblastlara ek olarak astrositler ve glialar tarafından da yönetilmektedir (29).

Hasar görmüş SSS bölgesine immun hücrelerin toplanması birkaç protein tarafından yönetilmektedir. Bunlardan biri intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1)'dir. ICAM-1, nötrofillerin dokulara infiltrasyonunu arttırarak immun yanıtı aktive etmektedir. SKH sonrası sekonder hasardaki ICAM-1'in rolü, ICAM-1'e karşı spesifik bir monoklonal antikorun myeloperoksidaz aktivitesini azaltması, spinal kord ödemi düşürmesi ve spinal kord kan akımını düzeltmesi ile gösterilmiştir. SKH'de sekonder hasarı tedavi etmedeki faktörler arasında diğer adhezyon moleküllerinden P-selektin ve interlökin-1 β , interlökin6, tümör nekrosis faktörü (TNF) içeren sitokinlerde bulunmaktadır. Bunun yanında interlökin-10'un TNF üretimini azalttığı ve buna bağlı olarak SKH sonrası monosit ve diğer immun hücrelerin inhibe edilmesinde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. SKH sonrasında oluşan immün yanıtın modülasyonu terapötik hedef olarak önemli gözükmektedir (1, 31).

8. Apoptoz: Programlı nöronal hücre ölümü olan apoptoz, son yıllarda SKH'da ve pekçok nörolojik hastalığın patobiyolojisinde gösterilmiştir. Apoptoz, sitokinler, enflamatuar hasar, serbest radikal hasarı ve eksitotoksisite gibi pekçok etken tarafından uyarılabilmektedir. Son zamanlarda ki deneysel çalışmalar (özellikle kaspazların aktivasyonu) apoptozun SKH'da önemli katkısı olduğunu göstermiştir.

SKH'da ki apoptotik olaylar nöronlarda, oligodendrositlerde ve astrositlerde aktive durumdadır. Mikroglialardaki apoptoz enflamatuvar sekonder hasara katkıda bulunmaktadır. Deneysel çalışmalar oligodendrositlerdeki apoptozun hasar sonrası ilk birkaç haftada gelişen demiyelinizasyona katkıda bulunduğunu göstermiştir. SKH sonrası nöronlardaki apoptoz, Fas ligand ve Fas reseptör ve uyarılabilir makrofajlarca nitrikoksit sentaz üretimi gibi ekstresek veya direkt kaspaz-3 proenzim aktivasyonu, mitokondrial hasar, sitokrom c salınımı ve kaspaz-9 aktivasyonu gibi intresek faktörlerce yönetilmektedir(15).

Ekstresek (reseptör bağımlı) ve intresek (reseptörden bağımsız, mitokondrial) apoptoz yolu oldukça iyi ortaya konulmuştur ve her ikisi de SKH'de aktiftir. Reseptör bağımlı apoptoz, en önemlisi TNF olan ekstrasellüler sinyallerle oluşturulur ve ekstresek yol olarak adlandırılmaktadır. TNF'in hasar gören spinal kordta biriktiği ve nöron, mikroglia ve oligodentrositlerin Fas reseptörlerince aktivasyonunun programlı bir kaspaz aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir ki burada kaspaz-8 uyarıcıdır ve kaspaz-3 ve kaspaz-6 ise efektör kaspazdır. Efektör kaspazların aktivasyonu etkilenen hücrelerin yok edilmesine neden olmaktadır. Alternatif bir ekstresek yol uyarıcı ise nitrik oksit sentazın uyarılmasıdır ki bu kaspaz-3 aktivasyonuna neden olmaktadır.

Reseptörden bağımsız yollar ise intrasellüler sinyallerle uyarılır ve bu intresek yol olarak adlandırılmaktadır. Reseptörden bağımsız yolun aktivasyonu SKH sonrası nöronlarda tarif edilmiştir ve yüksek intranöronal kalsiyum konsantrasyonları mitokondrial hasara, sitokrom c salınımına ve alternatif programlı kaspaz aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu sıralamada sitokrom c, apoptoz aktive edici faktör-1 ile kaspaz-9'u aktive eder, kaspaz-9 ekstresek yolda olduğu gibi kaspaz-3 ve kaspaz-6'yı aktive ederek etkilenen nöronun ölümüne neden olmaktadır (1, 32, 33).

9. Mitokondrilerin Sekonder Hasardaki Etkisi: Mitokondriler SKH sonrası görülen hücre ölümünde çeşitli derecelerde rol oynamaktadır. Sağlıklı durumda mitokondriler serebral metabolizma ve hücrel kalsiyum hemostazında kritik bir rol üstlenirler. Mitokondriler oksijenin kullanıldığı pek çok oksidasyon-redüksiyon tepkimelerine ev sahipliği yaparlar ve ROTun primer intrasellüler kaynağıdır(24). SSS travması, mitokondrilerin hücrel solunum ve oksidatif fosforilasyon yeteneklerini bozmaktadır. SSS'de meydana gelen travmatik bir hasar mitokondrial

kalsiyum transportunu inhibe ederek solunuma bağımlı olan kalsiyum alınımı/birikimi'ni bozmaktadır. Buna bağılı olarak intrasellüler kalsiyum hemostazi bozulmaktadır. Ayrıca, hücrel ölümde mitokondrial iç membranın kalsiyumca uyarılan geçirgenliğı değışmektedir. Bu tarz değışiklikler, mitokondrial membran potansiyelini düşürerek ozmotik şişme ile mitokondrial lizise yol açmaktadır. Kalsiyum geçirgenliğindeki bu değışiklik potansiyel terapötik bir hedefdir. Örneğın; kalsiyumca uyarılan mitokondrial geçirgenlik değışikliklerini inhibe edebilen bir ajan olan siklosporin-A nöroprotektiftir. Mitokondrilerin, travmatik hasar sonrası görülen eksitatuvar nörotransmitter birikimine bağılı hücrel hasarda da önemli bir rol oynadığı düşünölmektedir. Eksitotoksisite ile nöronlara giren kalsiyumun büyük çoğunluğunu mitokondriler aktif olarak biriktirmektedirler. Aşırı mitokondrial kalsiyum birikimi eksitotoksik hücre ölümünün primer nedenidir. Ek olarak mitokondri dış zarının apopitojenik proteinlere geçirgenliğinin artması bunların sitozole salınımını kolaylaştırır ve apopitozis ve nöronal ölümün uyarılmasında anahtar bir rol oynar. Sonuçta; mitokondriler travmatik nöral hasarın iç mediatörü olarak ön plana çıkmaktadır (1).

10.Spinal Kord Yaralanmasında Tedavi Yaklaşımları: Spinal kord hasarında tedavi yaklaşımları iki ana grupta sınıflandırılabilir: 1. Cerrahi tedavi yaklaşımları 2. Cerrahi olmayan tedavi yaklaşımları.

1. Cerrahi Tedavi: Spinal kord hasarında, omuriliğın dekomprese edilmesi, miyelotomi ve fetal doku transplantasyonları cerrahi tedavi yöntemleridir.

a) Dekompresyon: Dekompresyon, tarihi olarak omurilik yaralanmasında ilk denenen cerrahi tedavi yöntemlerindedir. Yıllarca omurilik yaralanması olan hastalara dekompressif laminektomi yapılmıştır.Eski yıllarda görüntöleme yöntemleri basının nereden olduğunu göstermede yetersizdi. Ayrıca sadece posterior girişim teknikleri bilinmekte, anterior girişim uygulanmamakta, laminektomi sonrası stabilizasyon yapılmadığı için operasyon sonrasında tekrar stabilite kaybına bağılı bası ortaya çıkabilmekteydi.Dekompressif laminektominin yararı konusunda kuşklar ortaya çıkınca, dekompressif cerrahinin yararını araştıran deneysel çalışmalar başlamıştır.Bu araştırmaları neticesinde erken dekompresyon sadece inkomplet spinal kord yaralanmasında faydalı olabileceğı yorum yapılmıştır.Şu anda spinal travma sonrası spinal cerrahların farklı yaklaşımları vardır.Çoğu spinal cerrah, komplet omurilik

yaralanmasının 24 saat sonunda da komplet omurilik yaralanması olarak devam ediyorsa bu hastaların nörolojik düzelme göstermeyeceği düşüncesini taşımaktadır.

b) Miyelotomi: İlk olarak Allen ağırlık düşürerek omurilik yaralanması oluşturduğu köpeklerde miyelotomi uygulamış, omurilik yaralanması olan köpeklerin miyelotomiden faydalandığını gözlemiştir. Rivlin ve Tator 1979 da sıçanlarda dorsal miyelotomi ile posteriordan anteriora kadar uzanan tam miyelotomiyi karşılaştırmış dorsal miyelotominin yararsız olduğunu, tam miyelotominin ise faydalı olduğunu bildirmiştir. Miyelotomi klinik olarak da denenmiştir ve hastaların faydalandığı bildirilmiştir. Miyelotominin yararlı etkisi, artmış intramedüller basınç azalmasına kan ve vazoaaktif maddelerin ortamdan uzaklaştırılmasına açılan yüzeyde oksijenle ilişkinin artmasına bağlanmıştır. Miyelotomi ile debride doku ile birlikte ileride işlev görebilecek dokularında eksise edildiği ve miyelotominin zararlı olacağı da bildirilmektedir(34).

c) Fetal Doku Transplantasyonu: Son yıllarda belli nörolojik bozukluklar için fetal nöronal doku transplantasyonu yapılmaya başlanmıştır. Klinik kullanımları yanında, deneysel çalışmalarda sürmektedir. Santral sinir sistemi ile ilgili transplantasyon çalışmaları daha çok striatal, neokortikal ve hipokampal bölgelere yönelik yapılmaktadır. Bununla beraber, omurilik yaralanmasında fonksiyonel iyileşmeyi arttıracak fetal SSS hücrelerinin transplantasyonuna yönelik çalışmalarda vardır. Deneysel omurilik yaralanması ile ilgili transplantasyon çalışmalarında, konakçı doku ile greft arasında uzun traktuslarla ve intersegmental sistemlerle ilişki sağlayan aksonal uzanımlar gösterilmiştir. Sıçanlarda intraspinal fetal greftler, segmental refleks fonksiyonları ve lokomotor fonksiyonu etkilemiştir(35).

2. Cerrahi olmayan tedaviler:

I. Farmakolojik tedavi yöntemleri:

a) Metilprednizolon: Omurilik yaralanmasında kullanılan temel farmakolojik ajanlardan biridir. Deneysel çalışmalarda metilprednizolonun omurilik yaralanmasında etki mekanizması gösterilmiştir. Omurilik yaralanmasından sonra metilprednizolon uygulanımı ile lipid peroksidasyonu oluşumu engellenir. İntraselüler-ekstraselüler kalsiyum akışını stabilize eder. Hücre enerji durumunun ve asit baz dengesinin

restorasyonuna yardım eder. Na-K ATPaz aktivitesinin tekrar oluşumunu provake eder. Omurilik yaralanması sonrası omurilik kan akımını artırır. Nöroflaman dejenerasyonunu azaltır. Çok sayıda deneysel çalışma sonrası metilprednizolonun yararlı etkileri gösterildikten sonra, insan omurilik yaralanmasında çok sayılı bir grupta, plasebo kontrollü bir çalışma ile yararları araştırılmıştır. Gastrointestinal kanama spinal kord travması sonrası yoğun glukokortikoid tedavisi alan hastalarda en sık beklenen komplikasyondur.

NASCIS-2 (National Acute Spinal Cord Study) adı verilen çalışmada omurilik yaralanması sonrası ilk 12 saat içinde metilprednizolon, hastalara 30 mg/kg İV bolus, sonra 5,4 mg/kg /saat dozda 23 saat boyunca infüzyon şeklinde verilmiştir. Altı hafta, altı ay ve 12 ay sonra yapılan nörolojik bakıda travmadan sonraki ilk 8 saat içinde metilprednizolon verilen hastalarda anlamlı düzelme görülmüştür. Travmadan 8 saat sonra metilprednizolon uygulanan hastalarda bir yıl sonunda daha az nörolojik düzelme saptanmıştır. Bu çalışma ile omurilik yaralanmasından sonraki ilk 8 saat içinde metilprednizolon tedavisi rutin olmuştur(36).

b) Gangliozidler: Monosialotetrahexosylganglioside (GM-1 Ganglioside) Memeli santral sistemi hücrelerinde bulunan bir glikolipiddir. Protein kinaz aktivitesini modüle eder. Deneysel çalışmalarda nöroprotektif ve nöronal fonksiyon restorasyonunda potansiyel etkileri bulunmuştur. İn vitro çalışmalarda GM-1'in, eksitator aminoasitlere bağlı nörotoksositeye karşı nöronu koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur. Ayrıca inmede ve diabetik nöropatide GM-1 gangliozidin nöroprotektif etkileri olduğunu bildiren hayvan çalışmaları da vardır. GM-1 ile metilprednizolonun kombine kullanıldığı bir hayvan çalışmasında GM-1 in metilprednizolonun nöroprotektif etkisini bloke ettiği bildirilmektedir(37).

c) Tirilazad: 21-aminosteroiddir. Steroid olmasına karşın steroid yan etkilerini taşımaz. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. İyonik demir ile şelat yapar. Hidrojen peroksit ve süperoksit adlı serbest radikallerin tutucusudur. Antilipolitiktir, membran stabilize edici etkisi vardır. Posttravmatik omurilik kan akımını artırır. NASCIS-3 çalışması sonucunda tirilazadın klinik kullanıma yönelik rasyonel bir temel olmadığı ortaya çıkmıştır(36).

d) Eksitatör aminoasit antagonistleri: Eksitatör aminoasitler (glutamat) NMDA reseptörlerini uyararak hücre içine kalsiyum girişini başlatırlar. Travma sonrası sinaptik aralıkta eksitatör aminoasit konsantrasyonunun artışı hücre içine kalsiyum girişini arttırır. Kalsiyumun hücre içine girişi ile hücre ölümüne kadar giden reaksiyonlar zinciri başlar. Aksitatör aminoasit reseptör antagonistleri, sıçan omurilik yaralanması modellerinde alt ekstremitte fonksiyonlarını arttırmıştır. MK-801, NMDA reseptör antagonistidir. Deneysel omurilik yaralanmasında nörolojik fonksiyonlarda düzelmeye neden olmuştur(37).

e) Potasyum kanal Blokerleri: Demiyelinizasyon, uzun dönemde omurilik yaralanması sonrası motor ve duysal bozukluklara katkıda bulunan önemli bir faktördür. Miyelin kaybı, hasarlı miyelinize aksonların internodal bölgelerinde potasyum kanallarının açılmasına neden olur. Bu durumda nöron içine potasyum akışı olur, akson içinde potasyum fazlalığı aksiyon potansiyelinin blokajına yol açar. 4-aminopyridine (4-AP) internodal bölgede sınırlı olan voltaja duyarlı hızlı potasyum kanallarının blokeridir. 4-AP aksiyon potansiyelinin durasyonunu uzatarak demiyelinize alanlarda sinir iletimini arttırır. Potasyum kanal blokerlerinin omurilik yaralanmasında kronik dönemde fonksiyonun restorasyonunda olumlu etkilerinin olduğuna inanılmaktadır. Bunu yaşayan ancak demiyelinize nöronlarda iletiyi düzelterek yaptığı düşünülmektedir(37).

f) Serbest radiklal tutucuları: Omurilik yaralanması sonucu omurilikteki hemorajiyi takiben hemoglobin ürünleri açığa çıkar. Hemoglobinin yıkılması ile demir iyonu serbestleşir. Polimorf lökositlerin aktive olması, prostaglandin, lökotien sentezi, arasıdonik asit salınımı serbest rasikallerin oluşumuna yol açar. Serbest radikaller instabil moleküllerdir. Hücre içinde hücre membranında lipid peroksidasyonuna ve hücre ölümüne yol açarlar. E vitamini serbest radikalleri redükte eder hücre membranına girerek poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonunu engeller. Selenyum, hidrojen peroksidi redükleyen glutatyon peroksidazın kofaktörüdür. Hücre içindeki hidrojen peroksidi ve diğer bazı lipid peroksitleri temizler. Tirilazadın serbest radikal temizleyici mekanizmayla da etkili olduğu bildirilmektedir(11).

g) Barbitüratlar: Serabral olaylarda, barbitüratların hızlanan metabolik süreci yavaşlatıcı, hızlanan metabolizmanın zararlı etkilerini azaltıcı faydasının görülmesinden sonra omurilik yaralanmasından sonrada kullanılması önerilmiştir. Deneysel

çalıřmalarda thiopental in parapleji oranını dūřurdūęu, histopatolojik gōrūnūmde ve SEP (somatosensoryyel evoked potansiyel) lerde dūzelme yarattıęı bildirilmiřtir.

h) Kalsiyum Kanal Blokerleri: Travma sonrası santral sinir sisteminde kalsiyum kanallarında meydana gelen depolarizasyon neticesinde vazospazm ve iskemi oluřur. Aynı anda nōronlarda oligodendrositlerde bulunan kalsiyum kanallarının aktivasyonu ile hūcre iēine kalsiyum akıřı olmaktadır. Spinal travma sonrası kalsiyum kanal blokerleri travmayı takiben oluřan vazospazmı önlemek ve geliřecek iskemiye azaltabilmek iēin kullanılmıřtır. kalsiyum kanal blokerlerinin serebral kan akımını arttırdıęını biliyoruz. Diltiazem hidroklorid kalsiyum iyonunun hūcreyel influxunu inhibe eden yavař (L tipi) kalsiyum kanal blokōrūdūr. Diltiazem tedavi edici etkilerini kardiyak ve vaskūler dūz kasında membran depolarizasyonu esnasında kalsiyum influxunu inhibe ederek gōsterir. Bu etkiyi L tipi kalsiyum kanallarının yanındaki allosterik noktalara baęlanarak aēılmasını bloke ederek gōsterir (21).

Diltiazem tedavi amaēlı antihipertansif olarak kullanılmaktadır. Kan basıncını dūřürmedeki etkinlięi hipertansiyon řiddetine baęlıdır. Hipertansif hastalarda antihipertansif etkinlik gōsterirken normotansif gōnūllūlerde orta dereceli bir kan basıncı dūřūklūęu gōsterir.

Spinal kord hasarında travmadan sonra uygulanan diltiazem hem vaskūler dūz kasında membran depolarizasyonunu engelleyerek spinal iskemiye azaltır hemde kalsiyumun hūcre iēine influxunu azaltır. Kalsiyuma baęlı sekonder spinal hasarlardan apoptoz sūrecine etkileyecek L tipi kalsiyum kanalları, nōronlar da astrositlerde ve oligodendrositlerde mevcuttur. Hūcreler arası kalsiyum sinyalizasyonunun hūcre iēi calcium depoları ve stoplazmik calcium tamponu gibi birēok ařaması olduęu ve bunun neticesinde bu adımlarda bir patolojik sūreē tūm astrositik iletiřim dalgalarında bir akım bozukluęuna sebep olabilmektedir (38). spinal travmadan sonra uygulanan diltiazem birleřik aksiyon potansiyelini anlamlı olarak arttırmıřtır ve 80 dakika kadar sonra bu etki kaybolmuřtur. Dozun arttırılması sūreyi arttırmıřtır (22).

II. Hiperbarik oksijen tedavisi: Omurilik yaralanması sonrası ciddi doku hipoksisi ortaya çıkar. Doku hipoksisini azaltmak için oksijen tedavisi önerilmiştir. Ancak oksijenin dokulara penetre olabilmesi için yüksek basınçlarda verilmesi gereklidir. Oksijen %100 konsantrasyonda ve 2-3 atm basınçta verilmelidir. Hiperbarik oksijen tedavisi akut omurilik yaralanmasının yanı sıra kronik omurilik yaralanmasında da denenmiştir. Holbach ve ark, kronik omurilik yaralanması olan 13 hastaya 1,5 atm basınçla oksijen vermiş, 5 hastada motor fonksiyonlarda düzelme gözlenmiştir.

III. Hipotermi: Santral sinir sistemi sıcaklığını düşürme uygulaması 1950 li yıllarda başlamıştır. Kardiovasküler cerrahinin gelişmesine paralel olarak genel vücut hipotermisinin operasyon sırasında kullanımı giderek yaygınlaştı. Çünkü hipoterminin beyin ve omurilik iskemisine karşı koruyucu etkisi gösterildi. Ancak hipoterminin çok düşük sıcaklıklarda zararlı etkileri görüldü. Dev intrakranial anevrizmaların cerrahisi sırasında 16 derecelik sistemik hipotermi uygulanmakta, ancak bu anda hastaya komplet sirkülatuar arrest (kardiopulmoner by-pass) uygulanması ve hastanın pompaya bağlanması gerekmektedir. Sirkülatuar arrest, sistemik hipoterminin zararlı etkilerini önlemesi yanında, serebral vasküler yatakta dolaşımı durdurmasıyla anevrizmanın manipülasyonunu kolaylaştırmaktadır. Hipotermi ve farmakolojik koruma ile 50 dakikaya kadar olan iskemik süreç için tolerans sağlanabilmektedir. Sistemik hipoterminin artmış kafa içi basıncını azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir(39).

11.Histopatolojik Değişiklikler: Doku ödemi, iskemi, hücre içine iyon kaçıışı, serbest radikal hasarı gibi reversibl olan, nörolojik fonksiyonların azalmasına neden olan sekonder hasar; dakikalar, saatler içinde gelişir. Birçok araştırmacı değişikliklerin 24 saat içinde oluştuğunu göstermiştir. Travma sonrası gelişen histopatolojik değişiklikler medulla spinalis travması sonrası sekonder hasarı önlemeye yönelik tedavi metodlarının araştırılmasında akut patolojiler değerlendirilmesi gerekiyor.

Travma sonrası 5. dakika

Santral kanal çevresindeki mükümler damarlarda lümenin intakt görülmesine rağmen hafif bir şişme ve gerilme, ciddi sıvı artışı dikkati çeker. Eritrosit dejenerasyonu ve trombüs formasyonu yoktur. En çok gri cevherde olmak üzere beyaz gri cevher sınırında irili ufaklı birbirine karışmış kapiller venül kaynaklı hemorajiler

mevcuttur. Elektron mikroskopik olarak primer hemoraji kapiller ve venüllerin duvarındaki defektler ile karakterizedir. Bu defektlerin etrafı sirküler hemoraji trombosit fibrin ve granüositlerle sarılmış bir granüler tıkaçla doldurulmuştur. Venüllerin endotelial yüzeylerinde pinositotik veziküllerde artış vardır. Endotelial birleşim yerlerinde açılma yoktur. Nöronlar santral yerleşimli nükleusları, stoplazma içinde düzgün dağılımlı kromatinleri ile normal görünümünü korurlar. Zaman geçtikçe hücre membranları angüler olur ve çevresindeki nöropillerden periselüler temiz alanla ayrılırlar (40).

Travma sonrası 15. dakika

Nörolojik lezyon oluşmuştur. Hücrelerin ve sinir liflerinin çoğu lezyon bölgesinde intakt olmasına rağmen travma bölgesinden geçen impuls iletisi kaybolmuştur ve hayvan paraplejik hale gelmiştir. Nöronlarda astroglial şişme ve periaksonal genişleme mevcuttur (40, 41). Gri maddedeki arteriol ve venüllerin izole rüptürü ile perivasküler alana eritrosit sızması olur. Elektron mikroskopik olarak perivasküler alanlarda, postkapiller venülle ve musküler venüllerde eritrosit mevcuttur. Lümen perivasküler alanla ilişkilidir. Gri maddede kapiller çevresindeki astrositik yapılarda şişme mevcuttur, perivasküler alan, postkapiller venül, musküler venüllerdeki eritrosit foküsleri dışında ak madde de normal limitlerdedir.

Travma sonrası 30. dakika

Eritrosit ve seröz sıvının perivasküler birikimi ve çevre parenkime yayılmasında artma görülür. Bu değişiklikler daha çok santral kanal çevresi ve dorsal boynuzda belirgindir. Gri maddenin büyük bölümü hemorajik ve ekstrasvazasyon belirgindir. Ak maddede peteşial kanamaların da arttığı gözlenir. Nöronlarda ve ultrastürüktürel myelin liflerde aksonal dejenerasyon görülür. Ak maddede laküner bal peteği görünümü oluşmuştur. Akson çapları ve myelin kılıfı kalınlığında artış olmamıştır (40, 41).

Travma sonrası 1. saat

Gri maddede peteşial kanamalarla beraber ak maddede birkaç küçük kanama odağı görülebilir. Ön boynuzdaki nöronlarda sınırlarında düzensizlik, hiperkromazi ve büzülme saptanır. Myelin incelendiğinde boya tutma özelliğinde azalma ve longitudinal traktuslarda küçük vaküoller saptanır. Elektron mikroskopik çalışmalarla peri aksonal mesafenin genişlediği, myelin kılıfların şeklini yitirdiği özellikle kalın liflerde yarıklar oluştuğu saptanır (40).

Travma sonrası 4. saat

Gri maddede belirgin olmak üzere hemorajik lezyon en üst düzeyine ulaşmıştır. Sekonder iskemik hasarın göstergesi olan kapiller ve postkapiller venül endotelinde vakuolleşme ve endotelial şişme tespit edilir(40,41). Elektron mikroskopik olarak serbest eritrosit gri maddede belirgin ak maddede ise 1.saate göre artmıştır. Gri madde ağırlıklı olmak üzere perivenüller alanda bol eritrosit görülür. Gri ve ak madde kapiller ve postkapiller venüllerinin endoteli vaküol farmasyonu gösterir. Endotelde belirgin ödem saptanır. Perikapiller astrositik yapı ileri derecede ödemlidir. Kapiller ve postkapiller venüllerin lümenlerinde belirgin daralma yoktur (40,41). Nöronlarda merkezi kromatolizise bağlı olarak kromatin tozlu görünümündedir ve boyanma özelliği azalmıştır. 1.saate göre aksonal ve periaksonal arlıkta şişme artmıştır. Bazı nöronlarda nukleus içi vaküoller görülür. Nöronal iskemi ve nekroza bağlı olarak bazı hücreler eozinofilik boyanma özelliklerini kaybederler (hayalet hücreleri)Ultrastürüktürel olarak posterolateral kısımlarda belirgin aksonal granüler dissolüsyonu ve myelin kılfin en dış tabakalarından başlayan karakteristik veziküllenme görülür (40,41).

Travma sonrası 24. saat

Gri maddenin yaklaşık yarısına değin yayılan kanama ve ak maddede bası saptanır. Büzüşmüş durumdaki birkaç nöron dışında nöronlar ayırt edilemez. Lezyon sahasında belirgin lökosit infiltrasyonu mevcuttur. Lezyonun distal bölümünde de myelinde bozulmalar saptanır. Ak maddede saptanmış olan vaküollein sayı ve büyüklüğünde artma mevcuttur Büyük lezyon sahasını kaplamaktadır (40).

MATERYAL METOD

Bu çalışmada ağırlığı 2-2,5 kg arasında değişen Yeni Zelanda tipi her iki cinsten toplam 30 tavşan kullanıldı. Tüm tavşanlara anestezide barbitürat türevi olmayan ketalar(Ketamin hidroklorür) 10 mg/kg İ.M. ve preanestezik olarakta Rompun (thiazin hidroklorür) 0,15mg/kg İ.M. yolla uygulandı. Anesteziyi sürdürmek için gerektiğinde 0,5mg/kg Ketalar İ.M. yolla verildi. Aseptik şartlarda önce deneklerin prone pozisyonunda özel tespit tahtasında pozisyon verildi. Daha sonra yaklaşık thorakal 7-8 hizası tüyler traş edildi. Takiben median vertikal cilt ciltaltı insizyonu yapıldı. Paravertebral adaleler künt diseksiyonla sıyrılarak ekartörlerle bilateral olarak laminalar ortaya konuldu. Takiben 2 cm torakal spinal kord bölümü ortaya konulacak şekilde laminektomi uygulandı.. Tavşanlar 10 arlı üç gruba ayrıldı birinci grup sham grubu olarak kullanıldı. İkinci grup sadece travma uygulanan grup, üçüncü grup ise travma sonrası diltiazem uygulanan grup olarak kullanıldı.

Birinci grupta (sham) laminektomiden sonra hiçbir işlem yapılmadan spinal kord örneği blok olarak alındı. İkinci grupta travma sonrası altıncı saatte doku örneği alındı. Üçüncü grupta travma sonrası diltiazem uygulandıktan altı saat sonra doku örnekleri alındı. Alınan spinal kord bölümleri her üç grupta da % 0,09 luk KCL solüsyonu içine koyularak biyokimya laboratuvarında incelenmek üzere muhafaza edildi. Aynı anda histopatolojik inceleme için yeteri kadar spinal kord bölümleri alınarak % 10 formollü solüsyona içine konuldu ve muhafaza edildi. Daha sonra histopatolojik olarak incelenmek üzere patoloji labaratuvarına iletildi.

GRUP I : Tavşanlara Ketalar ve Rompun ile anestezi uygulandıktan sonra laminektomiyi takiben herhangi bir işlem yapılmadan spinal kord çıkarıldı. 0,09 luk KCL solüsyonuna konuldu histopatolojik inceleme için alınan parça ve %10 lik formollü solüsyona konuldu.

GRUP II : Tavşanlara Ketalar ve Rompunla anesteziyi takiben laminektomi uygulandı. Spinal korda 10 saniye ekstradural geçici anevrizma klibi ile kompresyon travması uygulandı (resim 1) (42). Kompresyon travmasından altı saat sonra komprese alan ortalanarak spinal kord bölümü çıkarıldı ve yeteri kadar histopatolojik inceleme için alınan parçalar % 0,09KCL solüsyona ve %10 formollü solüsyona koyularak takibe alındı.

GRUP III : Tavşanlarda anesteziyi takiben laminektomi uygulandı. kapanma kuvveti 50 gr olan geçici anevrizma klibi ile ekstradural olarak 10 saniye kompresyon travması uygulandı. Travmadan 30 dakika sonra diltiazem 0,25 mg/kg dozunda İ.V. olarak infüze edildi. Travmadan altı saat sonra spinal korddan doku örneği alındı. Parça % 0,09 KCL solüsyonuna ve histopatolojik inceleme için alınan parça %10 formollü solüsyona koyularak biyokimya ve patoloji laboratuvarlarına iletildi.

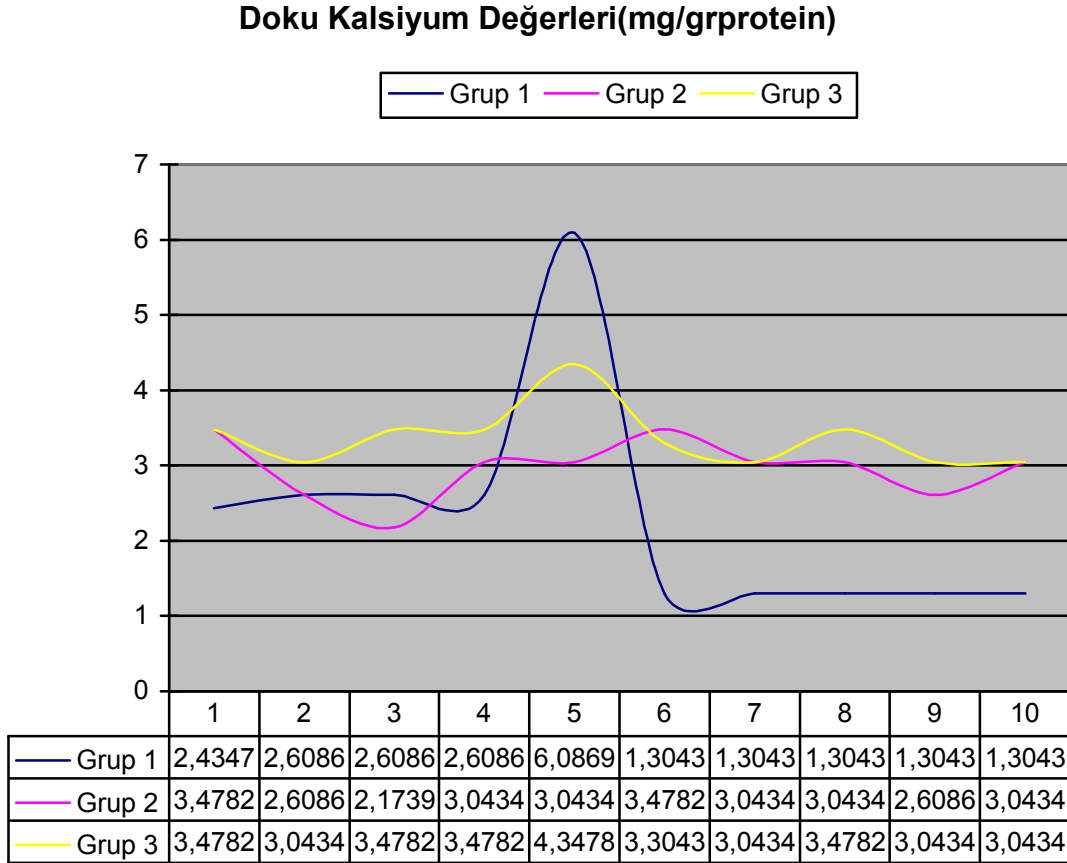
Biyokimya laboratuvarına getirilen spinal kord örnekleri % 0,09 KCL solusyonu ile dört beş defa yıkandıktan sonra homojenizat ile beş dakika homojenize edildi. Homojenize edilen doku örneği 2 cc % 0,09KCL içinde beş dakika 3000 devirde santrifüje edildi, takiben santrifüjden elde edilen sıvıda rutin biyokimya laboratuvarında kalsiyum değerleri mg/dl olarak ölçüldü. Bir başka spinal kord bölümü fosfat tamponu ile homojenize edildi ve homojenize edilen doku santrifüje edildi takiben doku proteini gr /dl olarak ölçüldü . Daha sonra doku kalsiyum değerleri mg/grprotein olarak hesaplandı (grafik 1). Spinal kord travmasından sonra travmalı bölgeye komşu dokulardan kalsiyum göçü, iskemi-reperfüzyon olayı ve intraselüler-ekstraselüler kalsiyum değişikliklerinin total doku kalsiyumuna etkisi biliniyor. Total doku kalsiyumuna diltiazemin etkisini intraselüler-ekstraselüler kalsiyum değişikliklerini ve iskemi reperfüzyon olaylarını etkileyen bir kalsiyum kanal blokeri olan diltiazemin total doku kalsiyum düzeylerini hangi yönde değiştirdiğini görmek için total doku kalsiyum düzeyleri ölçüldü.



Resim I: Ekstra dural anevrizma klibi ile spinal kord travması.

BULGULAR

1. İstatistiksel Çalışmalar:



Grafik I: Doku Kalsiyum Değerleri

Analiz yaparken Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney testi kullanıldı. kontrol grubu olarak kullanılan tavşanlarda(1.grup) ortalama doku kalsiyumu 2,286 mg/grprotein travma uygulanan 2. grupta ortalama doku kalsiyumu 2,964 mg/grprotein travma sonrası diltiazem uygulanan 3. grupta ortalama doku kalsiyumu 3,373 mg/grprotein olarak bulundu.

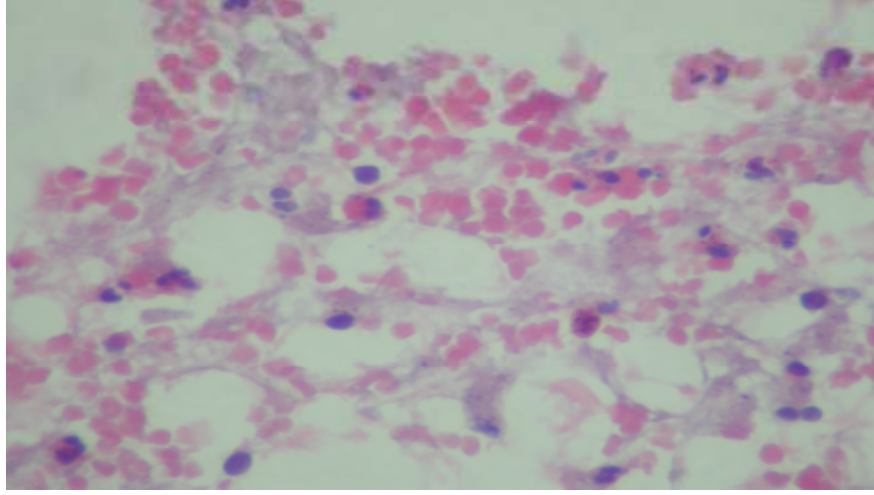
Üç grup arasında uygulanan Kruskal-Wallis testi uygulandığında p değeri 0,05'den küçük olduğu için gruplar arasında anlamlı derecede fark olduğu görüldü. İkincil test olarak Mann-Whitney testi ile grupları karşılıklı olarak değerlendirildiğinde ve Bonferroni düzeltmesi uygulandığında;kontrol grubu ile travma uygulanan 2.grup arasındaki p değeri

0,017'den küçük olduğu için anlamlı derecede fark olduğu görüldü. Mann-Whitney testi ve Bonferroni düzeltmesi kontrol grubu ile travma sonrası diltiazem uygulanan 3. grup arasında uygulandı. p değeri 0,017'den küçük olarak bulunduğu için iki grup arasında anlamlı derecede fark olduğu görüldü. Mann-Whitney testi ve Bonferroni düzeltmesi travma uygulanan 2.grup ve travma sonrası diltiazem uygulanan 3.grup arasında uygulandığında p değeri 0,017'den büyük olduğu için bu iki grup arasında anlamlı derecede fark bulunamamıştır.

2. Histopatolojik Sonuçlar:

Alınan medulla spinalis parçaları %10'luk formollü solüsyon içinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Bu parçalar ototeknicon cihazında takip edildi ve parafin blok içine gömüldü. Mikrotom aracılığıyla 5 mikronluk kesitler alındı ve rutin hemotoksilen-eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskobunda (Olympus EX-31) incelendi. İnceleme esnasında medulla spinalisde görülen değişiklikler not edildi. Daha sonra apoptozu değerlendirmek için preparatlar immünohistokimyasal ARC (apoptosis repressor with CARD)Ab-1 boyası ile boyama yapıldı ve travma sonrası apoptoz süreci değerlendirildi.

Rutin hemotoksilen-eozin boyasında tüm gruplarda ana bulgu hemoraji idi (resim 2). travmalı grupta hemoraji gri cevherde santralde olma eğiliminde idi. sadece travma uygulanan grupta nötrofil infiltrasyonu görüldü eozinofil infiltrasyonunun yoğunluğu dikkati çekti. Diltiazem uygulanan grupta eozinofil infiltrasyonunun azaldığı görüldü. Santral hemorajide ise diltiazem uygulanan grupla uygulanmayan grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

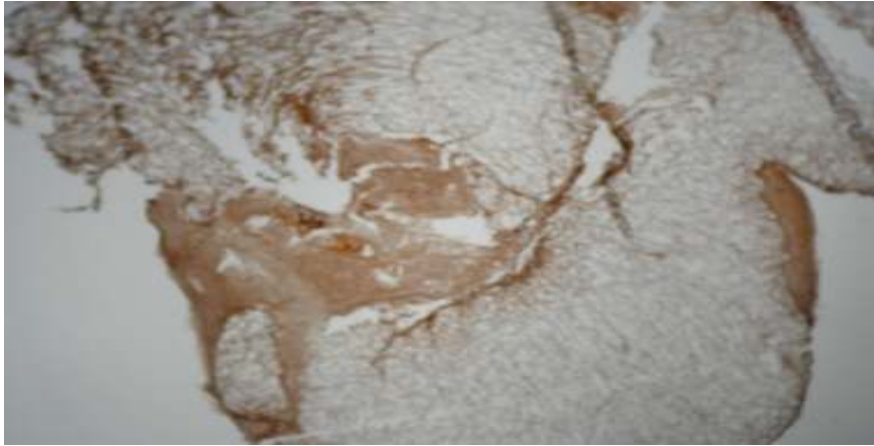


Resim II: Travma sonrası lökosit infiltrasyonu(H&E *20)

ARC (apoptosis repressor with CARD)Ab-1 Hücrede FADD, TRADD, FAS, TNFR-1 etkileyerek apoptozu baskılar. Caspase'lar üzerinden etki eder. caspase-2 ve caspase-8 e bağlanır. Caspase-8'in enzimatik aktivitesini inhibe eder. Stoplazmik boyanan (kahverengi) bir immünohistokimyasal antikordur. Total Ig G protein A kromatografi kullanılarak tavşan anti serumundan ayrıştırılmıştır apoptoz sürecinde aktive olmuş kaspazların durumuna göre boyanma farkı oluşturarak inceleme sağlar. Normal gruplarda (1.grup) ARC boyanması izlenmedi travmalı grupta (2.grup) ve travma sonrası diltiazem uygulanan gruplar(3. grup) tuttukları boya miktarına göre ışık mikroskobunda kalitatif olarak değerlendirildi. Travma uygulanan 2.grup (resim3) ve travma sonrası diltiazem uygulanan 3.grup (resim 4) arasında belirgin fark olmadığı görüldü.



Resim III: ikinci grupta Travma sonrası ARC Ab-1 boyası ile boyanmış spinal kord örneği(*20)



Resim IV:Üçüncü grupta travma sonrası Diltiazem uygulanan grupta ARC Ab-1 boyası ile boyanmış spinal kord örneği(*20)

TARTIŞMA

İnsanlarda medulla spinalis travmasının meydana getirdiği hasarı etkileyen bazı faktörler vardır. Yaş, cins, lezyon seviyesi, yaralanma derecesi, travma yönü (anterior, posterior), travma kuvveti, travma mekanizması (fleksiyon, ekstansiyon, kompresyon, distraksiyon, rotasyon) medulla spinalis dokusundaki deformasyon hızı, kemik ve ligaman hasarı, varsa kemik fragmanı ile kanal ilişkisi, kompresyon süresi, predispozan faktörler (vasküler hipertansiyon, diabet, spinal stenoz, romatoid artrit (25).

Hasarı etkileyen faktörlerin, bazıları dışında deneysel medulla spinalis travma modellerinde uygulama imkanı yoktur. Bunun için oluşturulan travma modelleri insandaki modellere benzememesine rağmen meydana gelen hasarlar zinciri (sekonder hasar insandakinin aynıdır). Bu çalışmada Rivlin ve Tator'un klip yöntemi kullanıldı (43).

İnsanda akut medulla spinalis yaralanmasının çok büyük kısmında primer yaralanma nedeni akut kompresyon veya laserasyondur. Bunun nedeni kemik veya diskin medulla spinalise olan yer değiştirmesi veya burst fraktürüne bağlı olabilir. Akut distraksiyon daha az gözlenir. İlk deneysel çalışma 1890 yılında Schmann tarafından tavşan medulla spinal direkt olarak parmakla yapılan travma ile başlamıştır(43). Aynı yöntemi 1899'da Spiller kedi medulla spinalisinde kullanmıştır. Akut medulla spinalis yaralanmaları modelleri travmatik ve non-travmatik olarak ikiye ayrılabilir. Travmatik yaralanma modelleri akut kinetik kompresyon, akut statik kompresyon ve impact yaralanma modelleri daha çok tercih edilen yöntemler olmaktadır. Kinetik kompresyonda medulla spinalis 100 milidakikadan daha az bir zamanda hızlı bir kompresyona uğramaktadır. Statik kompresyon modelleri medulla spinalisin daha yavaş olarak bir saniyeden daha uzun süre komprese etmektedir. İmpakt modelde medulla spinalis dorsal yüzüne ağırlığı bilinen bir kitle düşürülür. Bu modelde posterior kord kompresyonu olmakta, dolayısıyla tüm kordu etkileyen fraktür-dislokasyonlardaki patofizyolojik şartlar ise yeterince oluşturulamamaktadır. Tarlov ekstradural şişirilebilir balonlarla medulla spinaliste akut kompresyon yaratmıştır (43). Bu yöntemde kompresyon süresi kontrol altında tutulsada balonun pozisyonu tahmin edilemediği, kuf içindeki basınç bilinsede kordu etkileyen kısımdaki basınç tahmin etmek güçtür. balon teknikleri çok büyük hayvanlarda idealdir. Tarlov 1978 yılında ilk kez ratlarda medulla spinalisde ekstra dural olarak anevrizma klipleri ile travma oluşturmuştur (43).

Bu modelin küçük hayvanlarda kullanılabilmesi maliyetinin az olması, travmanın ciddiyetinin kullanılan klip ile ayarlanabilmesi ve uygulanan kompresyon kuvvetinin tüm korda eşit olarak etkimesi ile insan medulla spinalis yaralanmalarındaki benzer bir patoloji oluşturulmaktadır. Statik kompresyon modelinde uygulanan kuvvet çok doğrusaldır. Fakat insan akut medulla spinalis yaralanmalarını tam olarak temsil etmez. Distraksiyon insan akut spinal kord yaralanmalarında nadir gözlenen bir etkidir. Tam ve yarım traksiyon yöntemleri de sık kullanılır. Non travmatik yaralanma ile ilgili bir çok model de geliştirilmiştir. En sık kullanılan aortik oklüzyon yöntemidir. Bu yöntem insan akut medulla spinalis yaralanmasındaki spontan ve akut medulla spinalis yaralanmasının ikisini birlikte temsil eder.

Nöronal dejenerasyonun gelişmesinde sekonder hasar önemli bir rol oynamaktadır. Sekonder hasar travmayla başlar ve mono aminlerin, oksijen serbest radikallerin, ortaya çıkmış nöropeptidlerin, araşidonik asit metabolitlerinin aktivasyonu ve ekstraselüler kalsiyum değişiklikleri şeklinde bir dizi biyokimyasal değişikliklere neden olurlar (44).

Medulla spinalis travması sonrasında gelişen nörolojik tabloda yanıtın progresyonunda birçok patofizyolojik ve metabolik değişiklikler rol oynar. Travma sırasında oluşan hipertansif yanıt otonomik tonusu değiştirir. Mikrovasküler yapılar zaten tahrip olduğu için hipertansiyon hemorajiyi artırabilir. Vazojenik ödemi genişletebilir. Genellikle bu hipertansiyonu uzun süreli bir hipotansif dönem takip eder. Bu da iskemiye, özellikle kan akımı regülasyonunun bozulduğu ak maddede daha da arttırır(44, 45). Travmadan hemen sonra doku oksijeni düşer ve ATP tükenir. Metabolizma aerobikten anaerobiğe döner. Laktat seviyesi yükselir, pH düşer, kalsiyuma bağlı Na-K-ATPase çalışmaz olur. Böylece K hücrenin dışına çıkar, ekstraselüler seviyesi yükselir ve nöronlar depolarize olur. Bunun sonucu olarak nörotransmisyon bloke olabilir. Aynı zamanda büyük miktarlarda kalsiyum hücre içine girişi nöronal hasarda önemli bir rol oynamaktadır. Aşırı kalsiyumun hücre içine girişi multipl intraselüler proteinleri aktive eder. Fosfolipazlar ve proteinazlar membranı tahrib ederek hücre ölümüne neden olurlar (44, 45).

Travma sonrası hücre içine aşırı kalsiyum girişi hücre içinde bazı sekonder hasar mekanizmalarını başlatır. Bunlardan biri mitokondrial fonksiyonların etkilenmesidir. Mitokondriler sağlıklı durumda hücre içi metabolizma ve hücresel kalsiyum homeostazında kritik bir rol üstlenir. Travma sonrası , mitokondrilerin hücresel solunum ve oksidatif fosforilasyon yetenekleri bozulmaktadır. Travmatik bir hasar mitokondrial

kalsiyum transportunu inhibe ederek solunuma bağımlı olan kalsiyum alınımlarını/birikimlerini bozmaktadır. Buna bağımlı hücrel kalsiyum homeostazı bozulmaktadır. Hücrel ölümlde mitokondriyal iç membranın kalsiyumca uyarılan geçirgenliği değışmektedir. Bu gibi değışiklikler, mitokondriyal membran potansiyelini düşürerek ozmotik şişme ile mitokondriyal lizise yol açmaktadır. Mitokondriyal travmatik hasar sonrası görülen eksitatuvar nörotransmitter birikimine bağımlı hücrel hasarda da önemli bir rol oynadığı düşünölmektedir. Eksitotoksikite ile nöronlara giren kalsiyumun büyük bir çoğunluğunu mitokondriyal aktif olarak biriktirmektedirler. Aşırı mitokondriyal kalsiyum birikimi eksitotoksik hücre ölümlünün primer nedenidir. Ek olarak mitokondriyal dış zarının apoptojenik proteinlere geçirgenliğinin artması bunların sitozole salınımlarını kolaylaştırır ve apoptozis ve nöronal ölümlün uyarılmasında anahtar bir rol oynar.

SKH'da programlı hücre ölümlü olan apoptoz aktive olmaktadır. apoptoz pek çok etken tarafından aktive edilmektedir. Sitokinler, enflamtuvar hasar, serbest radikal hasarı ve eksitotoksikite gibi. SKH'da apoptoz sürecinde kaspazların önemli katkısı olduğı gösterilmiştir. SKH'da apoptotik olaylar nöronlarda, oligodentrositlerde ve astrositlerde aktive durumdadır. Ekstremsk (reseptör bağımlı) ve intrinsik (reseptörden bağımsız) apoptoz yolu iyi ortaya konulmuştur ve iki yolda SKH'da aktiftir. Ekstremsk yol TNF ve ekstraselöler sinyallerle uyarılır. Reseptörden bağımsız yollar ise intraselöler sinyallerle uyarılır. apoptotik süreçte sitokrom c, apoptoz aktive edici faktör-1 ile Kaspaz -9 aktive eder. Kaspaz-9 ekstremsk yolda olduğı gibi Kaspaz-3 ve Kaspaz-6'yı aktive ederek hücre ölümlüne neden olur (21).

Bu çalışmada Rivlin ve Tatorun klip yöntemi kullandı(34). SKH sonrası oluşan sekonder hasarlarda histopatolojik değışiklikleri özellikle apoptoz süreci ve bu esnada medulla spinalis dokusundaki kalsiyum değışiklikleri araştırıldı. Yeni Zelanda tipi tavşanlar kullandı. Üç grup tavşanda birinci grup kontrol grubu olarak kullandı, ikinci grup travma grubu idi üçüncü gruba travma sonrası diltiazem uygulandı. SKH'da oluşan sekonder hasarların ortak yolu olan hücre içinde kalsiyumun birikmesini L tipi kalsiyum kanal blokörü olan diltiazemle engellenmeye ve hücre içi yüksek kalsiyuma bağımlı tetiklenen apoptoz ve sekonder hasar süreçlerini etkilemeye çalışıldı. Bu esnada total doku kalsiyum düzeyleri ölçöldü. Ekstraselöler alandaki kalsiyumun yanında intraselöler kalsiyum çok düşüktür. Travma sonrası hücre ölümlünün son ortak yolu olan kalsiyumun hücre içi birikiminin en efektif yolu L tipi kalsiyum kanalları aracılığı ile ve

konsantrasyon farkına göre ekstraselüler kalsiyumun intraselüler alana göçüdür. Travma sonrası ekstraselüler kalsiyumun travmadan hemen sonra düşüşü bunu teyid etmektedir. Daha sonra doku kalsiyum değerleri tekrar yükselmektedir. Doku kalsiyumundaki bu yükselme komşu dokulardan kalsiyum göçü ve iskemi reperfüzyon modeli ile olmaktadır. Bu çalışmada L tipi kalsiyum kanal blokeri olan diltiazemin kalsiyumun hücre içine göçüne engel olmak ve devamında doku kalsiyumunun, iskemi reperfüzyon ve komşu dokulardan kalsiyum göçü neticesinde artışı üzerine etkisi incelendi. Travma sonrası altıncı saatte doku kalsiyumunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı görüldü. Fakat travma sonrası diltiazem uygulanan grupla uygulanmayan grup arasında anlamlı fark olmadığı görüldü. Histopatolojik değişiklikler rutin hematoksilen eozin boyası ile boyanarak incelendi travma sonrası altıncı saatte ana bulgumuz kanama ve lökosit infiltrasyonu idi. Kanama ve lökosit infiltrasyonu gri cevherde belirgindi. Travma uygulanan grup ile travma sonrası diltiazem uygulanan grup arasındaki kanamada anlamlı bir fark yoktu fakat travma grubunda lökosit infiltrasyonu incelendiğinde eozinofil infiltrasyonu belirgindi. Travma sonrası diltiazem uygulanan grupta eozinofil infiltrasyonunun beklenilmedik şekilde yoğunluğunun azaldığı görüldü.

Diğer incelediğimiz parametrelerden apoptoz sürecini ARC (Apoptosis Represor with CARD) Ab-1 boyası kullanarak değerlendirdik. Bu boya intraselüler apoptoz yolunda özellikle kaspaz -2 ve kaspaz-8'e bağlanarak ve kaspaz-8'in enzimatik aktivasyonunu inhibe eden ve apoptoz sürecini kalitatif olarak incelenmesini sağlayan bir boyadır. Rutin hematoksilen eozin boyası ile boyanan preparatlar takiben ARC Ab-1 boyası ile boyanarak incelendi. Sham grubunda ARC Ab-1 boyasının tutmadığı görüldü. Travma uygulanan grupla travma sonrası diltiazem uygulanan grup arasında ARC Ab-1 boyası ile boyanmaları arasında anlamlı fark yoktu.

SONUÇ

Bu çalışmada travmatik spinal kord hasarı sonucunda hücre ölümünün son ortak yolu olan intraselüler kalsiyumun, hücre içi birikimini etkileyerek, travma sonrası meydana gelen histopatolojik değişiklikler ve apoptoz süreci incelendi. Total spinal kord doku kalsiyumunun travma sonrası değişiklikleri; komşu dokudan kalsiyum göçü, iskemi reperfüzyon modeli ve intraselüler-ekstraselüler kalsiyum değişiklikleri Sonucu olmaktadır.

Çalışmada iskemi reperfüzyon ve intraselüler-ekstraselüler kalsiyum değişikliklerine etkisi bilinen kalsiyum kanal blokerlerinden olan ve ekstraselüler kalsiyumun intraselüler alana geçişini efektif olarak düzenleyen L tipi kalsiyum kanallarını bloke eden diltiazem kullanıldı. İncelenen parametrelerden total spinal kord doku kalsiyumu üzerine diltiazemin anlamlı bir etkisinin olmadığı, incelenen parametrelerden biri olan apoptoz sürecine anlamlı bir etkisinin olmadığı, travma sonrası histopatolojik değişiklikler incelendiğinde diltiazem uygulanan tavşanlarda eozinofil infiltrasyonunun beklenmedik bir şekilde diltiazem uygulanmayan tavşanlardan daha az olduğu görüldü. Spinal kord doku kalsiyumunun travma sonrası artışını iskemi reperfüzyon ve intraselüler ekstraselüler kalsiyum değişikliklerini etkilediğini bildiğimiz bir ajan olan diltiazem etkilemiyor. Total doku kalsiyumundaki travma sonrası artışın diğer bir yolu olan komşu dokudan kalsiyum göçünü engelleyecek ajan veya yöntemler üzerinde incelemeler yapılması gereğini düşünüyoruz.

ÖZET

Bu çalışmada deneysel spinal kord travmasında L tipi kalsiyum kanal blokörü olan diltiazemin doku kalsiyumu üzerine etkisini ve sekonder hasar sonucu oluşan histopatolojik değişiklikler ve apoptoz süreci üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmada üç grup yeni Zelanda tipi tavşan kullanıldı. gruplarda 10'ar tavşan vardı. Birinci gruba herhangi bir travma yapılmadı herhangi bir ilaç uygulanmadı kontrol grubu olarak kullanıldı. İkinci gruba anevrizma klibi kullanılarak omurilik travması oluşturuldu herhangi bir ilaç verilmedi. Üçüncü gruba anevrizma klibi ile travma oluşturulduktan sonra diltiazem uygulandı. Her üç gruptan alınan omurilik örnekleri total doku kalsiyum değerleri ölçülmek üzere biyokimya laboratuvarında ve histopatolojik inceleme ve apoptoz süreci incelenmek üzere patoloji laboratuvarlarında incelendi. Spinal kord travması sonrası total spinal kord doku kalsiyumunda anlamlı bir artış olduğu görüldü. Fakat uygulanan diltiazemin travma sonrası artan doku kalsiyumu üzerine ve apoptoz sürecine etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Sadece diltiazem uygulanan grupta eozinofil infiltrasyonunun travmalı gruba göre daha az olduğu görüldü.

SUMMARY

In this experimental spinal cord injury study we observe the effects of L type calcium channel blocker diltiazem on tissue calcium levels and histopathological differences and on the process of apoptosis. In this study we use 3 groups of New Zealand rabbits. Each group contains 10 rabbits. First group have no trauma or medication and serve as control group. Second group spinal cord injury achieved by using aneurysm clip. Third group achieved spinal cord injury by using aneurysm clip and take diltiazem medication. Spinal cord tissue samples taken from all groups send to the biochemistry laboratory and send to pathology laboratory to examine histopathological changes and process of apoptosis. After spinal cord injury total spinal cord calcium levels increase significantly. Diltiazem has no significant effects on tissue calcium levels or process of apoptosis. However diltiazem medication decreases eosinophil infiltration after spinal cord injury.

KAYNAKLAR

- 1-Dumont RJ. et al. Pathophysioloji of spinal cord injury, clin. Neuropharmacology Part 1 2001;24(5):254-264
- 2-Tator CH. Pathophysioloji and pathology of spinal cord injury, Wilkins R, Rengachary SS, Neurosurgery Baltimore, Williams&Wilkins1996;2847-2859
- 3-Tator CH. Spinal cord syndromes with physiological and anatomic correlations, Menezes AH, SonntagVKH, Principles of spinal surgery, Newyork, McGraw-Hill, 1996
- 4-Pang D, Wilberger JE Jr, Spinal cord injury without radiographic abnormalities in children, J. Neurosurgery 1982;57:114-129
- 5-Young WSecondary injury mechanisms in acute spinal cord injury, Ann. Emerg Med. 1993;11:13-22
- 6-Anderson DK, Hall ED. Pathophysioloji of spinal cord trauma, Ann. Emerg. Med 1989;22:987-992
- 7-Lapchak PA, Araujo DM, Song D. et al. Neuroprotection by the selective cyclooxygenase-2inhibitör SC -236 results in improvements in behavioral deficits induced by reversible spinal cord ischemia, Stroke 2001;32:1220-1225
- 8-Kiss ZHT, Tator CH Neurogenicshock, Geller ED. Shock and Resuscitation. Newyork, McGraw-Hill, 1993;421-440
- 9-Koyanagi I, Tator CH, Lea PJ. Silicone rubber microangiography of acutespinal cord injury, Neurosurgery 1993;32:260-268
- 10-Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanism. J Neuro surgery 1991;75:15-26
- 11-Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi A et al. Antioxidant therapy:a new pharmacological approach in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol Rev. 2001;53:135-159
- 12-Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as afinal common pathway for neurologic disorders. N. Engl. J. Med. 1994;330:613-622
- 13-Fabian RH, Dewitt DS, Kent TA. In vivo detection of superoxide anion production by the brain using a cytochrome c electrode. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1995;15:242-247
- 14-Lewen A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. J. Neurotrauma 2000;17:871-890
- 15-David G. Kim, MD, Molekular biology of cervikal myelopathy and spinal cord injury:role of oligodendrocyte apoptosis. The spine journal. 2003;3:510-519
- 16-Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. Klinik gelişim 1995;8:3906-3911

- 17-Farooque M, Olsson Y, Hillered L. Pretreatment with alfa-phenyl-n-tert—butyl-nitron (PBN) improves energy metabolism after spinal cord injury in rats. *J. Neurotrauma* 1997;14:469-476
- 18-Kayaalp O. SSS ilaçlarına giriş:Glutamik asit, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Feryal matbaası Ankara 1990;cilt 2:1619-1622
- 19-Agraval SK, Fehling MG. The effect of the sodium channel QX-314 on recovery after acute spinal cord injury. *J. Neurotrauma* 1997;14:81-88
- 20-Wise Young and Ilona Koreh. Potassium and calcium changes in injured spinal cords. *Brain Research* 1986:365;42-53
- 21-Kayaalp O. Kalsiyum antagonistleri. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji cilt 2, Feryal matbaası Ankara 1990:1184-1195
- 22-S. K. Agraval, R. Nashmi. Role of L-andTtype calcium chanel in the pathophysiology of traumatic spinal cord white matter injury. *Neuroscience*. 2000;99;179-188
- 23-Wong MCW, Haley Jr. EC. Calcium antagonists. Stroke therapy coming of age. *Stroke* 1990;21(3):494-501
- 24-Fiskum G. Mitokondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death. *J. Neurotrauma* 2000;17:843-855
- 25-Shields DC, Schaecher KE, Hogan et al. Calpain activity and expression increased in activated glial and inflammatory cells in penumbra of spinal cord injury lesion. *J. Neurosci. Res.* 2000;61:146-150
- 26-Resnick DK, Graham SH, Dixon CE et al. Role of cyclooxygenase-2 in acute spinal cord injury. *J. Neurotrauma* 1988;15:1005-1013
- 27-Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J et al. COX-2 a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 1996;93:2317-2321
- 28-Mocchetti I, Wrathall JR. Neurotrophic factors in central nervous system trauma. *J. Neurotrauma* 1995;12:853-870
- 29-Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol. Rev.* 1996;76:319-370
- 30-Merrill JE, Ignaro LJ, Sherman MP et al. Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J. Immunol.* 1993;151:2132-2140
- 31-Ghirnikar RS, Lee YL, Eng LF. Chemokine antagonist infusion attenuates cellular infiltration following spinal cord contusion injury in rat. *JNeurosci* 2000;59:63-73
- 32-Oleksnfr Ekshyyan and Tak Yee Aw. Apoptosis Akey in Neurodegenerative Disorder. *current Neurovascular Res.* 2004;1:355-371
- 33-K. Whalley, P. O'Neill. Changes in response to spinal cord injury with development:vaskularization, hemorrhage and apoptosis. *Neuroscience* 137 2006:821-832

- 34-Rivlin AS, Tator CH: Effect of vasodilators and myelotomy on recovery after acute spinal cord injury in rats. *J. Neurosurg* 1979;50:349-352
- 35-Reier PJ, Stokes BT, Thomson FJ, et al: Fetal cell grafts into resection and contusion/compression injuries of the rat and cat spinal cord. *Exp Neurol* 1992;115:177-188
- 36-Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR: Methylprednisolone or tirilazad mesylate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury randomized controlled trial. *J. Neurosurg* 89(5):699-706, 1998
- 37-Greene KA, Marciano FF, Sonntag VK: Pharmacological management of spinal cord injury. *J Spinal Dis* 9:355-366, 1996
- 38-Christian G, Laurent V, Venancu L: Intercellular calcium signaling and gap junctional communication in astrocytes. *glia* 1998;24:50-64
- 39-Martinez-Arizala A, Gren BA: Hypothermia in spinal cord injury. *J Neurotrauma* 9:supp 2, 497-505, 1992
- 40-Wagner FC, Jr: Injuries to cervical spinal cord ch. 80, neurosurgery, 3d ED. Vol:4, ED. by: Youman S, Gulan R, W. B. Saunders comp. Philadelphia, London/Toronto/Montreal Sydney Tokyo pp:2378, 1990
- 41-Martinez Arizala A, Gren BA, Bunge RP: Experimental spinal cord injury: Pathophysiology and treatment, in Rothmann RH, Simeone FA (eds): *The spine*, Philadelphia/London/Toronto: WB Saunders, 1992, pp1247-76
- 42-Baysefer A, Erdoğan E, Kahraman S: Effect of mannitol in experimental spinal cord injury: An ultrastructural and electrophysiological study. *Neurology India*:2003;51:350-354
- 43-Rivlin AS, Tator CH: Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol* 10:39-43, 1978
- 44-Ikeda Y, Long DM: The molecular basis of brain injury and brain edema; The role of oxygen free radicals. *Neurosurgery* 27:1-11, 1990.
- 45-Sonntag VKH, Douglas RA: Management of spinal cord trauma. *Neurosurgery clinics of North America* 1:729-750, 1990.

TEŞEKKÜR

Nöroşirürji kliniğinde;

Tezimi hazırlamamda bana yardımcı olan saygıdeğer hocam Prof.Dr.Ertuğ ÖZKAL'a teőekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca , bilgi ve tecrübeleriyle bana her zaman yardımcı olan baőta saygıdeğer hocam merhum Prof.Dr.Osman Acar olmak üzere tüm hocalarıma, kıdemlilerime, yakın dostluk ve desteklerini gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimde kullandığım parametrelerde bana yardımcı olan Dr.Hatice TOY'a Dr.İdris Mehmetođlu'na teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eőime tüm özveri ve desteklerinden dolayı teőekkürlerimi sunarım.