



**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ BALCALI HASTANESİ  
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI MODELİNDE  
AGMATİN'İN NÖROPROTEKTİF ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Serkan DİRİL**

**ADANA 2013**



**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ BALCALI HASTANESİ  
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI MODELİNDE  
AGMATİN'İN NÖROPROTEKTİF ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Serkan DİRİL**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Faruk İLDAN**

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF2013LTP15 no lu proje olarak desteklenmiştir.

**ADANA 2013**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince beni her zaman destekleyen tez danışmanım Prof.Dr. Faruk İLDAN ile birlikte Anabilim Dalımızın bütün öğretim üyelerine sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Deneysel çalışmam sırasında birlikte çalıştığım değerli hocam Doç.Dr. Derviş Mansuri YILMAZ'a , Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından Prof.Dr. Sait POLAT ve Uzm.Dr. Leman SENCAR'a, Biyokimya Anabilim Dalından Prof.Dr. Abdullah TULİ ve Arş.Gör.Dr. Duygu Düzgünce BOĞA'ya, DETAUM sorumlu hekimi Yrd.Doç.Dr. Kenan DAĞLIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, başta sorumlu hemşirelerimiz Ayşe ADIKUTLU ve Alkan ABEDİ ile birlikte tüm hemşirelerimize, poliklinik, ameliyathane, servis ve yoğunbakım çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Serkan DİRİL**

# İÇİNDEKİLER

|                                                                                         |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                                           | I    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                       | II   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                   | V    |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                                   | VI   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                           | VII  |
| ÖZET .....                                                                              | VIII |
| ABSTRACT.....                                                                           | X    |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                                                   | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                 | 3    |
| 2.1 Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi .....                                             | 3    |
| 2.2. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi .....                                      | 4    |
| 2.2.1. Birincil Hasar.....                                                              | 4    |
| 2.2.2. Sekonder Hasar.....                                                              | 6    |
| 2.2.2.1. Vasküler Mekanizmalar ve Endotel Hasarı .....                                  | 8    |
| 2.2.2.1.1. Sistemik Vasküler Etkiler .....                                              | 8    |
| 2.2.2.1.2. Lokal Vasküler Etkiler .....                                                 | 8    |
| 2.2.2.1.3. Endotel Hasarı .....                                                         | 9    |
| 2.2.2.2. Biyokimyasal Değişiklikler .....                                               | 10   |
| 2.2.2.2.1. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonu.....                              | 10   |
| 2.2.2.2.2. Eksitotoksitite.....                                                         | 12   |
| 2.2.2.2.3. Opiat Reseptörleri .....                                                     | 14   |
| 2.2.2.3. İyonik Mekanizmalar: K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Ca <sup>+2</sup> ..... | 14   |
| 2.2.2.3.1. Potasyum Kanalları: .....                                                    | 14   |
| 2.2.2.3.2. Sodyum Kanalları: .....                                                      | 15   |
| 2.2.2.3.3. Kalsiyum Kanalları: .....                                                    | 15   |
| 2.2.2.4. Enflamasyon Cevabı .....                                                       | 16   |
| 2.2.2.5. Apoptoz.....                                                                   | 16   |
| 2.3. Spinal Kord Hasarının Patolojisi.....                                              | 17   |
| 2.3.1. Akut Faz (Hemorajik Nekroz).....                                                 | 18   |
| 2.3.2. Subakut Faz .....                                                                | 18   |

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.3. Geç Faz.....                                               | 19 |
| 2.4. Modern Farmakoterapi Çalışmaları .....                       | 20 |
| 2.4.1. Kortikosteroidler.....                                     | 20 |
| 2.4.2. 21-Aminosteroidler (Lazoroidler) .....                     | 22 |
| 2.4.3. Opioid reseptör antagonistleri .....                       | 22 |
| 2.4.4. Gangliozidler .....                                        | 23 |
| 2.4.5. Tirotropin Salıcı Hormon (TRH) ve TRH analogları.....      | 23 |
| 2.4.6. Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar .....      | 24 |
| 2.4.7. Kalsiyum Kanal Blokörleri.....                             | 24 |
| 2.4.8. Sodyum Kanal Blokörleri ve Magnezyum .....                 | 24 |
| 2.4.9. Araşidonik Asit Metabolizması Modülatörleri.....           | 25 |
| 2.4.10. Diğer Tedavi Denemeleri .....                             | 25 |
| 2.4.11. Agmatin .....                                             | 26 |
| 2.4.11.1. Agmatin'in Yapısı ve Fonksiyonları.....                 | 26 |
| 2.4.11.2. Agmatin'in Etkileri .....                               | 28 |
| 3.MATERYAL VE METOD.....                                          | 30 |
| 3.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi ve Gruplara Ayrılması..... | 30 |
| 3.2. Anestezi.....                                                | 30 |
| 3.3. Operasyon .....                                              | 30 |
| 3.4. Elektron Mikroskopik Değerlendirme .....                     | 31 |
| 3.5. Biyokimyasal Değerlendirme.....                              | 32 |
| 3.6. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi .....              | 33 |
| 3.6.1. Eğik Düzlem (İnclined Plane) Testi .....                   | 33 |
| 3.6.2. Klinik Motor Muayene .....                                 | 33 |
| 3.7. İstatistik .....                                             | 34 |
| 4.BULGULAR.....                                                   | 35 |
| 4.1. Elektron Mikroskopik Bulgular .....                          | 35 |
| 4.1.1. I. Grup.....                                               | 35 |
| 4.1.2. II. Grup .....                                             | 38 |
| 4.1.3. III. Grup .....                                            | 42 |
| 4.1.4. IV. Grup.....                                              | 46 |
| 4.2. Biyokimyasal Bulgular.....                                   | 50 |
| 4.3. Fonksiyonel Değerlendirme .....                              | 52 |

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| 4.3.1. Inclined Planed Pestinin Değerlendirilmesi ..... | 52 |
| 4.3.2. Motor Fonksiyon Skorlaması .....                 | 53 |
| 5. TARTIŞMA .....                                       | 54 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                               | 59 |
| KAYNAKLAR .....                                         | 61 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Agmatin'in kimyasal yapısı .....                                                     | 27 |
| Şekil 2. Agmatin ve ilişkili moleküllerin metabolik yolları.....                              | 28 |
| Şekil 3: I. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....        | 36 |
| Şekil 4: I. Gruptan elde edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....   | 37 |
| Şekil 5: II. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....       | 39 |
| Şekil 6: II. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.<br>.....     | 40 |
| Şekil 7: II. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....       | 41 |
| Şekil 8: III. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....      | 43 |
| Şekil 9: III. gruptan edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....      | 44 |
| Şekil 10: III. gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....     | 45 |
| Şekil 11: IV. Gruptan elde edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü..... | 47 |
| Şekil 12: IV. Gruptan elde edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü..... | 48 |
| Şekil 13: IV. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik<br>görünümü.....      | 49 |
| Şekil 14. MDA Değerleri .....                                                                 | 50 |
| Şekil 15. SOD Değerleri.....                                                                  | 51 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Deneyisel omurilik travma modelleri .....                                                | 4  |
| Tablo 2. Omurilik yaralanmasının patofizyolojisindeki primer ve sekonder hasar mekanizmaları..... | 7  |
| Tablo 3: Gruplardaki MDA sonuçları ve ortalama değerleri.....                                     | 50 |
| Tablo 4: Gruplardaki 1, 7 ve 14. Günlerdeki Inclined Plane Dereceleri Değerlendirilmesi .....     | 52 |
| Tablo 5: Gruplardaki 1, 7 ve 14. Günlerdeki Motor Fonksiyon Skorları Değerlendirilmesi.....       | 53 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

|               |                                             |
|---------------|---------------------------------------------|
| <b>ADC</b>    | :Arginin Dekarboksilaz                      |
| <b>APAF-1</b> | :Apopitoz Proteaz Aktive Edici Faktör-1     |
| <b>ATP</b>    | :Adenozin Trifosfat                         |
| <b>CPP</b>    | :3-propyl-l-phosphonic acid                 |
| <b>DAO</b>    | :Diamin Oksidaz                             |
| <b>DNA</b>    | :Deoksiribonükleik Asit                     |
| <b>EAA</b>    | :Ekstibatör Aminoasit                       |
| <b>GER</b>    | :Endoplazmik Retikulum                      |
| <b>MDA</b>    | :Malondialdehit                             |
| <b>MK801</b>  | :Dizocilpine                                |
| <b>NASCIS</b> | :The National Acut Spinal Cord Injury Study |
| <b>NMDA</b>   | :N-Metil D-Aspartat                         |
| <b>NO</b>     | :Nitrik Oksit                               |
| <b>NOS</b>    | :Nitrik Oksit Sentaz                        |
| <b>PAF</b>    | :Platelet Aktive Edici Faktör               |
| <b>PARS</b>   | :Poly-ADP Riboz Sentetaz                    |
| <b>SOD</b>    | :Süperoksid Dismutaz                        |
| <b>SSAT</b>   | :Spermin Spermidin N-açıl Transferaz        |
| <b>SSS</b>    | :Santral Sinir Sistemi                      |
| <b>TM</b>     | :Tirilazad Mestilat                         |
| <b>TRH</b>    | :Tirotropin Salıcı Hormon                   |

## ÖZET

### **Deneyisel Omurilik Yaralanması Modelinde Agmatinin Nöroprotektif Etkisinin Araştırılması**

Medulla spinalis yaralanması insidansı yüksek olmakla birlikte özellikle genç nüfusta görülmesi toplum üzerinde olumsuz etki bırakmaktadır. Toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen ciddi bir nörolojik problemdir. Omurilik yaralanmasından sonra omuriliği hasara uğratan primer ve sekonder yaralanma olarak iki mekanizma vardır . Primer yaralanma travma anında olan hasardır. Sekonder yaralanma ise, oluşan primer yaralanmanın başlattığı ve bunun sonucunda saatler içinde, metabolik ve biyokimyasal nedenlerle oluşan hasardır. Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katokolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apopitotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır. Hasardan hemen sonra lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı bilinmektedir. Malondialdehid (MDA) santral sinir sisteminde lipid peroksidasyonunun temel yıkım ürünüdür. Poliansatüre serbest yağ asitlerinin yıkılmasından oluşur ve lipid peroksidasyonunun boyutunu belirlemek için elverişli bir gösterge olarak kullanılmaktadır. SSS'de SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına yatkındır. Aerobik canlılarda süperoksitler SOD tarafından katalizlenir .SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez. Travmatik spinal kord hasarında NMDA reseptör aktivitesindeki artışın, intrasellüler  $Ca^{+2}$  artışı ve daha birçok mekanizma ile gecikmiş sekonder hasarda rol oynadığı bulunmuştur. Sitosolik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonundaki artış birçok doku tipinde hücre ölümünün son ortak yolu olarak belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda NMDA reseptör blokajının travmatik ve iskemik modellerde sekonder hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, deneyisel omurilik yaralanması sonrası gelişen ikincil hasardan korumak amacıyla kullanılan selektif NMDA reseptör antagonisti olan Agmatinin biyokimyasal, histopatolojik ve motor fonksiyonlardaki iyileşme üzerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu amaçla 40 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan; sadece laminektomi uygulanıp herhangi bir cerrahi işlem uygulanmayan grup, laminektomi sonrası spinal korda anevrizma klibi uygulanan tedavisiz grup, laminektomi sonrası spinal korda anevrizma klibi uygulandıktan sonra 50mg/kg dozunda Agmatin tedavisi uygulanan grup ve laminektomi sonrası spinal korda anevrizma klibi uygulandıktan sonra 100mg/kg dozunda Agmatin tedavisi uygulanan grup olarak, her grupta 10 sıçan olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Denekler 14 gün izlendi. Elektron mikroskopi incelemesi ve biyokimyasal değerlendirme için 14. gün spinal kord örnekleri alındı. Deneklerin fonksiyonel iyileşmeleri 1, 7 ve 14. günlerde değerlendirildi.

Değerlendirmeler sonucunda tedavisiz travma grubundaki MDA değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiği, tedavi verilen grupların MDA değerlerinin tedavisiz travma grubuna göre anlamlı azalma gösterdiği izlenmiştir. Tedavisiz travma grubuna ait SOD seviyesi, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında , SOD seviyesinin bu grupta anlamlı

azalma gösterdiği saptandı. 100mg/kg Agmatin tedavisi uygulanan grup, tedavisiz travma grubu ve 50mg/kg Agmatin tedavisi uygulanan grup ile karşılaştırıldığında SOD seviyesinin anlamlı olarak arttığı dikkat çekti. İzlem süresince 1. ve 2. haftada tedavi grubundaki inclined plane dereceleri tedavisiz travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Travma uygulanıp tedavi verilen sıçanların eğik düzlem test sonuçlarında birinci haftadan itibaren artış görülmeye başlandı. 100mg/kg Agmatin tedavisi uygulanan grubun 1. haftadaki motor fonksiyon skorları tedavisiz travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görüldü. 2.haftada tedavi gruplarının motor fonksiyon skorları tedavisiz travma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Travma uygulanıp tedavi verilen sıçanların motor fonksiyon skorlarında birinci haftadan itibaren artışlar görülmeye başlandı. Histopatolojik incelemede tedavisiz travma grubuna göre Agmatin tedavisi verilen gruplarda gri ve beyaz cevherde ödem ve hemorajik alanların bu grupta da yer aldığı, bununla birlikte bu değişikliklerin diğer tüm deney gruplarına oranla azalmış olduğu görüldü. Hücresel düzeydeki yapıların korunmuş olduğu, daha az dejeneratif değişiklikler gösterdiği görüldü.

Sonuç olarak; tedavi gruplarında reaktif oksijen ürünlerine karşı hücresel savunma enzimlerinden biri olan SOD seviyelerinde artma ve lipit peroksidasyonunda önemli bir gösterde olan MDA seviyelerinde azalma saptandı. Eğik düzlem testi ve Drummond Moore kriterleri kullanılarak yapılan klinik motor fonksiyon değerlendirmelerinin istatistik sonuçları eklendiğinde Agmatinin nöroprotektif bir ajan olabileceği, tedavi protokollerinde yer alabileceği düşünüldü.. Ancak Agmatinin etkisini gösterecek yeni klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Agmatin, Spinal kord yaralanması, Süperoksit dismutaz

## ABSTRACT

### **Research of the Agmatine's Neuroprotective Effects in Experimental Spinal Cord Injury Model**

Medulla Spinalis injury has incidentally high rate, and therewithal it's diagnose on young population leaves adverse effects on the public. It is a problem that deeply affects the public as physical, psychosocial, and economical. In Spinal Cord injury incident, there is two separate mechanism that harms the Spinal Cord as primer damages and the seconder damages. Primer damages are the wounds which formed at the trauma trice. And, seconder damages are the injuries that started by primer damages which by developed with metabolic and biochemical reasons in first a couple of hours afterwards the actual trauma.

Aim of the preventing seconder injuries on Spinal Cord injuries are: Glutamatergic, Colinergeric and Catecolinergeric Neurotransmission systems, reproduction of free radicals, Lipid Peroxidation, Calcium and the other ion channels, growth factors, Neurotrophic factors, Inflammation process, Endogenous Opioid receptors, enzymes, Apoptotic cell death and regeneration mechanisms. It is a known fact that Lipid Peroxidation products are escalates right after the taken damage. Malondialdehyde (MDA) is the basic extermination product of the Lipid Peroxidation in central nervous system. It's consists of Polyunsaturated free fatty acids exterminate, and, it's also utilizes as a favorable indicator for measuring the Lipid Peroxidation's extents. Minimum rate activities of SOD, Cathalase and Glutathione Peroxidase on SSS, causes the inclined free radical damage. Superoxide's are catalyzed by SOD in the aerobic creatures. With the reason of the SOD enzymes high rate of catalytic effect, there could be no Superoxide deposition occurs in the cells. It found that escalate of NMDA receptor activity in traumatic Spinal Cord injury takes major roles in intracellular  $Ca^{+2}$  increase, and furthermore mechanisms with the late seconder damage. Increase of Cytosolic  $Ca^{+2}$  concentration is known as a mutual way for multiple cell types decease. Past studies shown that blockage of the NMDA receptor has protecting benefits on seconder damages in traumatic and the ischemic models. In this study, I experimented to collect data from selective NMDA receptor antagonist Agmatine's —that utilizes to prevent seconder damages— healing process on Histopathological and motor functions.

With this intention, 40 Wistar Albino type of male rats used in 4 different group by 10 rats each as: - First group, which with only practiced laminectomy without any surgical process. - Second group, which medically untreated and aneurysm clip used on they're Spinal Cord after the laminectomy practice. - Third group, which aneurysm clip used on they're Spinal Cord after the laminectomy practice and then treated with Agmatine as 50mg/kg dosage.

- Fourth group, which aneurysm clip used on they're Spinal Cord after the laminectomy practice and then treated with Agmatine as 100mg/kg dosage. These subjects are examined 14 days. After the 14th day, Spinal Cord examples are collected to study on electron microscope. Subjects functional healing process' evaluated in 1th, 7th and 14th days afterwards. In evaluation results, we explored that:

Second, medically untreated groups MDA rates significantly escalated according to control group; in the other hand, 3th and 4th treated groups MDA rates are significantly decreased according to second, medically untreated group. SOD rate is significantly dropped in 2nd medically untreated group when its compared to other three groups SOD levels. When the 4th 100mg/kg Agmatine treated groups SOD level compared with the medically untreated 2nd group and 3th 50mg/kg Agmatine treated groups, we found that its SOD level is significantly escalated. In the examining process, treated groups inclined plane degrees were statistically and significantly higher then the medically untreated 2nd group at the first and second weeks. However, 3th and 4th of trauma practiced and then medical treat given groups inclined plane test results were escalated after the first week. 4th 100mg/kg Agmatine treated groups first weeks of motor function scores were statistically and significantly higher than the 2nd medically untreated group. In second week, 3th and 4th medically treated groups motor function scores were statistically and significantly higher than the 2nd medically untreated group. The trauma practiced and then medical treat given 3th and 4th groups motor function scores were escalated after the first week. In histopathological study, founded that Agmatine treated groups had edema and haemorrhagic areas in they're grey and white matters according to 2nd medically untreated trauma group, which; it's examined that these varieties were seen only on these groups and they are reduced largely in the other study groups. Cell level structures were protected and less degenerative differences shown.

As a result: SOD enzyme—which is a preservative element for reactive oxygen products— levels were increased and MDA levels were decreased—which, it is one of the Lipid Peroxidation's important indicator—in medically treated groups. When the clinic motor function valuations statistic results add, which it's held by using the inclined plane test and Drummond-Moore criterias, it turns out that Agmatine can be a neuroprotective agent, and its implied that it could be take a place in the treat protocols... Yet, new clinic studies are needed to bring out Agmatine's whole effect.

---

Keywords : Agmatine, Spinal cord injury, Superoxide dismutase

---

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Medulla spinalis yaralanması insidansı yüksek olmakla birlikte özellikle genç nüfusta görülmesi toplum üzerinde olumsuz etki bırakmaktadır. Toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen ciddi bir nörolojik problemdir. Akut travmatik omurilik yaralanmasının dünyada yıllık görülme sıklığı milyonda 15-40 olarak bildirilmiştir (1). Kuzey Amerika’ da 2002 yılı verilerine göre , her yıl ortalama 10.000, İngiltere’ de 2004 verilerine göre yıllık 700 yeni akut omurilik yaralanma olgusu bildirilmektedir. Ülkemizde ortalama yılda 1600-2000 olgu bildirilmektedir (2). Akut omurilik yaralanmaları en sık motorlu araç kazaları, spor yaralanmaları, iş kazaları, düşmeler ve şiddet olayları sonucu ortaya çıkmaktadır (3,4). Olguların yaklaşık yarısında komplet nörolojik defisit gelişirken; bunların % 54’ü tetraplejik, % 46’sı ise paraplejiktir (5). Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hücrel hasar, omurilikteki hasarın zaman içinde artması ve klinik kötüleşme ile sonuçlanır. Klinik tedavinin asıl amacı ikincil hasar kaskadının durdurulması veya yavaşlatılmasıdır. Tedavi seçenekleri belirlenebilmesi açısından cerrahi, farmakolojik ve fizyolojik metodları içeren çeşitli deneysel araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücrel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir. Geliştirilmeye çalışılan modern farmakolojik tedavi protokolleri, ilerleyici nöron hasarının azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekeli en aza indirmeyi amaçlamaktadır.

Omurilik yaralanmasından sonra omuriliği hasara uğratan primer ve sekonder yaralanma olarak iki mekanizma vardır .

Primer yaralanma travma anında olan hasardır. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon ve penetran yaralanmalar, nöral elemanlarda veya omurilik damarlarında gerilme ya da yırtılmaya neden olur (3,6). Primer yaralanmanın derecesi, yaralanmaya neden olan gücün genliğine, etki süresine ve omurilik tarafından absorbe edilen enerji miktarına göre değişir. Omurilik yaralanmasını takiben spinal şok ortaya çıkabilir. Ortaya çıkan spinal şokun şiddeti yaralanmayı oluşturan kuvvetin genliğine ve yaralanmanın olduğu seviyeye göre değişir (9). Spinal şok, hızla destek tedavisi gereken bir durumdur. Hipotansiyonun önlenmesi, bu amaçla vazopressör ajanların kullanılması, sıvı tedavisinin dikkatli ve yeterli

yapılması iskemik omurilik hasarını ve buna bağlı gelişecek olan sekonder hasarlanmayı da azaltır (3,9,10).

Sekonder yaralanma ise, oluşan primer yaralanmanın başlattığı ve bunun sonucunda saatler içinde, metabolik ve biokimyasal nedenlerle oluşan hasardır (6). Sekonder hasar görüşü ilk olarak 1911 yılında Allen tarafından tanımlanmış ve travmatik spinal kord hasarı sonrası oluşan hemorajik nekrotik materyalin içindeki toksik bir ajanın sekonder harabiyete neden olduğu düşünülmüştür (7,8). Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katokolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır.

Bu çalışmada, deneysel omurilik yaralanması sonrası gelişen ikincil hasardan korumak amacıyla kullanılan iNOS inhibitörü ve selektif NMDA reseptor antagonisti olan Agmatinin biyokimyasal, histopatolojik ve motor fonksiyonlardaki iyileşme üzerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi

Akut omurilik yaralanması modern toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen, ciddi ve harap edici bir nörolojik problem olması ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememesi nedeniyle halen önemini devam ettirmektedir (11,12). Spinal kordun hasarı ve diğer hastalıklarının tanı ve tedavisi hakkında çalışmalar antik döneme kadar uzanmaktadır (13). Vertebromedüller yaralanmalar hakkında ilk yazılı belge günümüzden beş bin yıl önce İmhotep tarafından yazıldığı düşünülen Edwin Smith cerrahi papirüsüdür. Bu belgede muhtelif olgular değerlendirilmekte ve hastalar tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmaktadır (14). Tedavisi umutsuz olguların kliniği günümüzde komplet omurilik lezyonu tanımına uymaktadır: “Boynunda bir çıkığı olup kollarını ve bacaklarını fark etmeyen, ereksiyon ve spontan ejakulasyonu olan, idrarını damla damla yapan, gözleri kızarmış, eti rüzgârlanmış olgu umutsuz olgudur, tedavisi başarılamaz”(15). Hipokrat paraplejiyi tarif etmiş, ancak omurilik fonksiyonunu açıklamaktan daha çok, travma sonrası omurga deformitelerinin düzeltilmesi amacıyla traksiyon uygulanmasını sağlamıştır. Galen ise deneysel olarak kesilen medulla segmentinin altında duyu ve hareket kaybı olduğunu göstermiştir (16). 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 (17). Günümüze kadar insan omurilik yaralanmasını taklit edebilecek, tanı ve tedavide gelişmeler sağlanmasında yardımcı olacak, birçok deneysel omurilik yaralanma modeli geliştirilmiştir. 1911 yılında 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. Bu çalışma daha önce yapılmış olan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ayrıca sekonder hasar konseptinin de öncülüğünü yapmıştır (18,19). 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 (13). Bu modellerle birlikte birçok deneysel omurilik hasarı modeli geliştirilmiştir (20).

Omurilik yaralanma modellerinin tarihsel gelişimi Tablo 1’de görülmektedir

**Tablo 1. Deneysel omurilik travma modelleri**

| <b>Araştırmacı</b> | <b>Tarih</b> | <b>Model</b>                     |
|--------------------|--------------|----------------------------------|
| Galen              | 2. yüzyıl    | Omurilik insizyonu               |
| Watson             | 1891         | Köpekleri yüksekte düşürme       |
| Allen              | 1911         | Omurilik üzerine ağırlık düşürme |
| Mc Veigh           | 1923         | Omurilik üzerine parmakla basma  |
| Tarlov             | 1953         | Epidural aralıkta balon          |
| Fontaine           | 1954         | Klemp ile omuriliği sıkıştırma   |
| Rivlin             | 1978         | Omuriliğe anevrizma klibi        |
| Watson             | 1986         | Omuriliğe lazer ile insizyon     |
| Benzel             | 1990         | Omurgayı klemp ile sıkıştırma    |
| Stokes             | 1990         | Elektromekanik kontüzyon         |

## **2.2. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi**

### **2.2.1. Birincil Hasar**

Omurilik yaralanmalarında travmanın olduğu anda ortaya çıkan ve omuriliğin kompresyon, kontüzyon veya laserasyonu ile seyreden duruma primer yaralanma adı verilir. En sık kontüzyon tipi yaralanmalar görülmektedir (3,22,23). Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi, nöral elemanların kendisinde veya omurilik damarlarında gerilme veya yırtılmaya sebep olur. Primer yaralanmanın derecesi, yaralanmaya neden olan gücün genliğine, etki süresine ve omurilik tarafından absorbe edilen enerji miktarına göre değişir (9). Omuriliğin uzun süre bası altında kalması, nörolojik hasarın daha büyük ve prognozunun daha kötü olmasına yol açar (3). 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 (24). Konus medullarisle ilişkisine göre yaralanmanın anatomik yerleşimi de kısmen prognostik öneme sahip gibi görünmektedir. Kauda ekuina yaralanmaları, omuriliğin kendisine göre daha iyi bir iyileşme prognozuna sahiptir, zira alt motor nöronlar travmaya daha dirençlidirler.

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 (12).

İkinci mekanizma olan transient kompresyon ile yalnız darbe, altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerde hiperekstansiyon yaralanmalarında görülür (12). 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 spinal kord yaralanmasına yol açan bir sendromdur (12).

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 (12).

Omurilik yaralanmasını takiben spinal şok ortaya çıkabilir. Ortaya çıkan spinal şokun şiddeti yaralanmayı oluşturan kuvvetin genliğine ve yaralanmanın olduğu seviyeye göre değişir (9). Spinal şok döneminde bradikardi ve hipotansiyon günler hatta haftalar boyunca sürebilir. Spinal şok, hızla destek tedavisi gereken bir durumdur. Hipotansiyonun önlenmesi, bu amaçla vazopressör ajanların kullanılması, yeterli sıvı tedavisinin yapılması

iskemik omurilik hasarını ve buna bağılı gelişecek olan sekonder hasarlanmayı da azaltır (3,9,10).

### **2.2.2. Sekonder Hasar**

Akut yaralamadan sonra omurilikte kanama, ödem, aksonal ve nöronal nekroz kist formasyonu ve enfarktın takip ettiğı demiyelinizasyon gibi patolojik değışiklikler oluşur (6,25).

Omurilik yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, omurilikleri yaralanmış hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya atılmıştır (26). Bu fenomenin açıklanması için, çeşitli patofizyolojik mekanizmalar öne sürölerek 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 değışiklikler oluşur. Ducker bu patolojik değışikliklerin zamana bağılı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (27). Nemecek bu ciddi nekrozu "otodestruksiyon" olarak tanımlamıştır (28). Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji değildir. Beyindeki inen yolların nöronları omurilikteki lokal yaralanmadan (aksotomi) etkilenerek atrofi, apopitozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergilerler.

**Tablo 2. Omurilik yaralanmasının patofizyolojisindeki primer ve sekonder hasar mekanizmaları (Tator C.H.dan, 21)**

|                                                                             |
|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>Primer Yaralanma Mekanizmaları</b>                                       |
| Akut kompresyon                                                             |
| Kurşun                                                                      |
| Distraksiyon                                                                |
| Laserasyon                                                                  |
| Kesilme                                                                     |
| <b>Sekonder Yaralanma Mekanizmaları</b>                                     |
| <b>Sistemik etkiler (Nörojenik şok)</b>                                     |
| 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                                                       |
| <b>Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasar</b>                       |
| Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma                                      |
| Hemoraji: özellikle gri cevherde                                            |
| Mikrodolaşımda kayıp : mekanik, tromboz, vazospazm                          |
| <b>Biyokimyasal değişiklikler</b>                                           |
| Serbest radikal üretimi                                                     |
| Lipid peroksidasyon                                                         |
| Eksitotoksisite :glutamat                                                   |
| Nörotransmitter birikimi                                                    |
| Endojen opioidler                                                           |
| Katekolaminler :noradrenalin, dopamin                                       |
| Araşidonik asit salınımı                                                    |
| Eikazanoid üretimi                                                          |
| Prostaglandinler                                                            |
| Sitokinler                                                                  |
| <b>Elektrolit kaymaları</b>                                                 |
| İntrasellüler kalsiyumda artış                                              |
| Ekstrasellüler potasyumda artış                                             |
| Sodyum geçirgenliğinin yükselmesi                                           |
| <b>Enflamatuvar cevap</b>                                                   |
| Serbest radikal üretimi                                                     |
| Akson yıkımı                                                                |
| Myelin artıklarının uzaklaştırılması                                        |
| Sitokinlerin salınımı                                                       |
| Glial hücre aktivasyonu                                                     |
| Oligodentrositlerde sitotoksik etkiler                                      |
| Wallerian dejenerasyon                                                      |
| <b>Ödem</b>                                                                 |
| <b>Apoptozis</b>                                                            |
| <b>Enerji metabolizmasında kayıp</b>                                        |
| Azalmış ATP üretimi                                                         |

Spinal şok, vasküler değişiklikler, hücre içi  $Ca^{+2}$  artışı, serbest radikal teorisi, endojen opioidler, enflamasyon ve apoptoz teorileri üzerinde en fazla durulan sekonder hasar mekanizmalarıdır (6,25).

### **2.2.2.1. Vasküler Mekanizmalar ve Endotel Hasarı**

Akut omurilik yaralanması sistemik vasküler etkiler ile birlikte ikincil hasara uzanan ani mikrovasküler değişiklikler oluşturur. Bu değişikliklerin ilerleyici karakteri omurilik iskemisini travmadan sonra gittikçe artırır.

#### **2.2.2.1.1. Sistemik Vasküler Etkiler**

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. Posttravmatik hipotansiyon ve azalmış kardiyak debi, sempatik tonus azalması etkilerindendir (6).

#### **2.2.2.1.2. Lokal Vasküler Etkiler**

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. İskemik bölge, gri cevherde ve buradaki hemorajiye komşu beyaz cevherde belirgindir. Gri cevheri geçerek beyaz cevhere ulaşan arteriollerdeki vazospazm ve tromboz ile sekonder hasar artar (6). 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 (21). Posttravmatik iskeminin travmadan sonra saatler içinde kötüleşmesi, erken tedavi edilmesi halinde iskeminin önlenebileceğini düşündürmektedir. Posttravmatik omurilik iskemisi travma şiddeti ile lineer korelasyon göstermektedir. Ağırlık düşürme modelinde yaralanmadan sonra beyaz cevherde hiperemi gözlenmiştir (28). Posttravmatik iskemi ile ilgili karışık düşünceler olması deneysel çalışmalarda farklı yaralanma şiddeti, farklı örneklem bölgesi, farklı ortalama arterial basınç ve farklı hayvan modelleri

kullanılmasından kaynaklanabilir. Normal omurilikte, ortalama arterial kan basıncındaki değişikliklere rağmen omurilik kan akımını sabit tutan otoreğulasyon vardır. Omurilik yaralanmasından sonra bu otoreğulasyon bozulur ve sistemik hipotansiyon nedeniyle omurilik kan akımı azalır. Ortalama arter basıncının 160 mm Hg'ye yükseltilmesi omurilik kan akımını artırmaz ancak yaralanma bölgesinin komşu bölgelerinde hiperemiye neden olur (6). Kobrine ve arkadaşlarının normal omurilikte iskeminin aksonal iletiye etkisi olmadığını göstermesi ile posttravmatik iskeminin önemi azalmış gibi görünse de, yaralanmış omurilik aksonlarının normal aksonlara göre iskemiye toleranslarının daha az olduğunu gösteren kanıtlar vardır (29). Omurilik yaralanma derecesi ve posttravmatik iskemi derecesi ile motor ve somatosensorial uyarılmış potansiyaller arasında lineer ilişkinin olduğunu bildirilmesi, posttravmatik iskeminin akson fonksiyonunun bozulması ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (30).

#### **2.2.2.1.3. Endotel Hasarı**

Posttravmatik iskeminin kesin nedeni halen anlaşılamamıştır. Yaralanmayı oluşturan mekanik travma, vazoaktif aminlerin salınımı, hemoraji, trombozis, platelet agregasyonu, endotel hasarı ve şişme vazospazmı tetikleyebilir. Carlos ve Harlan endotel hasarının aktive olmuş nötrofiller tarafından olduğunu öne sürmüşlerdir (31). Endotel hasarına platelet yapışması, intravasküler platelet agregasyonu, mikrovasküler oklüzyon, emboli ve vazojenik ödemin eşlik etmesi nedeni ile endotel hasarını azaltmak için antiplatelet ajanlar kullanılmıştır (31). Posttravmatik omurilik kan akımını arttırmak için pek çok ajan denenmiştir. SSS'de hücre içine kalsiyum girişinin hücre ölümünde son basamaklardan birinin olduğunu gösterilmesi, kalsiyum kanal blokerlerinin serebral vazospazmıda 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 (6).

## 2.2.2.2. Biyokimyasal Değişiklikler

### 2.2.2.2.1. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonu

İlk kez 1970'lerde Demopoulos tarafından ortaya atılan hipoteze göre oksijen serbest radikalleri ve ürünleri ilerleyici doku hasarına neden olurlar (32). 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 ( $OH^\cdot$ ), perhidroksi radikali ( $HO_2^\cdot$ ) 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. Ortamda demir ( $Fe^{++}$ ) gibi katalizörlerin varlığında hidrojen peroksit hidroksil radikale dönüşür (33).

Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller enzimatik antioksidan mekanizmalar (sitokrom oksidaz sistemi, SOD'ler, katalazlar, glutatyon peroksidazlar) ya da nonenzimatik antioksidanlar ( toko-ferol, karoten, glutatyon, askorbik asit, ürat, sistein, bilirubin, albumin), ya da metal bağlayıcılar (seruloplazmin, transferrin, laktoferrin) ile inaktive edilerek doku hasardan korunur. Hücresel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. 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. SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez. Süperoksit, hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini ( $HO_2^\cdot$ ) oluşturur. Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve antioksidanları oksitleyebilir (34,35). SSS askorbat, glutatyon ve tokoferol gibi antioksidan mekanizmalara yüksek oranda sahiptir (36). 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  $Fe^{+2}$  nin otooksidasyonu olup, ikincisi ise  $Fe^{+2}$  nin  $H_2O_2$  varlığında okside olup hidroksil iyonu oluşumuna sebep olmasıdır (37).

Demirin katalizlediği membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu neticesinde membran parçalanır ve hücre ölür. Ayrıca serbest oksijen radikallerinin yaptığı endotel hasarına bağlı olarak kan omurilik bariyeri bozulur. Bunun sonucunda yaralanma bölgesine zararlı maddelerin birikimi olur. SSS'de SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına yatkındır. Ayrıca serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilen doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile serbest radikal oluşma reaksiyonlarını katalizleyen askorbik asit ve demirin fazla miktarda olması, SSS'nin travmatik ve iskemik yaralanmadan daha çok etkilenmesine neden olur.

Serbest yağ asitlerinin serbest radikal ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipid peroksidasyonu, radikallerin ortaya çıkması ve doymamış yağ asitlerinin bir hidrojen atomu alması ile başlar. Oksijen molekülü ile birleşerek peroksil radikalini oluşturur. Peroksil radikali, yağ asidinden bir hidrojen daha kopararak reaksiyonun zincir şeklinde devamına neden olur. Lipid peroksidasyonu bir kez başladığında, demir özellikle lipid hidroperoksitleri oluşumunda önemli rol oynar.  $Fe^{+2}$ ;  $Fe^{+3}$  ve demir şelatları ile reaksiyona girerek yeni radikallerin oluşmasına neden olur (37,38).

Hasardan hemen sonra lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı bilinmektedir. Malondialdehid (MDA) santral sinir sisteminde lipid peroksidasyonunun temel yıkım ürünüdür. Poliansatüre serbest yağ asitlerinin yıkılmasından oluşur ve lipid peroksidasyonunun boyutunu belirlemek için elverişli bir gösterge olarak kullanılmaktadır (110).

Santral sinir sisteminde NMDA reseptör aktivasyonun intrasellüler kalsiyum artışına bağlı olarak NOS oluşumuna öncülük ettiği düşünülmektedir (98). NOS'a bağlı NO aşırı üretimi ve peroksinitrit oluşumu; protein hasarı, lipid peroksidasyonunun artışı, DNA hasarıyla birlikte PARS(Poly-ADP riboz sentetaz) aktivasyonu ile hücresel enerji kaybı, mitokondrial elektron transport zinciri enzimlerine etki ederek mitokondrial respirasyonun durması, DNA replikasyonunun inhibisyonu ile hücre ölümüne neden olur (107).

Hücre membranında meydana gelen lipid peroksidasyonu membran lipoproteinlerinin oksidasyonu ve yapısal bütünlüğünün bozulmasına yol açarak, anormal

iyon girişiyle birlikte hücre ölümüne neden olur. Bu olayın kontrol edilememesi halinde oluşan zincir reaksiyon ile hücresel ölümün yayılması şiddetlenir (37).

#### 2.2.2.2.2. Eksitotoksitite

Glutamat santral sinir sisteminin en önemli eksitator nörotransmitteridir (12). Spesifik membran reseptorleri ile etkileşerek duysal enformasyonun iletilmesi, motor aktivite, spinal reflekslerin düzenlenmesi, hafıza ve öğrenme gibi birçok fonksiyonda önemli rol oynar (99,100).

Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve ark. tarafından tanımlanmış ve eksitotoksitite olarak isimlendirilmiştir (12,101). Bu eksitotoksititenin epilepsi, nörodejeneratif hastalıklar, travma, serebral iskemi gibi birçok nörolojik hastalıkta doku hasarını arttırdığı düşünülmektedir (101).

Eksitotoksinler tarafından tetiklenen hücre ölümü akut nöronal şişmeye öncülük eden sodyum ve klorun ve daha sonra gecikmiş hasara neden olan kalsiyumun hücre içine girmesini sağlayan spesifik reseptörler tarafından yönetilir (101). Glutamat reseptör aktivasyonu erken evrede intrasellüler sodyumun artışına, bu da sitotoksik ödem, intrasellüler asidoz ve lizise yol açar (12,101).  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATP'az mekanizmasındaki yetmezlik ise  $\text{Na}^+$  ve suyun hücre içi birikimini şiddetlendirir (12). Bir sonraki aşamada  $\text{Ca}^{+2}$  un hücre içine akımı artar, bu ise  $\text{Ca}^{+2}$  bağımlı proteaz ve lipazların aktivasyonuna yol açarak hücre membranının ve n roflamanların hasarına neden olur (102). Sonuçta; intrasellüler kalsiyum birikimi santral sinir sistemindeki toksik hücre ölümünün son ortak yolu olarak belirtilmektedir (12).

Glutamat n rotoksititesi ayrıca lipid peroksidasyonunun başlaması,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATP'az aktivitesinin inhibisyonu, doğrudan membran sodyum kanal inaktivasyonu, mitokondrial solunum enzimlerinin inhibisyonu, gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz inaktivasyonu gibi mekanizmarla nöronal ölümü şiddetlendiren, reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin meydana gelmesi ile sonuçlanan birtakım olaylar zincirini başlatır (12). Travmatik spinal kord hasarı sonrası eksitotoksititeye neden olan aşırı glutamat birikimi; hücre membran polarizasyonuna bağlı olarak sinaptik veziküllerden glutamat salınımının uyarılması ve enerji yetmezliğine bağlı glutamat geri alım mekanizmalarının yeterli çalışmamasıdır (103).

Deneysel spinal kord yaralanması sonrası medulla spinalis icersinde ekstrasellüler eksitatuvar amino asid konsantrasyonun 15 dakika sonra toksik düzeye ulaştığı gösterilmiştir (98).

Gutamat farklı farmakolojik ve elektrofizyolojik özelliklere sahip bir grup reseptör aracılığı ile aktivasyon gösterir (98).

NMDA reseptörleri Glutamik asit(glu) bağlanması sonrasında  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{+2}$ 'un hücre içine girişine,  $\text{K}^+$  'un ise hücre dışına çıkışına neden olurlar (104). NMDA reseptörünün özelliği, hem voltaj hem de ligand kapılı olmasıdır. NMDA reseptörleri tarafından oluşturulan eksitotoksitede, nöronal ölümü şiddetlendiren reaktif moleküllerin oluşması sonucu meydana gelen bir takım olaylar kaskadının başlaması söz konusudur (12). NMDA reseptör aracılığı ile  $\text{Ca}^{+2}$  düzeyinin yükselmesi sonucu, serbest radikal oluşumu, mitokondrial hasar, gen ekspresyon değişiklikleri gibi mekanizmalarla hücrel hasar şiddetlenmektedir (12,105).

Sitozolik  $\text{Ca}^{+2}$  konsantrasyonundaki artış birçok doku tipinde hücre ölümünün son ortak yolu olarak gözükmeaktadır (98).

Faden ve ark. yaptığı çalışmada spinal kord travması sonrası bu reseptör aktivasyonunun gecikmiş doku hasarını arttırdığı düşünülmüş ve reseptör blokajının tedavide yarar sağlayacağı belirtilmiştir (101).

NMDA reseptörlerinin spinal kordda eksitator nörotransmisyonunda yönetici özelliği olduğu düşünülmektedir (101).

Travmatik spinal kord hasarında NMDA reseptör aktivitesindeki artışın, intrasellüler  $\text{Ca}^{+2}$  artışı ve daha birçok mekanizma ile gecikmiş sekonder hasarda rol oynadığı bulunmuştur (101).

Sun ve Faden ağırlık düşürme yaralanmasından 4 saat sonra işaretlenmiş MK-801 (dizocilpine) bağlanmasının azaldığını göstermişlerdir (42). Travmatik beyin ve omurilik yaralanmasından sonra glutamat reseptörlerinin hızla azalması, hücrenin kendisini eksitotoksiteden koruma çabası olabilir.

Bununla bağlantılı olarak NMDA reseptör blokajının travmatik ve iskemik modellerde sekonder hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğu gosterilmiştir (54).

4-Aminobutyl guanidin'nin (Agmatin) glutamat reseptör alt grubu olan NMDA reseptörlerini selektif olarak bloke ettiği ve bu işlevinin guanidino grubu ve NMDA reseptör kanal porları ile olan ilişkisinden kaynaklandığı gösterilmiştir (78).

Omurilik yaralanmasında glutamat antagonistleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan 3-propyl-l-phosphonic acid (CPP) ve dizocilpine (MK-801) ile yapılan çalışmalar travmatik ve iskemik omurilik hasarında histolojik ve klinik iyileşmeye neden olduklarını göstermiştir (42).

#### **2.2.2.2.3. Opiat Reseptörleri**

Opiat reseptör blokajının ilerleyici doku hasarını önlemesi, ikincil yaralanma patofizyolojisinde endojen opioidlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür. Omurilik yaralanması sırasında dinorfin salınımı artar. İntratekal 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 (36). Opiat reseptör blokajının non-opioid etkileri olabilir. Opiatlar SSS'de monoamin ve serotoninerjik nörotransmitter seviyelerini hızla değiştirirler. NMDA reseptör blokörlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar verici etkisini önlemesi ile opioidlerin eksitotoksik aminoasit salınımını artırdığını ve zararlı etkilerini EAA üzerinden yaptığı gösterilmiştir (43). Opiat reseptör antagonistleri testiküler testosteron sekresyonunu artırır. Testosteron nöroprotektif olabilir, reaktif gliozisi ve astrositik proliferasyonu azaltırken, periferik sinir rejenerasyonunu hızlandırır (36). İkincil hasarın önlenmesindeki opiat reseptörlerinin bloke edilme mekanizması dolaylı ve komplekstir.

#### **2.2.2.3. İyonik Mekanizmalar: $K^+$ , $Na^+$ , $Ca^{+2}$**

##### **2.2.2.3.1. 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  $K^+$  kanalları miyelin tarafından sarılmış olarak paranodal ya da internodal bölgelerde yerleşmiştir.

Miyelin yaralandığında hızlı  $K^+$  kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli  $K^+$  denge potansiyeline yaklaşır ve aksonal ileti bloğu oluşur.

#### **2.2.2.3.2. Sodyum Kanalları:**

SSS beyaz cevher yaralanmasındaki anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur.  $Na^+$  kanallarından hücre içine  $Na^+$  akar. İntrasellüler  $Na^+$  konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca,  $Na^+ - Ca^{+2}$  değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine zararlı miktarda  $Ca^{+2}$  girişine neden olur.

#### **2.2.2.3.3. Kalsiyum Kanalları:**

Kalsiyum iyon konsantrasyonu ekstrasellüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmasında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetmezliği ve bunun neticesinde  $Na^+ - Ca^{+2}$  değiştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, bu büyük gradient farkı ile hücre içine  $Ca^{+2}$  iyon girişi olur.  $Ca^{+2}$  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. Fosfatazlar nitrik oksit sentetaz gibi diğer enzimleri aktifler, ayrıca  $Ca^{+2}$  iyon kanalları ve diğer iyon kanallarının çalışmasını düzenler (36). Hücreye  $Ca^{+2}$  girişi ve serbest radikal oluşumu eş zamanlı olur ve sinerjistik etki gösterebilir.  $Ca^{+2}$  iyonları mitokondrial respiratuar enzimlere bağlandığında elektron transportunu bozarak serbest radikal oluşmasına neden olurlar.  $Ca^{+2}$  tarafından aktive edilen fosfolipazlar ve proteazlar oksijen serbest radikalleri ile birlikte membranın yıkılmasına ve araşidonik asitin serbestleşmesine neden olur. Bundan başka, kuvvetli vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla  $Ca^{+2}$  girişine neden olurlar (36). Voltaj bağımlı  $Ca^{+2}$  kanallarının bloke edilmesinin (nimodipin, nikardipin) omurilik yaralanmasında klinik sonuçları iyileştirmezken kan akımını artırdığı gösterilmiştir (44).

#### **2.2.2.4. Enflamasyon Cevabı**

Omuriliğin travmatik yaralanması sonrası enflamasyon cevabı saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde tepe değerine ulaşır (45). Bu cevap endotel hasarı, enflamasyon mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik enflamatuar hücrelerinin göçü ve mikroglianin aktivasyonu olarak gözlemlenir. Lezyon bölgesine enflamatuar hücre infiltrasyonu iki dalga halindedir. Birinci dalgada polimorfonükleer granulosit infiltrasyonu varken, ikinci dalga monosit ve makrofajlar tarafından gerçekleştirilir. Polimorfonükleer granulositler lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infiltre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. Polimorfonükleer granulosit infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarının korelasyon göstermesi, kan içindeki kemoatraktan maddelerin bu infiltrasyonun miktarını belirlemede önemini göstermiştir. İkinci dalgada yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferik hücreler monosit/makrofaj ve mikrogliyal gruptur. Burada asıl fonksiyonun hücre debrisinin fagositozu olduğu düşünülmektedir (46). Bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, platelet-aktif edici faktör ve serotonin gibi enflamasyon mediatörleri yaralanmış omurilikte lezyon bölgesinde birikirler. Enflamatuar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku hasarının hızla ilerlemesine neden olurlar (36). Nötrofiller, nötrofil proteazlarını ve serbest oksijen radikallerini serbestleştirirler. Enflamasyonun mediatörleri endotelial lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Aktive olmuş nötrofil ve endotel hücresi arasında sıkı yapışmanın olduğu mikro çevreye, dolaşımdaki antiproteazlar ve antioksidanlar ulaşamaz. Aktive olmuş nötrofillerin başlattığı endotel hasarı ilerler ve doku hasarına neden olur (21).

#### **2.2.2.5. Apoptoz**

Travmatik omurilik yaralanmasından sonraki hücre ölümünün bir kısmından apoptoz sorumludur (47,48). Apoptoz ölen hücrenin fagositozu ile sonuçlanan, nükleer 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.

Apoptozun başlatılması için üç prototip sinyal yolu tanımlanmıştır: Bir 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. Bir kez sitokrom-c tarafından aktive edildiğinde Apaf-1 kofaktör nükleotid trifosfatlarla birlikte (d-ATP veya ATP) pro-kaspaz-9'a bağlanır ve aktifler. Böylece kaspaz-8 ve kaspaz-9 ölüm reseptörleri ve mitokondri için en önemli kaspazlardır. Yakın zaman önce endoplazmik retikulum apoptoz yolu tanımlanmıştır. Ağırlık düşürme metodu ile oluşturulan kontüzyon omurilik yaralanmasında kaspaz-8 ve kaspaz-9 gibi başlatıcı kaspazlar lezyon merkezinde 30 dakika gibi kısa bir sürede aktiflenirler. Omurilik yaralanmasının ileri evrelerinde bu kaspazlar beyaz cevherde de artmaya başlar. Springer ve arkadaşları kaspaz-3 aktivasyonunun omurilik yaralanmasından 1 saat sonra 3 katına çıktığını göstermişlerdir (49). Citron ve arkadaşları omurilik yaralanmasından sonra apoptozun en üst değerine üçüncü günde ulaştığını göstermişlerdir (50). Bu çalışmalar omurilik yaralanmasında hem ölüm reseptörlerinin hem de mitokondrial kaspaz yollarının çalıştığını göstermekle birlikte, hangi mekanizmaların bu yolları çalıştırdığı tam olarak bilinmemektedir. Bethea ve arkadaşları omurilik yaralanmasının tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) ekspresyonunu hızla arttırdığını göstermiş ve TNF- $\alpha$ 'nın ölüm sinyalini başlattığı düşünülmüştür (51). Crowe ve arkadaşları omurilik yaralanmasında oligodendrositik değişiklikleri ilk kez tanımlamışlardır (47). Omurilik yaralanmasının yayılmasında oligodendrositik apoptozun rolü olabileceği fikri ortaya atılmıştır. Emery ve arkadaşları omurilik yaralanmasından sonra oligodendrositlerde kaspaz-3 aktivitesinin artışı göstermişlerdir (48). Yakın zaman önce yapılan çalışmalar antiapoptotik ajanların nöroprotektif olabileceğini göstermiştir. Li ve arkadaşları akut omurilik yaralanmasından sonra kaspaz-1 ve kaspaz-3 inhibisyonunun lezyon boyutunu küçülttüğünü ve nörolojik iyileşmeye neden olduğunu gösterdiler (52).

### **2.3. Spinal Kord Hasarının Patolojisi**

Omurilikte travmayı takiben başlayan ikincil hasar süreci akut, subakut ve geç faz olarak sınıflanabilir. Hemoraji ve hızlı nekrozu takiben, astrositler ve mikroglia reaktif hale gelir, lezyon bölgesine inflamatuvar hücreler göç eder. Yaralanmadan haftalar sonra skar dokusu ve kavite oluşur, beyaz cevherde Wallerian dejenerasyonun değişik evreleri gözlenir (46).

### 2.3.1. Akut Faz (Hemorajik Nekroz)

Yaralanmadan sonraki ilk değişiklik omurilik gri cevher mikrovasküleritesindeki 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. Nöronlarda nekrozun ilk göstergeleri birinci saatte başlar. 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. Ön boynuz hücrelerinde arka boynuz hücrelerine göre daha erken nekroz görülür. Hem nöronlar hem de glial hücrelerde aynı zaman aralığında hücre ölümü görülür. Hücre içi kalsiyum artışı sonucu nükleazlar, 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 intramiyelinik vakuoller nedeniyledir. Bu tip miyelin değişikliğinin yayılması ışık mikroskopisinde beyaz cevhere sünger görüntüsü verir. Bu aksonal değişiklikler yaralanma merkezinden radial olarak yayılıp birkaç günde pial yüzeye ulaşır (53).

### 2.3.2. Subakut Faz

Aktive olmuş mikroglia ve astrositler reaktif gliosis oluşturmaya başlarlar. Mikroglia, nöronal dejenerasyon varlığında, kimyasal uyarılar altında sitotoksik makrofajlara dönüşür. Bu hücreler lezyon merkezinde çalışırlar ve nadiren yayılırlar. Sağlıklı ya da hafifçe yaralanmış hücreleri öldürüp öldürmediği henüz anlaşılamamıştır. Yaralanmaya cevap olarak astrositler hipertrofi ve proliferasyon gösterirler. Astrositlerde glial fibrillary acidic protein ile boyanan ara filamanlar ile yaralanmamış omuriliğe göre daha büyük ve fazla proses görülür. Oksidatif ve lizozomal enzimleri artar. Reaktif astrositler birinci haftada lezyon yanında birikmeye başlar. Astrositik cevap 14. günde en fazla iken, 28. güne kadar görülebilir. Yaralanmış kan-omurilik bariyerine bağlı ödem formasyonu, yaralanmadan sonra erken saatlerde başlar, radial ve longitudinal olarak ilerler, ilk 24 saatte belirginleşir. 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. İnflamatuvar hücrelerin yaralı omuriliğe göçünde iki dalga vardır. Birincisinde, polimorfonüklear 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 fagosite 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 neoanjiogenez ile ilişkili olabilir (53).

### 2.3.3. Geç Faz

Yaralanmadan haftalar ve aylar sonrası, akut ve subakut faz olaylarının çözülmeye başlaması ile santral kanal ile birleşmiş, beyin-omurilik sıvısı 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. 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. Travmadan sonraki 3. günde parankimatoz hemorajiler, vasküler trombozis, ödem, aksonal segmentasyon ve enflamatuvar infiltrasyon ile birlikte mikrokistik kaviteler görülmeye başlar. 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. Geç lezyonun önemli bir komponenti de miyelin kaybıdır. Orta şiddetteki travmalarda akson devamlılığının korunduğu, ancak selektif demiyelinizasyon olduğu gösterilmiştir. Demiyelinizasyon ilk 24. saatte başlar, 2. haftada maksimum seviyesine ulaşır. Üçüncü haftada remiyelinizasyon başlar. Remiyelinizasyonda oligodendrositlerin rolü olabileceği gibi, lezyon sahasına dorsal root entry zone bölgesinden Schwann hücrelerin göçü, bu hücrelerin de remiyelinizasyonda rol aldıklarını düşündürmektedir (53).

## **2.4. Modern Farmakoterapi Çalışmaları**

Günümüzde akut omurilik yaralanmasının modern anlamda tedavisine yönelik çalışmalar, hasarın sekonder mekanizmalarla olan şiddetlenmesine 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 (11). Denenen bir çok ajanın tedavide ümit verici etkilerine rağmen, yalnızca metilprednizolonun geniş klinik çalışmalarda kabul gören tedavi şekli olmaya devam etmesi söz konusudur (54).

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 (55). Bu aşamada etkili tedavi, iskemik hasarın şiddetlenmesine neden olabilecek sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyondan korunmaya yönelik olmalıdır (54,55). İnvaziv hemodinamik monitörizasyon ile vasopressör destek ve sıvı tedavisinin özenle uygulanması, tedavi sürecinin ilk basamağını oluşturmaktadır (54). Başlangıç resüstasyon değerleri temin edilince, nörolojik fonksiyonları geliştirmeye ve devamına yönelik cerrahi ve/veya spesifik patofizyolojik hedeflere yönelik farmakolojik tedavi yöntemleri değerlendirilmelidir (55).

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 (55). Geliştirilmeye çalışılan farmakolojik tedavi protokolleri ilerleyici nöral hasarın azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekelin en aza indirilmeye çalışılmasını amaçlamaktadır (54).

### **2.4.1. Kortikosteroidler**

Akut omurilik yaralanmasının tedavisinde kortikosteroid tedavisi geniş laboratuvar ve klinik çalışmalarda denenmişti. Kortikosteroidlerin başlangıçta kullanımı spinal ödemi azaltıcı etkisine ve anti-inflamatuar özelliğine bağlanmıştır (56). İlk araştırmalarda sadece

ılımlı yararı saptanmasına rağmen, yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Geniş klinik çalışmalarda Metilprednizolonun nörolojik fonksiyonları anlamlı olarak düzelttiği belirtilse de, yapılan çalışmaların veri analizlerinin değerlendirilmesi ve çalışma şeklinin oluşturulmasına bağlı olarak çelişkili durumlar içermektedir (54).

Klinik çalışmalarda metilprednizolon diğer kortikosteroidler olan deksametazon ve hidrokortizona göre daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle ön plana çıktı (57). Metilprednizolon sentetik bir glukokortikoid steroid olup, güçlü anti-inflamatuar etkisiyle birlikte akut omurilik yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir (55). Metilprednizolonun spinal kord hasarını azaltıcı etkisini oluşturmasının birçok mekanizmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunların; lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımının ve aerobik enerji metabolizmasının düzenlenmesi ile ilerleyici posttravmatik iskemiden korunma, nöroflament degradasyonunun inhibisyonu, intrasellüler kalsiyum birikiminin engellenmesi, vasoaktif prostoglandin F2 $\alpha$  ve tromboksan A2 formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir (54,55).

Spinal kord hasarında metilprednizolon tedavisinin incelendiği ilk geniş klinik çalışma (The National Acute Spinal Cord Injury Study) NASCIS' dir. NASCIS II, 1985 ve 1988 yılları arasında yapılmıştır (58). Hastalar metilprednizolon (30 mg/kg bolus, ve takiben 23 saat süreyle 5,4 mg/kg/saat devamlı infüzyon), naloksan ve plasebo ile tedavi edilmişlerdir. Metilprednizolonun, ilk 8 saat içinde uygulandığında, nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Naloksan veya geç metilprednizolon uygulaması hiçbir olumlu etki göstermemiştir. 1998'de sonuçlanan NASCIS III, metilprednizolonun 24 saat veya 48 saatlik uygulamasının, 21aminosteroid tirilazad mesylate ile etkinliğinin karşılaştırılması için planlanmıştır. Akut omurilik yaralanması olup, yaralanmanın ilk 3 saatinde metilprednizolon alan hastaların 24 saat süre ile idame tedavisi almaları gerekirken, travmadan sonraki 3 ile 8 saatte gecikmiş steroid tedavisi alan hastaların 48 saat idame tedavisi almaları gerektiği gösterilmiştir. Tirilazad, metilprednizolona göre daha güçlü bir lipid peroksidasyon önleyici olmasına ve minimal glukokortikoid aktivitesine sahip olmasına rağmen, NASCIS III, bu 21-aminosteroidin klinik kullanımı için mantıklı bir açıklama getirememiştir (59). Ancak şu da belirtilmelidir ki, NASCIS II çalışmasına karşıt görüşler süregelmektedir ve pek çok araştırmacı metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır (60,61).

#### **2.4.2. 21-Aminosteroidler (Lazoroidler)**

Yüksek doz metilprednizolon ile lipid peroksidasyonun inhibisyonu, glukokortikoid reseptör ilişkili değil daha çok antioksidan özelliğine bağlı olduğunun düşünülmesi metilprednizolondan daha potent antioksidan olan 21-Aminosteroidlerin geliştirilmesini sağlamıştır. Bunun için U 74600 F ( tirilazad mestilat) beyin ve spinal kord hasarı üzerinde denemiştir (54,62,63).

And ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada, tirilazad mestilat (TM) verilen kedilerde plasebo grubuna göre travma sonrası 4. haftada daha anlamlı düzelme olduğu gösterilmiştir (54). Yine Hall ve ark. 10 mg/kg TM verilen kedilerde spinal kord kan akımının plasebo ve 3 mg/kg TM grubuna göre ciddi derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (63).

Yapılan NASCIS III çalışmasında; TM verilen gurubun 24 saat metilprednizolon uygulanan gruba benzer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiş, ancak TM grubuna da başlangıçta bolus metilprednizolon verilmiş olması etkinin neye bağlı olduğu konusunda net sonuca ulaşılmamasına neden olmuştur. Bu nedenle TM ile ilgili ciddi planlanmış çalışmalara gereksinin olduğu bir gerçektir (54).

#### **2.4.3. Opioid reseptör antagonistleri**

Akut omurilik yaralanması sonrası endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, sekonder hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (54).

Yapılan pek çok deneysel çalışmada opioid reseptör antagonistlerinin yararlı etkileri gösterilmiştir (24). Naloksan; üzerinde en çok çalışılan opioid reseptör antagonistidir ve birçok deneysel çalışmada omurilik yaralanması sonrası nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir (54). NASCIS II çalışmasının bir parçasını oluşturan Naloksanın plaseboya üstünlüğü gösterilememiş, ancak daha sonra yapılan veri analizlerinin tekrar değerlendirmelerinde travma sonrası ilk 8 saat içerisinde verildiğinde, lezyon altında düzelmenin plaseboya oranla çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte spesifik opioid reseptör antagonistlerinin daha faydalı olacağının düşünülmesi mümkündür (64). Bir  $\kappa$ -reseptör antagonist olan Norbinolterfiminin kedilerde oluşturulan akut spinal kord travması sonrası sonuçları anlamı derecede düzelttiği gösterilmiştir (65). Ayrıca yine  $\kappa$ -reseptör antagonistlerin

kullanıldığı diğer deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında sonuçlar olumlu gözükmektedir. Sonuç olarak opioid antagonistlerin ilaç doz programı ve tedavi zamanlamasının tespiti için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### **2.4.4. Gangliozidler**

Gangliozidler; santral sinir sistemi hücrelerinin membranlarının dış yaprağında yüksek konsantrasyonda bulunan kompleks asidik glikopeptidlerdir (54). Monosialotetraheksosilgangliozid (GM-1 Gangliozid) SSS’ de nöronların aksonlarında, miyelin kılıflarında ve beyaz cevher içerisindeki glial hücrelerde bulunur (66). Deneysel SSS travmalarında GM-1 gangliozid’ in sinir rejenerasyonunu stimüle ettiği ve anterograd-retrograd dejenerasyona karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (54).

Gangliozidler ön sürülen etki mekanizmaları eksitator amino asitlerin salınımını azaltmaları, protein kinaz C regülasyonu ve NO oluşumunu engellemelerine bağlıdır (24). Protein kinaz C’ nin inhibisyonu posttravmatik iskemiden korunmada önemli gözükmektedir (54).

#### **2.4.5. Tirotropin Salıcı Hormon (TRH) ve TRH analogları**

TRH ve analoglarının; endojen opioidler, platelet aktive edici faktör (PAF), peptidolökotrienler ve EAA’ ler gibi birçok otodestruktif faktörü antagonize ettikleri ve deneysel modellerde akut omurilik yaralanmasında faydalı olabileceği gösterilmiştir. Spinal kord kan akımını arttırdıkları, elektrolit balansını düzenledikleri, hücresel enerji düzeyini restore ettikleri ve lipid peroksidasyonunu azalttıkları düşünülmektedir (67).

TRH’ un omurilik yaralanmasındaki spesifik etkisi iyi bilinmemekte ise de spinal refleksleri potansiyelize ettiği ve kollinerjik nöronlar üzerinde tropik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu nedenle TRH, yaralanmanın genişlemesini önlemekten çok iyileşme fazında daha etkili olabileceği belirtilmiştir (67).

#### **2.4.6. Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar**

Akut omurilik yaralanması sonrası lipid peroksidasyonu endojen antioksidanlar tarafından azaltılmaktadır (68). Ancak travma sonrası  $\alpha$ -tokoferol, retinoik asid, askorbik asid, selenyum, koenzim q gibi ubikinonlar benzeri antioksidanların seviyeleri hızla düşmektedir (62). Bu nedenle antioksidanların replasmanı lipid peroksidasyonuna bağlı hasarın azaltılmasında etkili olabilir.

Deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında vitamin A ve vitamin C tedavisinin faydalı olduğu gösterilmiştir (54). Yine yapılan birçok SSS yaralanma modelinde  $\alpha$ -tokoferol tedavisinin doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (24).

#### **2.4.7. Kalsiyum Kanal Blokörleri**

İntrasellüler kalsiyum birikimi toksik nöral hücre ölümünün son ortak yolu olarak isimlendirilmekte ve spinal kord hasarının patofizyolojisinde rol oynamaktadır. Hücre içine kalsiyum akışı direk nörotoksik etkisine ek olarak, vasküler düz kas hücrelerinde vazospazma yol açar. Bununla ilişkili olarak kalsiyum kanal blokörlerinin yararlı etkilerinin travma sonrası mikrovasküler yapılarda oluşan vazospazma yönelik koruyucu özelliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir (69).

Dihidropridin grubu kanal blokörlerinden Nimodipin üzerinde en çok çalışılmış ajandır. Yapılan deneysel çalışmalarda Nimodipinin yararlı etkilerinin ancak travma öncesi başlandığında ortaya çıktığının görülmesi, tedavinin klinik kullanımda öneminin ve pratikliğinin sınırlanmasına neden olmuştur (54).

#### **2.4.8. Sodyum Kanal Blokörleri ve Magnezyum**

Spinal travma sonrası sekonder hasardan korunmada magnezyum replasman tedavisine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Yüksek doz magnezyum tedavisinin (600 mg/kg MgSO<sub>4</sub>) farelerde akut spinal kord hasarı sonrası aksonal fonksiyonlarda anlamlı gelişme sağladığı ve lipid peroksidasyonunda ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir (69,70).

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 (54). Bu konuda Tetradoksinin lokal uygulaması ile yapılan bir çalışmada travma sonrası fonksiyonel defisitinin azaltılmasında önemli olduğu gösterilmiştir (71). Schwartz ve Fehlings yaptıkları deneysel bir çalışmada, bir sodyum kanal blokörü olan Riluzolün sistemik uygulanmasında ciddi nöroprotektif etkileri olduğunu gösterdiler (72).

#### **2.4.9. Araşidonik Asit Metabolizması Modülatörleri**

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

Prostasiklin ( $PGI_2$ ) vasküler endotelden salınan güçlü vazodilatör ve platelet agregasyon inhibisyon etkisi olan doğal bir araşidonik asit metabolitidir (73).

Hallenbeck ve ark. yaptığı bir çalışmada  $PGI_2$ 'nin bulunduğu kombine tedavinin travma sonrası nörolojik fonksiyonlarda plaseboya göre anlamlı iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Siklooksijenaz inhibitörleri, tromboksan sentetaz inhibitörleri ve prostaglandin  $I_2$  ile yapılan kombine tedavinin sıçan omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir (24,54).

#### **2.4.10. Diğer Tedavi Denemeleri**

Nörotropik büyüme faktörünün deneysel omurilik yaralanmaları sonrası nöronal dejenerasyondan korunmada etkin olabileceği gösterilmiştir.

5-HT<sub>1</sub> ve 5-HT<sub>2</sub> alt grup serotonin reseptör antagonistleri ile yapılan deneysel çalışmalarda travma sonrası faydalı olabilecekleri saptanmıştır. Bir potasyum kanal blokörü olan 4-aminopiridin'in kronik spinal kord hasarında nörolojik fonksiyonların gelişmesindeki önemi vurgulanmıştır (54).

Günümüzde omurilik yaralanması sonrası hücre ölümünün apoptotik kaskadına yönelik terapötik korunma çabaları önem kazanmıştır. Bu yönde yapılan çalışmalarda zDEVD fmk ile yapılan kaspaz 3 inhibisyonunun ve anti-apoptotik protein olan Bcl-2'nin deneysel kord hasarı sonrası nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (74). Sitokinler, serbest radikal hasarı ve eksitotoksitite gibi sekonder hasar mekanizmaları ile tetiklenen apoptozda

bu etkene yönelik tedavinin programlı hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği düşüncesini desteklenmektedir (54).

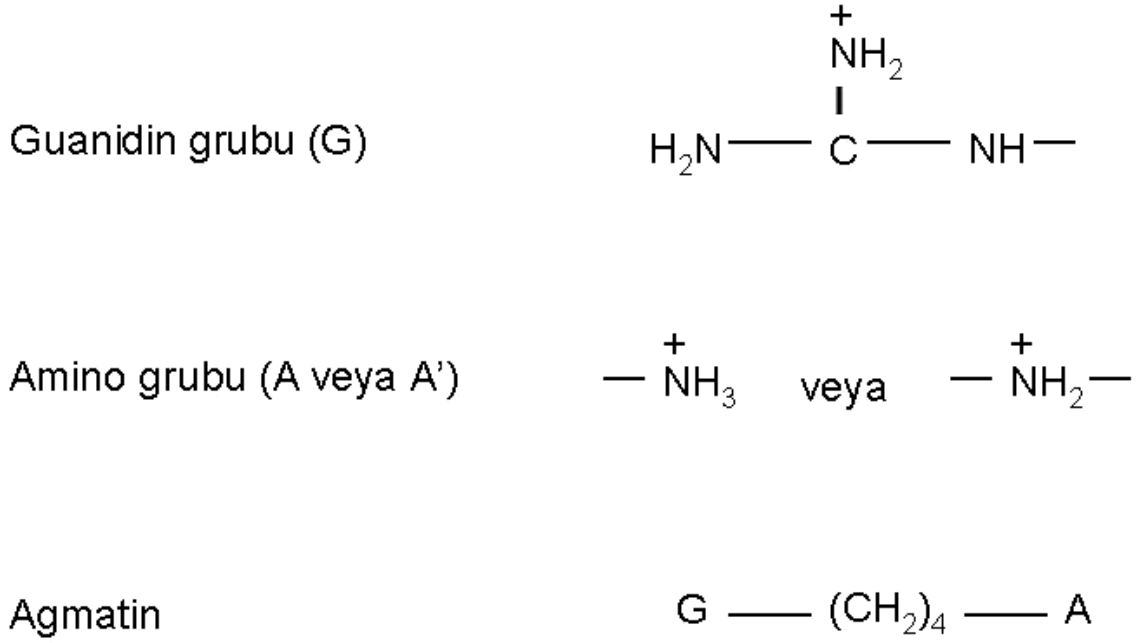
Siklosporin A,  $Ca^{+2}$ 'un tetiklediği mitokondri iç membranındaki permabilite değişikliklerinin inhibisyonu ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu etkisi ile hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği deneysel travmatik kord hasarında ortaya koymuş bir ajandır (54). Akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisine yönelik modern tedavi girişimlerinin devam etmesi, bu yıkıcı problemin çözülmesindeki umudun artmasını sağlamaktadır.

#### **2.4.11. Agmatin**

##### **2.4.11.1. Agmatin'in Yapısı ve Fonksiyonları**

Agmatin; bir semi-esansiyal amino asid olan L-arginin'in mitokondrial arginin dekarboksilaz (ADC) ile dekarboksilasyonu sonucu oluşan, endojen guanidoamin yapısında bir moleküldür (75-88).

Agmatin'in ADC ile biyosentezi nöronların içine spesifik amino asid taşıyıcılar tarafından alınan L-arginin'in varlığına bağlıdır (76). 1990'ların ortalarına kadar agmatin, ADC ve agmatinaz'ın memelilerde sentezlenmediği düşünülüyordu. Ancak 1994 yılında imidazolin reseptörleri için endojen ligand araştırmalarında beyin dokusunda spektroskopik analizlerde bulunan molekül, Agmatin olarak tespit edildi (76,78,80,87) (Şekil 1 ).

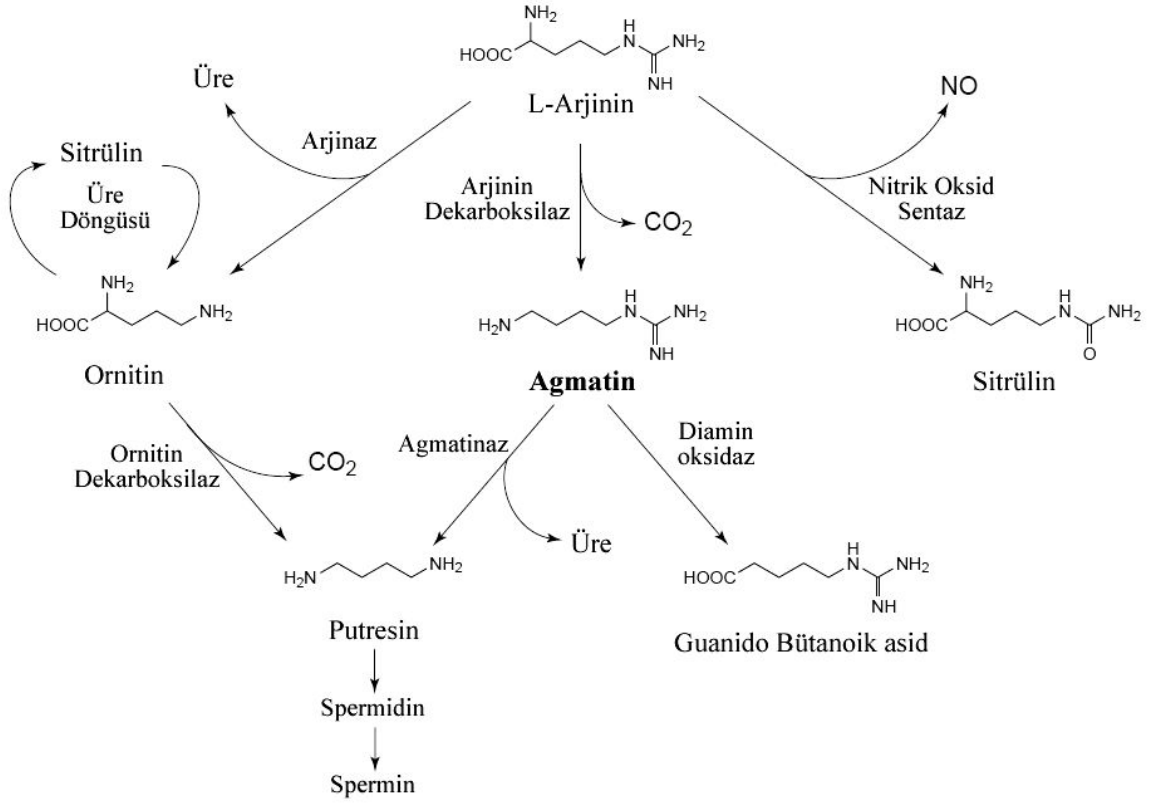


**Şekil 1. Agmatin'in kimyasal yapısı**

Agmatin ve ADC beyin, böbrek, vasküler düz kas hücreleri, endotel ve astrositleri de içeren birçok hücre grubunda bulunmaktadır (95).

Agmatin beyinde lokal olarak sentez edilir ve sinaptik veziküllerde depolanır.(76,80)

Sıçan hipokampal piramidal hücrelerdeki elektron mikroskobu çalışmalarında perikarya, dendritler, akson ve akson terminallerinde dağılım gösterdiği saptanmıştır (76). Diğer transmitterlerdeki gibi kalsiyuma bağımlı mekanizmalarla depolarizasyona bağlı olarak salınır (80). Beyin dokusundaki biyolojik inaktivasyonu enerjiye bağımlı mekanizmalarla, tekrar sinaptozomlar içine alınarak, akson terminallerinden salınan ve mitokondrial matriks içinde bulunan agmatinaz ile enzimatik degradasyonu sonucu oluşur (76,80,82,83,89). Bu enzimatik degradasyon ile poliamin sentezinin diamin prekürsörleri olan putresin ve üre'ye metabolize olur. Agmatin'in diğer bir metabolize olma yolu, diamin oksidaz (DAO) ile  $\alpha$ -guanidino butirilaldehid'e oksidasyonu ve daha sonra  $\alpha$ -guanidinobutirat'a dehidrojenasyonu sonucu oluşur (80,90) (Şekil 2).



Şekil 2. Agmatin ve ilişkili moleküllerin metabolik yolları

#### 2.4.11.2. Agmatin'in Etkileri

1. Agmatin, NMDA,  $\alpha$ 2-adrenerjik reseptör, imidazoline reseptörleri ve nikotinik reseptörler gibi birçok nörotransmitter reseptörü ile ilişkili rol oynar. Özellikle nörotravma sonrası NMDA reseptör inhibisyonu, nöroprotektif etkisi üzerinde durulmasını sağlamıştır (90). Bu blokaj molekülün özellikle guanido grubu ve NMDA reseptör kanal porları arasındaki ilişkiden kaynaklanmaktadır (78).

2. NO'nin NMDA reseptörlerinin indüklediği nörotoksiteye katkıda bulunduğu düşünülmektedir (100,106). NMDA reseptör antagonistleri NO'nin sGMP düzeylerinde yaptığı artışı bloke eder (106).

Agmatin özellikle uyarılabilir Nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibisyonu ile bir nöromodulator olan NO üretiminin azalmasını sağladığı gösterilmiştir (81).

Feng ve ark. yaptığı bir çalışmada, agmatinin hipoksik-iskemik beyin hasarında NO üretimini baskılayarak hasarı azalttığı ve astrositlerde iNOS'un transkripsiyonu süprese ettiği gösterildi (76,91).

Yine Galea ve ark yaptığı deneysel bir çalışmada, L-arjinin L-sitrülin oluşumuyla ölçülen NOS aktivasyonuna göre agmatinin özellikle iNOS formuna karşı potent inhibitör özelliği olduğu gösterilmiştir (86).

Abe ve ark. neonatal sıçan serebral korteksinden elde edilen mikrogliya kültürlerinde NO üretimi baskıladığını göstermişlerdir (88).

3. Agmatin, proteinlerin ADP ribosilasyon inhibisyonu ile hücre içi sinyal yollarına müdahale eder (90).

4. Agmatin, ilerleyen glikolizasyon son ürün formasyonu inhibe ederek ekstraselüler matriks proteinlerinin karmaşık hasarında önem taşır (90).

5. Deneysel çalışmalarda, agmatin'in serum laktat düzeyinin düşmesi ve hipoglisemiye neden olduğu ve insülin benzeri etki gösterdiği gösterilmiştir (90,92).

6. Hücresel hasara cevapta rol oynayan moleküller olan poliamin sentezinde prekürsör olduğu gösterilmiştir (90). Poliamin biyosentezinde ve katabolizmasında anahtar iki enzim olan ornitin dekarboksilaz (ODC) ve spermin spermidin N-açıl transferaz'ın (SSAT) agmatin tarafından modüle edildiği gösterilmiştir (93).

7. Agmatin, L tipi miyozitlerde voltaja bağımlı kalsiyum kanal blokajı ile intraselüler  $Ca^{+2}$  artışını inhibe eder. Benzer etki sinir terminallerinde voltaj kapılı  $Ca^{+2}$  kanallarında da gösterilmiştir (92).

8. Agmatin kromafin hücrelerinden ketakolamin salınımını inhibe eder (92).

9. Poliamin biyosentezindeki bir enzim olan ornitin dekarboksilaz (ODC) inhibisyonu ile düz kas hücre proliferasyonu inhibe eder (94).

### **3.MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi ve Gruplara Ayrılması**

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Tıp Fakóltesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi.

Deneysel protokol Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. DETAUM’da üretilmiş 40 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Her grupta kullanılan ratların ağırlıkları 220-280gr. arasında değişmekteydi. Sıçanlar cerrahi öncesi 7 gün süreyle uyku uyanıklık siklusunda tutuldu. Sıçanların sıcaklığı kontrol edilen bir odada barınmaları sağlanmıştır.(22-25  C). Cerrahiden önce tüm sıçanlar muayene edilmiş ve hepsinde normal motor fonksiyonlar bulunmuştur. Denekler rastgele şekilde 4 eşit gruba bölündü.

Grup 1- Sadece laminektomi

Grup 2- Laminektomi + Spinal travma

Grup 3- Laminektomi + Spinal travma + 50 mg/kg Agmatin

Grup 4- Laminektomi + Spinal travma + 100 mg/kg Agmatin

#### **3.2.Anestezi**

Her gruba anestezik ajan olarak 10 mg/kg xylasine (Bayer) ve 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Pfizer) kullanıldı. Anestezik ajanlar intraperitoneal olarak uygulandı.

#### **3.3. Operasyon**

Tüm hayvanların genel anestezi altında sırt bolgesi traş edilerek Polyvidon iyot ile lokal antisepsi uygulandı. İnterskapuler mesafe referans alınarak prone pozisyonda T5-12 seviyesinde cilt, cilt altı dokular geçildi. Paravertebral kas fasyası geçilerek kaslar laterale künt diseksiyon ile sıyrıldı. Torakal 7-10 laminaları görülerek total laminektomi uygulandı. Bu işlem yapılırken hayvanların dura materlerinin zedelenmemesine dikkat edildi. Daha sonra grup II, III, IV ’deki deneklere Rivliv ve Tator’un klip yöntemi ile extradural olarak

1 dakika süreyle anevrizma klibi uygulanarak spinal travma oluşturuldu (13). Hemostazı takiben tabakalar anatomisine uygun olarak 3/0 ipek ile kapatıldı.

- Grup I** - Yalnız laminektomi yapıldı.
- Grup II** - Laminektomi sonrası 0.7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 sn travma oluşturuldu.
- Grup III** - Laminektomi sonrası 0.7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 sn travma oluşturulduktan sonra ilk 5 dk içinde 50 mg/kg Agmatin intraperitoneal verildi. 10 gün boyunca doz tekrarlandı. (50mg/kg)
- Grup IV** - Laminektomi sonrası 0.7N basıncındaki Yaşargil anevrizma klibi ile 60 sn travma oluşturulduktan sonra ilk 5 dk içinde 100 mg/kg Agmatin intraperitoneal verildi. 10 gün boyunca doz tekrarlandı (100mg/kg).

14. günde 40 sıçandan elektron mikroskopisi ve biyokimyasal değerlendirme için örnekler alındı.

### 3.4. Elektron Mikroskopik Değerlendirme

Elektron mikroskopi değerlendirme için alınan spinal kordu doku parçaları Millionig fosfat tamponu ile hazırlanmış %5 lik gluteraldehit solusyonunda 1 saat bekletildikten sonra üzerinde birkaç damla gluteraldehit olan dişçi mumuyla kaplı petri üzerinde jilet yardımıyla 1mm<sup>3</sup> lük parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar gluteraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat kadar tespit edildi. Böylece dokular gluteraldehit ile toplam 4 saat tespit edilmiş oldu. Daha sonra dokular Millionig fosfat tamponunda iki defa 10'ar dk çalkalandı ve ardında Millionig fosfat tamponu ile hazırlanmış %1' lik osmium tetraoksit solüsyonu ile ikinci defa tespit edildi. İki saatlik osmium tetraoksit tespitinden sonra dokular yine fosfat tamponu ile iki kez 10'ar dk yıkandı. Dokular daha sonra aşağıdaki sıraya göre dehidrate edildi:

- . % 50 Etil alkolde +4 derecede 15 dakika
- .% 70 Etil alkolde +4 derecede 15 dakika
- .% 86 Etil alkolde +4 derecede 15 dakika
- .% 96 Etil alkolde +4 derecede 15 dakika
- .% 100 Etil alkolde +4 derecede 15 dakika

Buraya kadar olan işlemler buzdolabında +4 dercede gerçekleştirildi. Daha sonra aşağıdaki işlemler oda ısısında gerçekleştirildi.

- . % 100 Etil alkolde 15 dakika
- . propilen oksitte 15 dakika
- . propilen oksitte 15 dakika

Dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki solüsyonlar içerisinde immerse edildi.

- . propilen oksit + gömme materyali 30 dakika
- . propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Bu işlemlerden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (resin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda karıştırıldı.

Gömme materyali:

- |                                   |        |
|-----------------------------------|--------|
| Araldit CY 212                    | 20 ml  |
| Sertleştirici HY 964              | 20 ml  |
| Hızlandırıcı DY 064               | 0.6 ml |
| Plastikleştirici- Dibütil Fitalat | 1 ml   |

Ertesi gün doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak polietilen kapsüllere gömüldü ve 60 derece etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra elde edilen bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichert Ultracut S ultramikrotomu ile 50 nm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere toplandı ve %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds' un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler JEOL, JEM 1400 transmisyon elektron mikroskobu (Japan) ile incelendi ve digital resimler elde edildi.

### 3.5. Biyokimyasal Değerlendirme

Deneklerden alınan spinal doku örnekleri serum fizyolojik içeren şişelere kondu ve buz içerisinde muhafaza edildi. Dokular daha sonra fosfat tamponu ile homojenize edilerek (homojenizat) santrifüj tüpü içerisine kondu ve buz içerisinde saklandı. Fosfat tamponu ile 1/10 oranında seyreltilen homojenizatlarda malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) ölçümleri yapıldı.

#### *Malondialdehit (MDA) Analizi:*

Homojenizatın pH:3,4' de aerobik koşullarda, tiobarbitürik asit ile 95 derecede inkübasyonu sonucu oluşan pembe renkli kompleksin optik dansitesinin ölçümüyle malondialdehit miktarı saptandı ve hesaplamaları yapıldı.

#### *Süperoksit Dismutaz (SOD) Analizi:*

Homojenizatlarda, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin p- iyodonitrotetrazolium viyoleto (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının optik dansitesinin okunması esasına dayanan randox kit yöntemi kullanılarak süperoksit dismutaz tayini yapıldı. Daha sonra ölçülen değerlerin hesaplamaları yapıldı.

### **3.6. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi**

#### **3.6.1. Eğik Düzlem (İnclined Plane) Testi**

Sıçanların fonksiyonel iyileşmeleri, Rivliv ve Tator tarafından tanımlanan ve deneysel akut omurilik yaralanmalarında sıkça kullanılan eğimli alan (eğik düzlem) yöntemi ile değerlendirildi (96). Denek, düzgün zemin üzerinde yere paralel olarak yerleştirilmiş, gereğinde 60 dereceye kadar açılabilir bir platform üzerine konuldu. Daha sonra platformun eğimi 5'er derece artırılarak denekin 5 saniye boyunca düşmeden durabildiği en yüksek açı; eğik düzlem açısı olarak kabul edildi.

Çalışmamızda bütün gruptaki sıçanlara 1, 7 ve 14. günlerde eğik düzlem (inclined plane) testi uygulandı.

#### **3.6.2. Klinik Motor Muayene**

Sıçanların fonksiyonel iyileşmelerini değerlendirmek için düzenli olarak motor muayeneleri yapıldı.

Çalışmamızda sıçanların motor fonksiyonları 1, 7 ve 14. günlerde Drummond ve Moore kriterleri ile değerlendirildi (109).

*Drummond ve Moore Kriterleri:*

0: Paraplejik, alt ekstremitelerde motor fonksiyon yok.

1: Alt ekstremitelerde motor fonksiyon zayıf, sadece yer çekimine karşı zayıf hareket

2: Orta derecede alt ekstremitelerde motor fonksiyonu, yerçekimine karşı güç iyi fakat bacaklarını vücudun altına çekemiyor.

3: Motor fonksiyon çok iyi, bacaklarını vücudun altına çekip zıplayabiliyor, fakat tam normal değil.

4: Normal motor fonksiyon.

### **3.7. İstatistik**

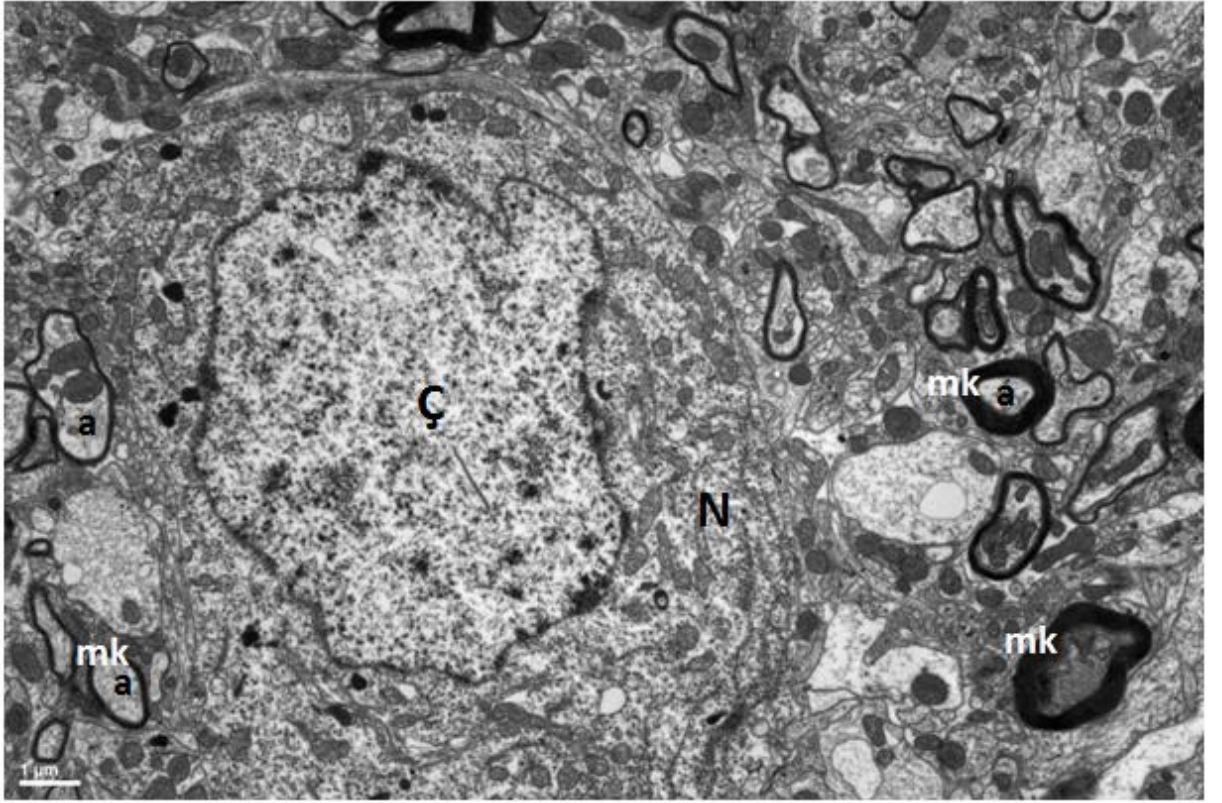
Çalışmamızdaki istatistiki değerlendirmede düzeltilmiş Bonferroni ve Kruskal Wallis Testi kullanıldı. 0.05 ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

## **4.BULGULAR**

### **4.1. Elektron Mikroskopik Bulgular**

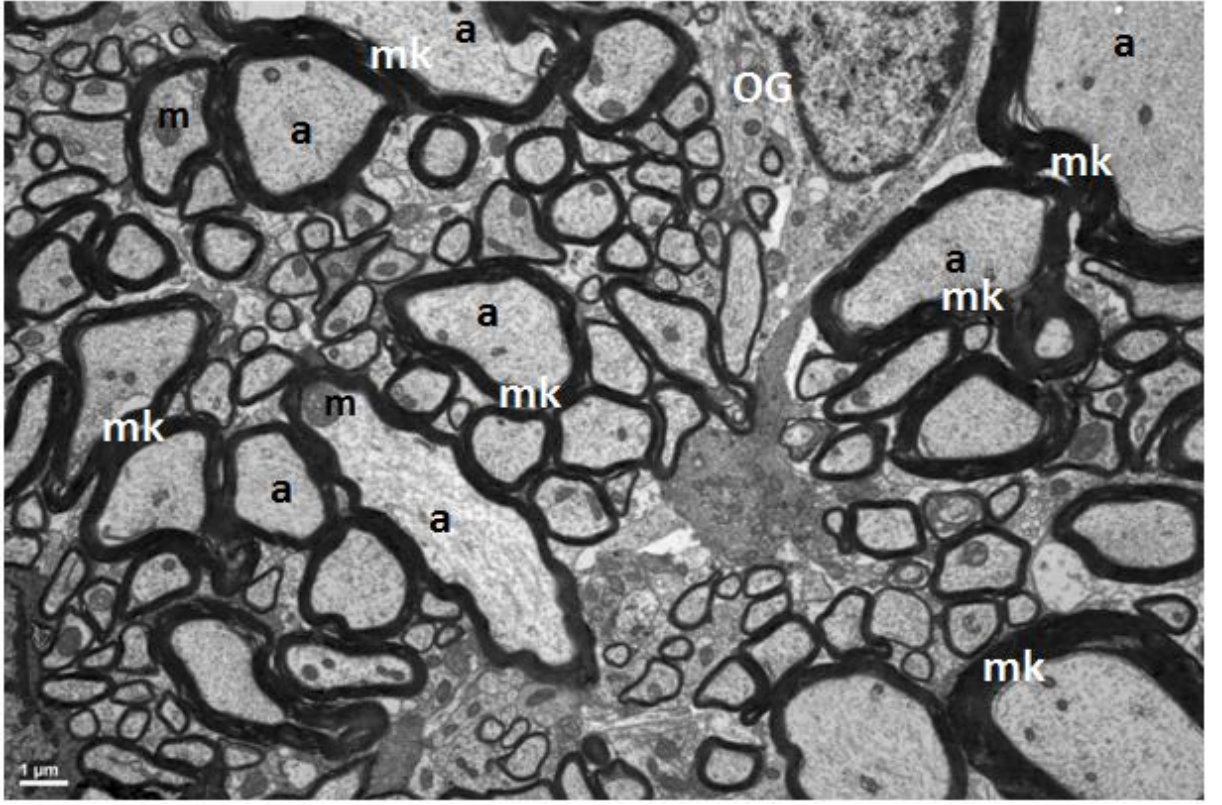
#### **4.1.1. I. Grup**

Omurilik yaralanması oluşturulmadan, yalnızca laminektomi oluşturulan bu gruba ait sıçanların spinal kord doku örnekleri elektron mikroskopta incelendiğinde, hücresel yapının korunmuş olduğu dikkati çekti. Spinal kord gri cevherinde yerleşen nöron gövdelerinin merkezi yerleşimli veziküler bir çekirdeğe ve çekirdeğin ortasında yer alan bir veya daha fazla sayıda çekirdekçiğe sahip olduğu görüldü. Çekirdeği çevreleyen perinüklear sitoplazmada, transvers ve longitudinal tipte kristallara sahip mitokondriyonlar iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum (GER), Golgi kompleksi, nörotübüller ve nörofilamanların varlığı ayırt edildi (Şekil 3). Hem gri hem de beyaz cevherde yerleşim gösteren nöroglia hücrelerinin, ovoid veya sferikal bir çekirdeğe ve çekirdek etrafında mitokondriyonlar, GER ve mikrotübüllerden zengin bir sitoplazmaya sahip oldukları görüldü. Akson sitoplazmalarında mitokondriyonlar, nörotübül ve nörofilamanların yer aldığı ve miyelinli sinir liflerinde aksonların etrafında bulunan miyelin kılıfın düzenli lamellar yapısını koruduğu ayırt edildi (Şekil 4).



**Şekil 3: I. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

Gri cevherde yerleşim gösteren nöronun (N) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organelleri ile normal yapıda olduğu görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapısını koruduğu izlenmektedir. Bar= 1µm.

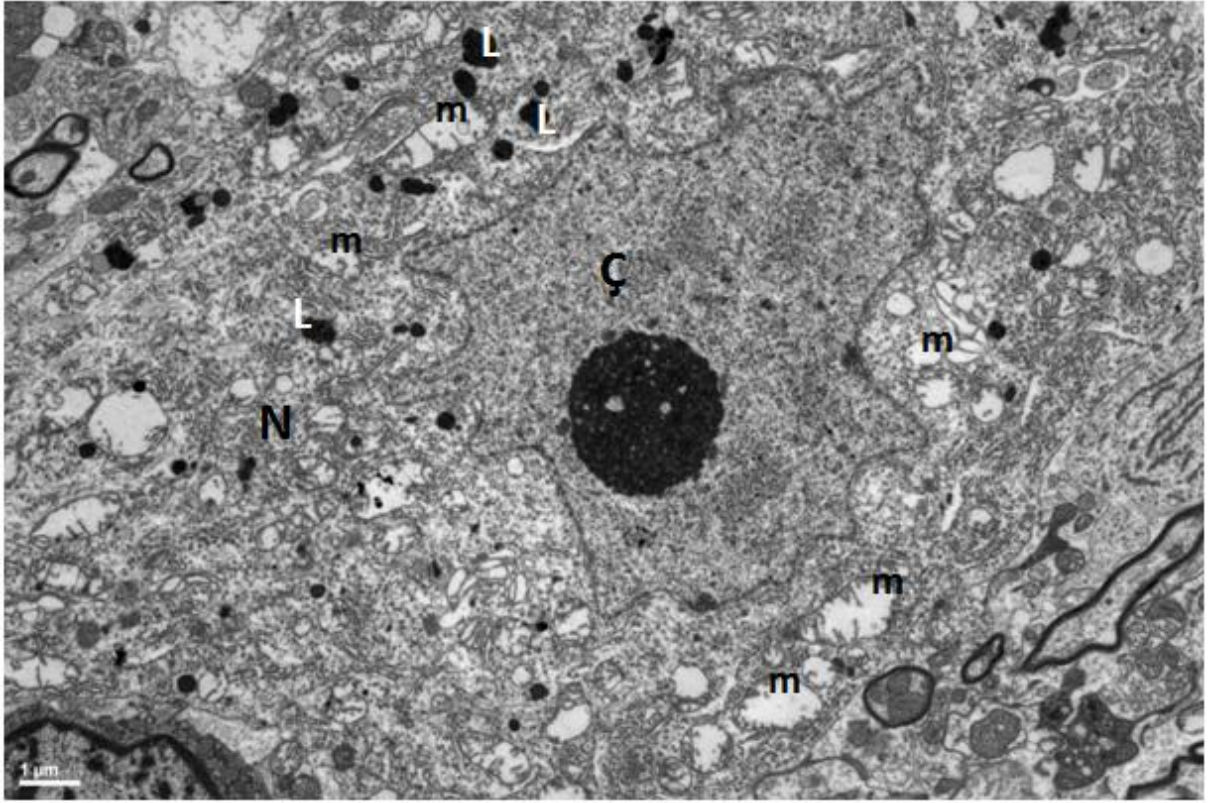


**Şekil 4: I. Gruptan elde edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

Beyaz cevherde yer alan miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapıda oldukları izlenmektedir. Beyaz cevherde yerleşen bir oligodendrositin (OG) normal hücresel yapısını koruduğu dikkati çekmektedir. Aksoplazma içerisinde mitokondriyonlar (m), nörotübül ve nörofilamanlar görülmektedir. Bar= 1µm.

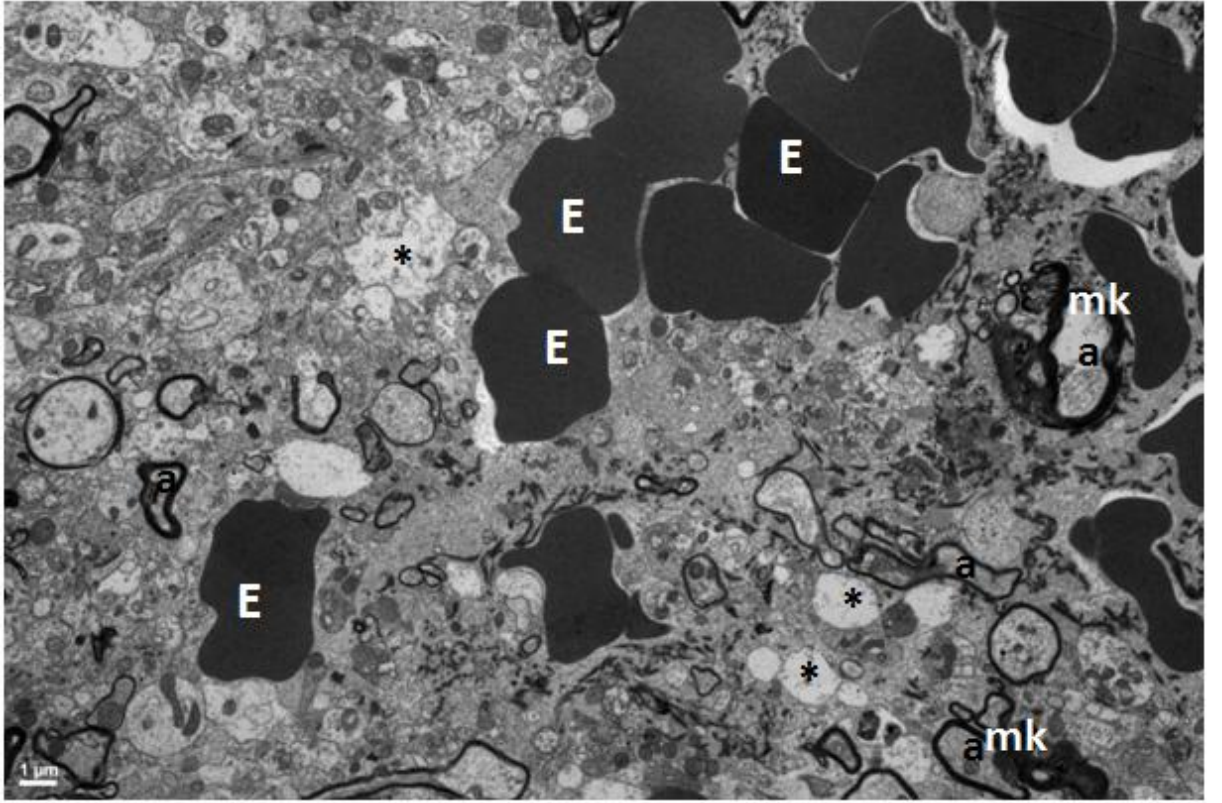
#### 4.1.2. II. Grup

Omurilik yaralanması oluşturulduktan sonra hiçbir tedavi uygulanmayan deney kontrol grubundaki deneklerden alınan spinal kord doku örneklerinin elektron mikroskopik olarak değerlendirilmesi sonucunda, spinal kordda hem gri hem de beyaz cevherde yaygın ödem ve hemoraji alanlarının varlığına rastlandı. Gri cevherde yerleşim gösteren nöron perikaryonlarında çekirdekte kromatin artışının yanı sıra sitoplazmada granüler endoplazmik retikulum sisternalarında ve mitokondriyonlarda genişleme, lizozomlarda artış dikkat çekiciydi (Şekil 5). Beyaz cevherde miyelinli sinir liflerinde, miyelin kılıfın lamellar yapılarının bozulduğu ve aksoplazmada özellikle mitokondriyonlarda olmak üzere organel harabiyetinin olduğu belirlendi. Hem gri hem de beyaz cevherde yerleşen nöroglia hücrelerinde çekirdekte kromatin kümelenmesi, sitoplazmada vakuolizasyon ve organel harabiyetlerinin olduğu dikkati çekti (Şekil 6 ve 7).



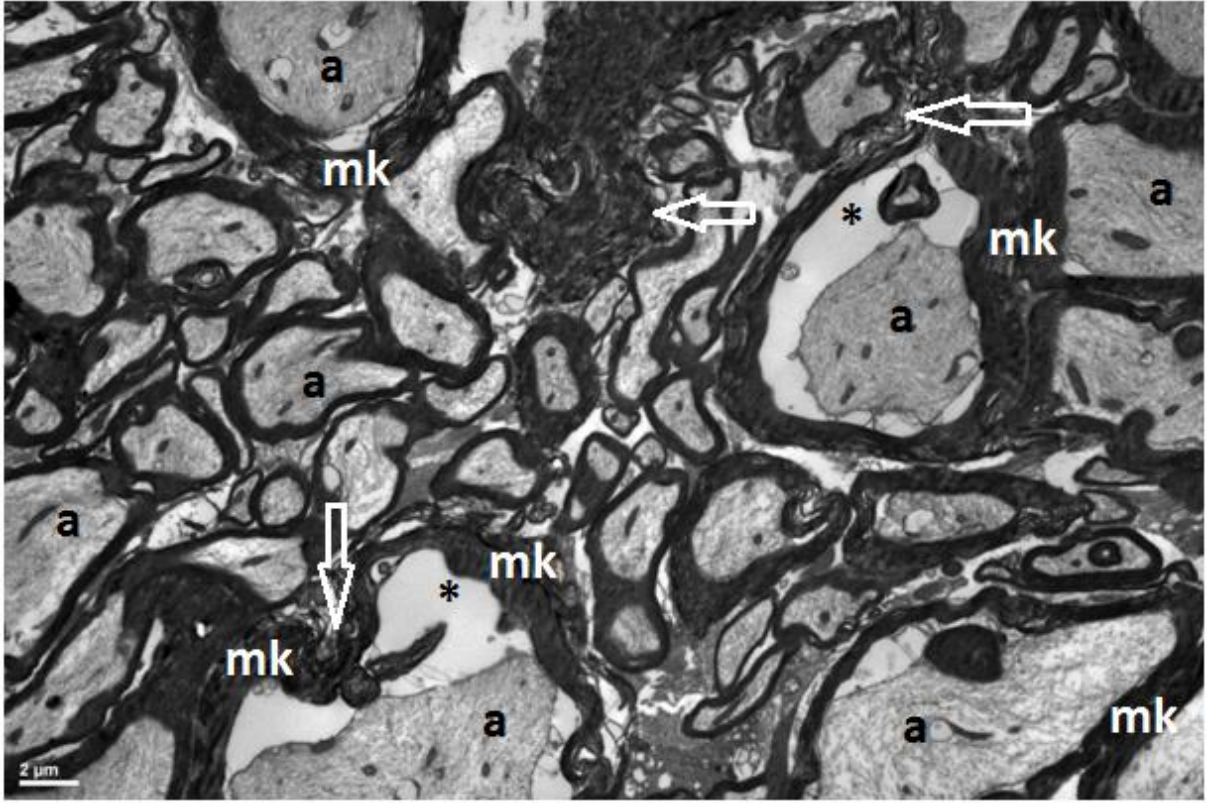
**Şekil 5: II. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

Gri cevherde yer alan nöron perikaryonunda (N), çekirdekte (Ç) kromatin artışı izlenmektedir. Sitoplazma içerisinde mitokondriyonlarda (m) belirgin olmak üzere organel harabiyeti ve lizozomlarda (L) artış görülmektedir. Bar= 1µm.



**Şekil 6: II. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

Yaralanma bölgesinde yaygın ödem (\*) ve hemoraji alanlarının varlığı izlenmektedir. Ortamda çok sayıda eritrositin (E) varlığı dikkati çekmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıf (mk) gösterilmiştir. Bar= 1µm.

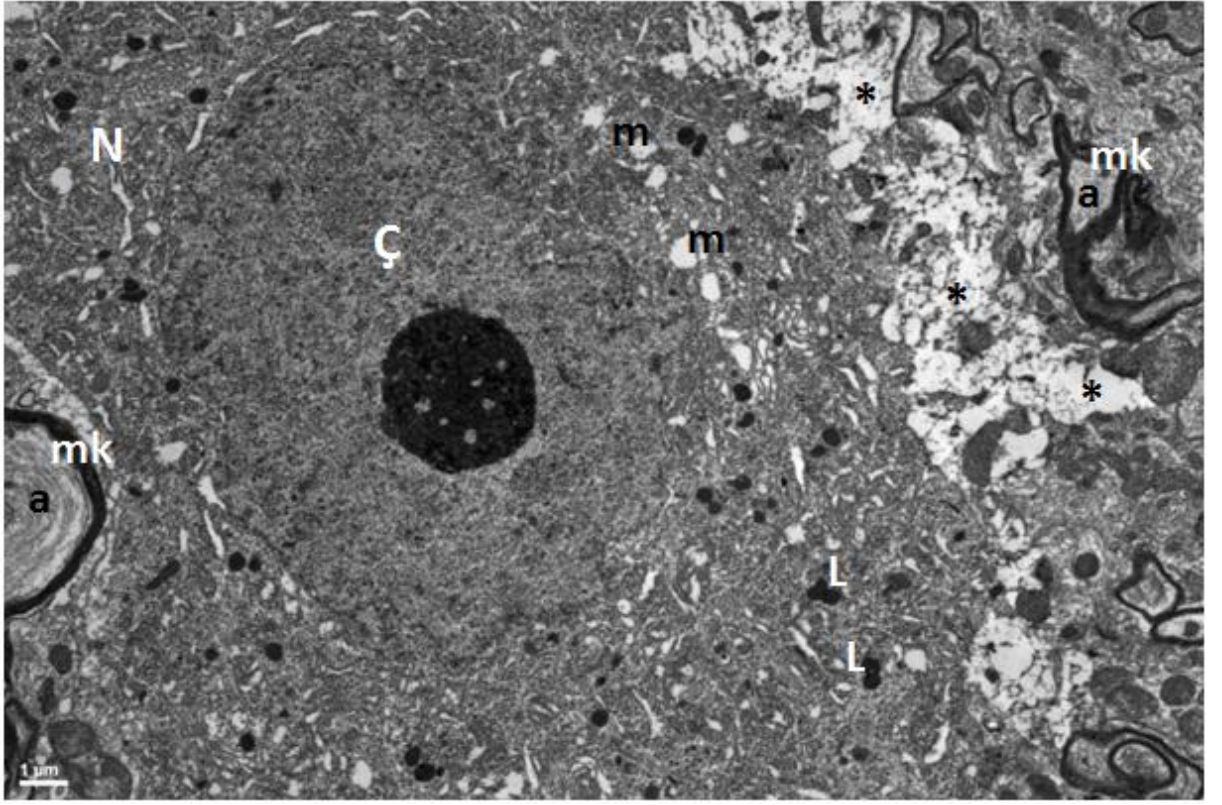


**Şekil 7: II. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

Beyaz cevherdeki miyelinli sinir liflerinde, aksonlarda (a) büzüşme, miyelin kılıfta (mk) aksonal zona doğru invajinasyonlar ve ileri derecede miyelin kılıf dejenerasyonu (oklar) dikkati çekmektedir. Büzüşmeye bağlı olarak akson ve miyelin kılıf arasında geniş boşlukların (\*) olduğu görülmektedir. Bar= 2μm.

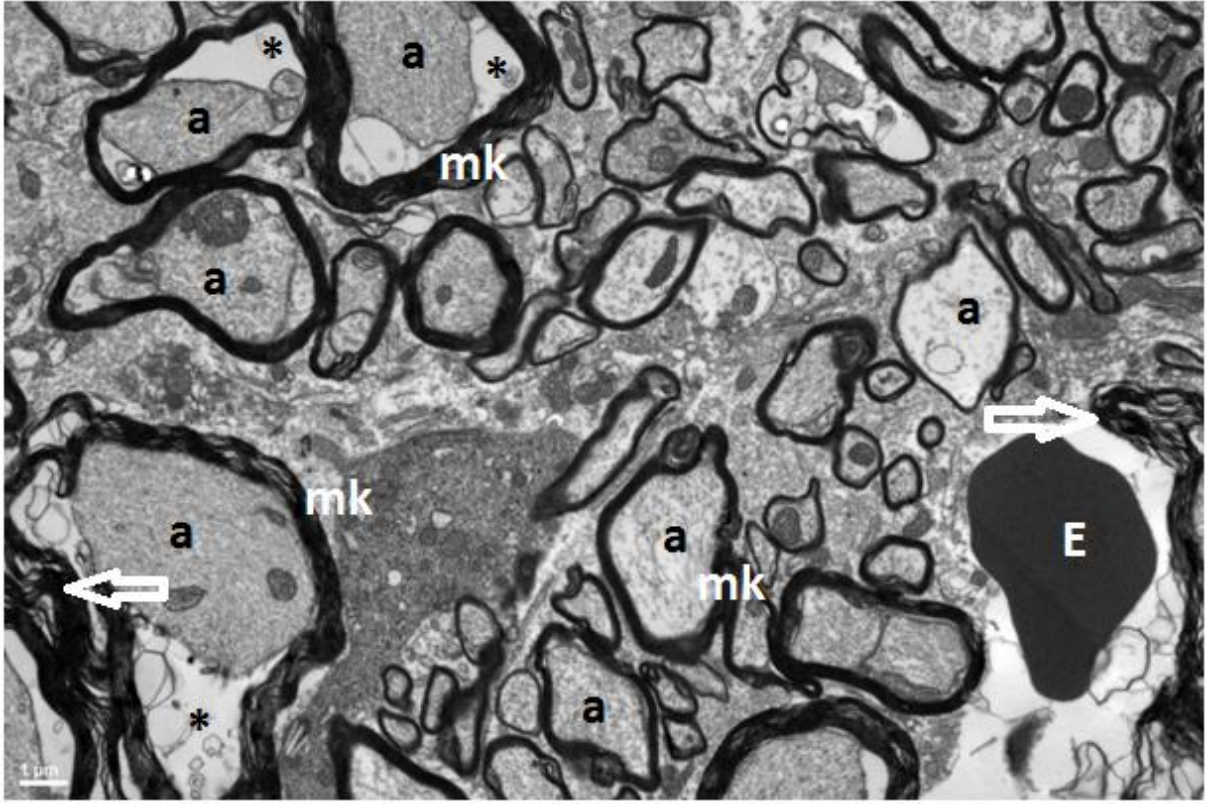
#### 4.1.3. III. Grup

Omurilik yaralanmasından sonra Agmatin 50mg/kg tedavisi uygulanan bu gruptan alınan spinal kord doku örneklerinin elektron mikroskopik olarak incelenmesinde, ultrastrüktürel değişikliklerin deney kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda, yapısal bozuklukların bu grupta da varlığını sürdürdüğü, fakat dejeneratif değişikliklerin nispeten azalmış olduğu dikkati çekti. Spinal kord gri ve beyaz cevherinde, ödem ve hemorajik alanların tedavi uygulanmayan gruba göre daha sınırlı olduğu görüldü. Gri cevherde bulunan sinir hücrelerinde dejeneratif değişiklikler izlenmekle birlikte, bu değişikliklerin deney kontrol grubuna oranla daha hafif olduğu izlendi. Bununla birlikte nöron perikaryonlarında çekirdekteki kromatin artışı dikkati çekti. Sitoplazmik organellerin yapılarının nispeten korunmuş olduğu gözlemlendi (Şekil 8). Hem gri hem de beyaz cevherde yer alan nöroglia hücrelerinde hafiften orta dereceye kadar değişen yapısal değişiklikler izlendi. Beyaz cevherde miyelinli sinir liflerinde, miyelin kılıfın konsantrik lamellar yapısının bozulduğu ve aksonal zon içerisine doğru miyelin kılıf invajinasyonlarının olduğu görülmekle birlikte bu değişikliklerin deney kontrol grubuna oranla kısmen azalmış olması dikkati çekti (Şekil 9 ve 10).

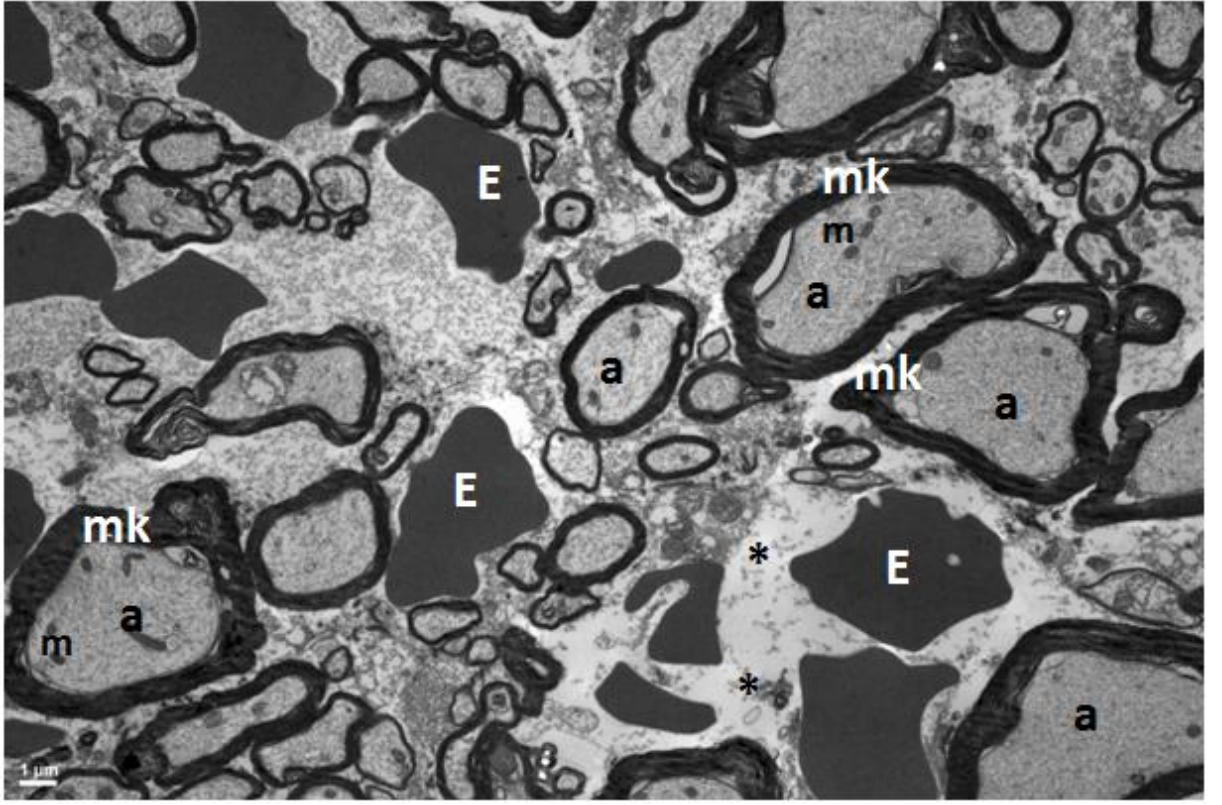


**Şekil 8: III. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

Gri cevherde yerleşen nöron perikaryonunda (N) çekirdekte (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada mitokondriyonlarda (m) genişlemeler ve krista harabiyeti, lizozomlarda (L) artış izlenmektedir. Nöron perikaryonu etrafında ödem alanları (\*) görülmektedir. Akson (a) ve miyelin kılıf (mk) gösterilmiştir. Bar= 1µm.



**Şekil 9: III. gruptan edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**  
Beyaz cevherdeki miyelinli sinir liflerinin bazılarında, aksonlarda (a) büzüşme (\*) ve miyelin kılıf (mk) lamellerinde ayrılma ve aksonal zona invajinasyon (oklar) gibi dejeneratif değişiklikler izlenmektedir. Eritrosit (E) gösterilmiştir. Bar= 1µm.

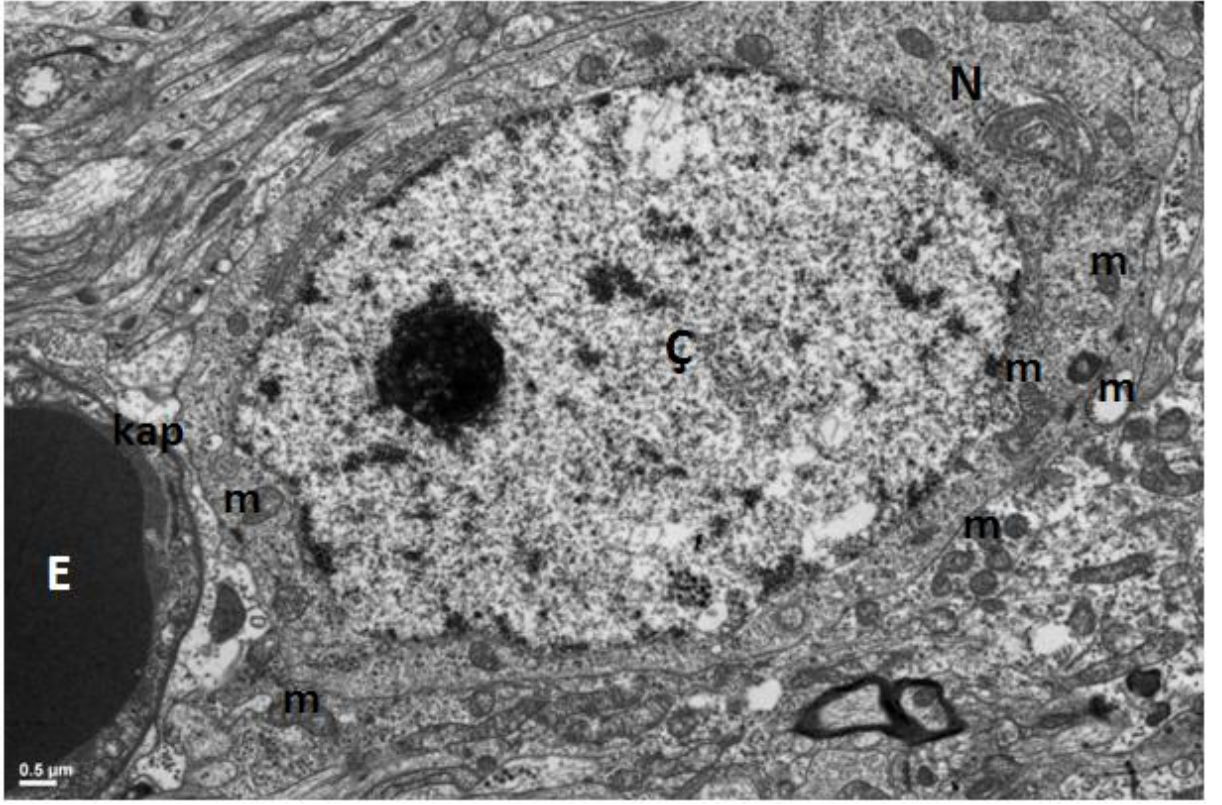


**Şekil 10: III. gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**

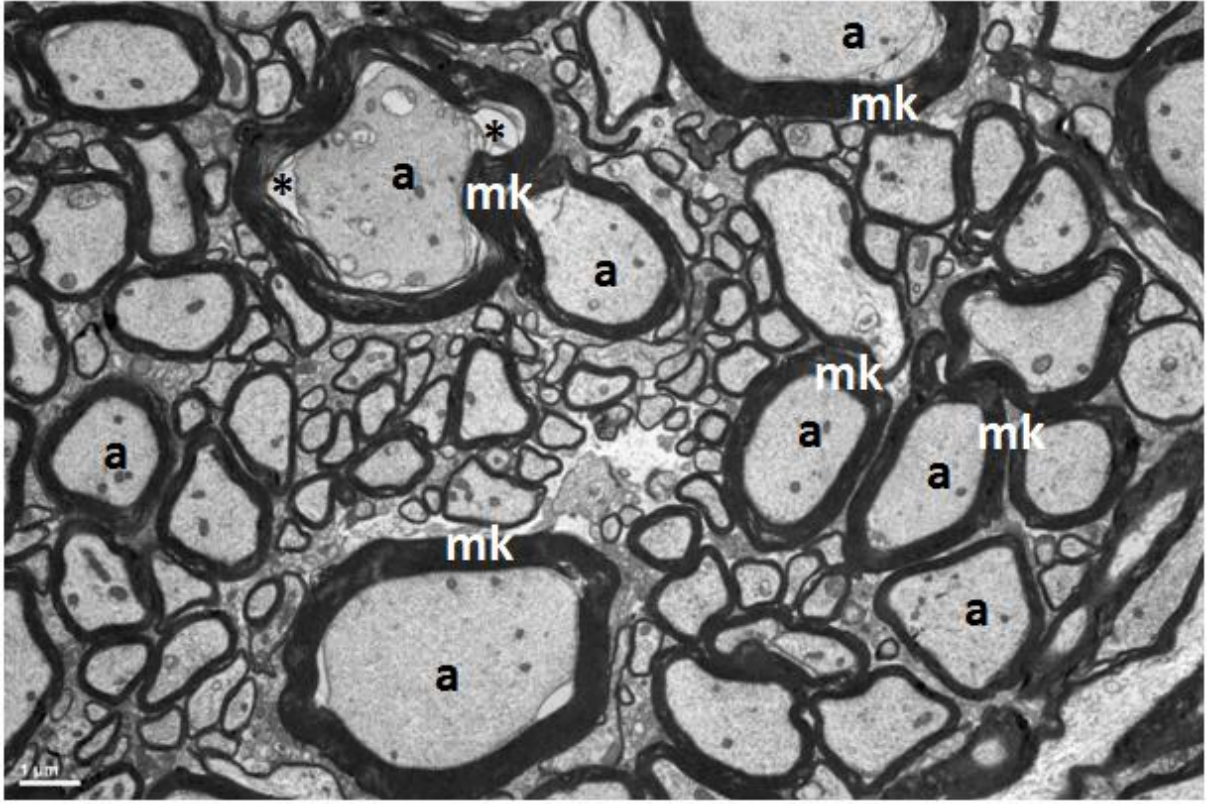
Yaralanma bölgesinde hemoraji ve ödem alanlarının (\*) varlığı dikkati çekmektedir. Miyelinli sinir liflerinde aksoplazmada mitokondriyon (m), nörotübül ve nörofilamanlar izlenmektedir. Akson (a), miyelin kılıf (mk), eritrosit (E) gösterilmiştir. Bar= 1µm.

#### 4.1.4. IV. Grup

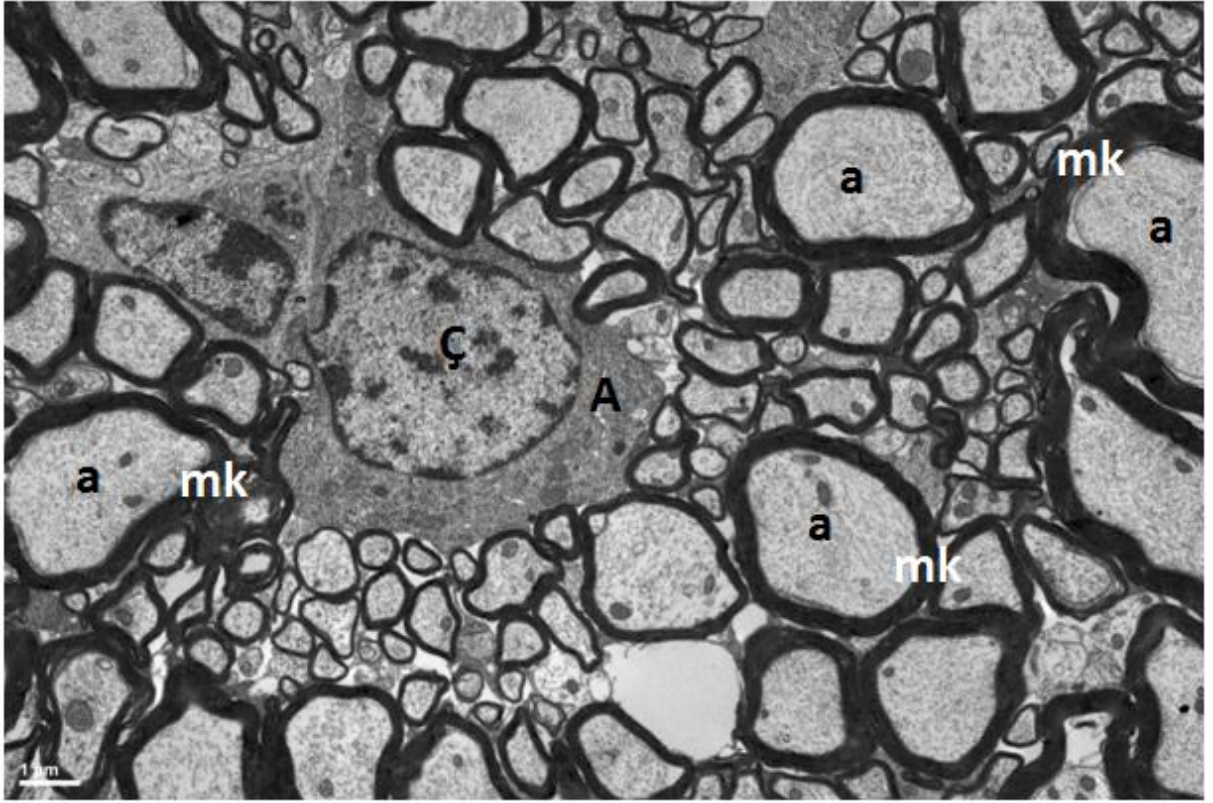
Omurilik yaralanmasından sonra Agmatin 100mg/kg tedavisi uygulanan deneklerden alınan spinal kord doku örnekleri elektron mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, gri ve beyaz cevherde ödem ve hemorajik alanların bu grupta da yer aldığı, bununla birlikte bu değişikliklerin diğer tüm deney gruplarına oranla azalmış olduğu görüldü. Gri cevherde yerleşen nöron perikaryonlarında çekirdek ve sitoplazmik organellerin tedavi edilmeyen ve Agmatin 50mg/ kg tedavisi uygulanan gruplara göre daha az dejeneratif değişiklikler gösterdiği dikkati çekti. Sinir hücresi sitoplazmik organelleri olan granüler endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar, golgi kompleksi, lizozomlar, nörotübül ve nörofilamanlar genellikle normal yapılarını korumaktaydı (Şekil 11). Bazı alanlarda miyelin kılıfın lamellar yapısında düzensizlikler, miyelin kılıfın akson içerisine doğru invajinasyonu gibi dejeneratif değişiklikler izlenmekle birlikte (Şekil 12), miyelinli sinir liflerinin genel olarak normal yapısını korumuş olduğu gözlemlendi. Nöroglia hücrelerinin çekirdek ve sitoplazmik organellerde hafif yapısal değişiklikler ile birlikte, genel olarak normal ince yapılarına sahip oldukları ayırtedildi (Şekil 13).



**Şekil 11: IV. Gruptan elde edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**  
Gri cevherde yerleşim gösteren nöron perikaryonunda (N), çekirdekte (Ç) kromatin artışı görülmektedir. Sitoplazmada bazı mitokondriyonlarda (m) krista kayıpları izlenmekle birlikte sitoplazmik organeller genel olarak normal yapılarını korumaktadır. Kapiller damar (Kap), eritrosit (E) gösterilmiştir. Bar= 0,5 µm.



**Şekil 12: IV. Gruptan elde edilen spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.**  
Beyaz cevherde yerleşen miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) hafif değişiklikler dışında genellikle normal yapıda oldukları izlenmektedir. Bununla birlikte bazı alanlarda akson içerisinde büzüşme (\*) gibi değişiklikler dikkati çekmektedir. Bar= 1μm.



**Şekil 13: IV. Gruptan alınan spinal kord dokusunun elektron mikroskopik görünümü.** Beyaz cevherde yerleşen bir astrositin (A), çekirdeği (Ç) ve sitoplazmik organelleri ile normal yapısını korumuş olduğu izlenmektedir. Miyelinli sinir lifleri de, akson (a) ve miyelin kılıftaki (mk) hafif değişiklikler ile birlikte normal yapılarını korumaktadır. Bar= 1µm.

## 4.2. Biyokimyasal Bulgular

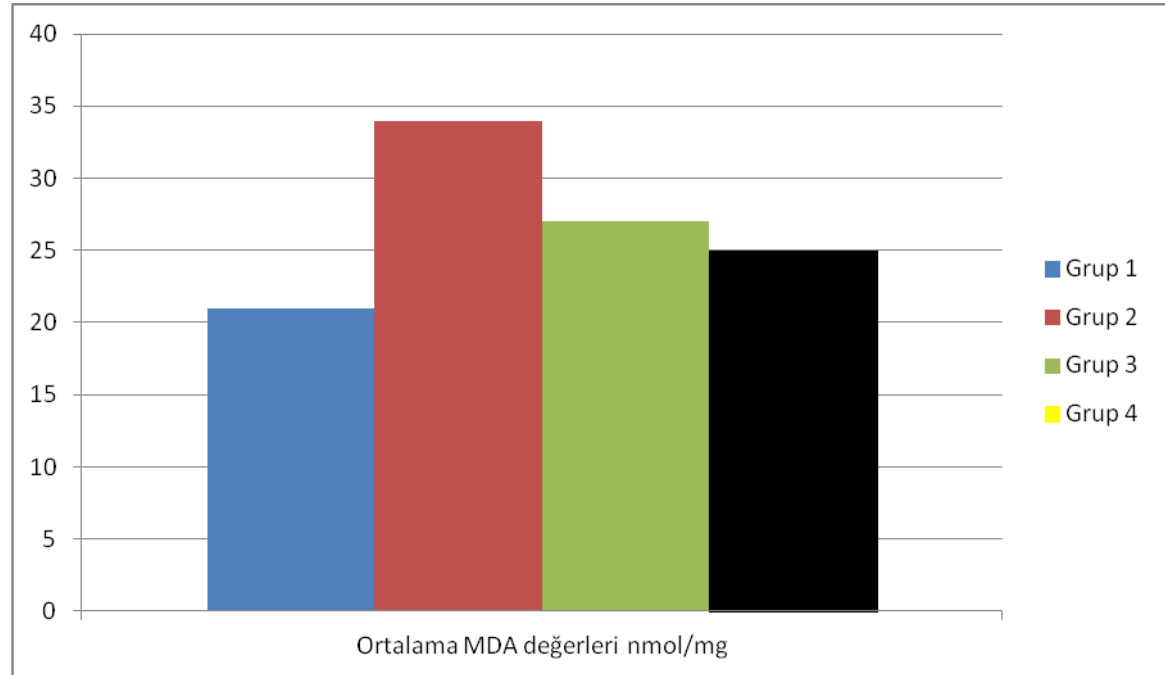
Malondialdehit (MDA) miktarı, lipid peroksidasyonu seviyesinin değerlendirilmesinde önemli bir ölçüttür. Spinal kord yaralanmasından 14 gün sonra elde edilen doku örnekleri ölçülen MDA değerleri şekil 14’ te, gruplardaki MDA sonuçları ve ortalama değerleri ise tablo 3’ te gösterilmiştir.

II. gruptaki MDA değerlerinin I.gruba göre anlamlı artış gösterdiği , III. ve IV . grupların MDA değerlerinin II. gruba göre anlamlı azalma gösterdiği izlenmiştir ( $p<0.05$ )

Ancak her iki tedavi grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. ( $p>0.05$ )

**Tablo 3: Gruplardaki MDA sonuçları ve ortalama değerleri**

|                 | Ortalama       | Standart sapma | Minimum      | Maksimum     |
|-----------------|----------------|----------------|--------------|--------------|
| <b>GRUP I</b>   | <b>21.3100</b> | <b>2.48795</b> | <b>17.40</b> | <b>24.40</b> |
| <b>GRUP II</b>  | <b>34.0500</b> | <b>3.22361</b> | <b>28.70</b> | <b>38.40</b> |
| <b>GRUP III</b> | <b>27.0100</b> | <b>2.04094</b> | <b>24.10</b> | <b>31.10</b> |
| <b>GRUP IV</b>  | <b>25.7500</b> | <b>2.38665</b> | <b>22.10</b> | <b>29.50</b> |



**Şekil 14. MDA Değerleri**

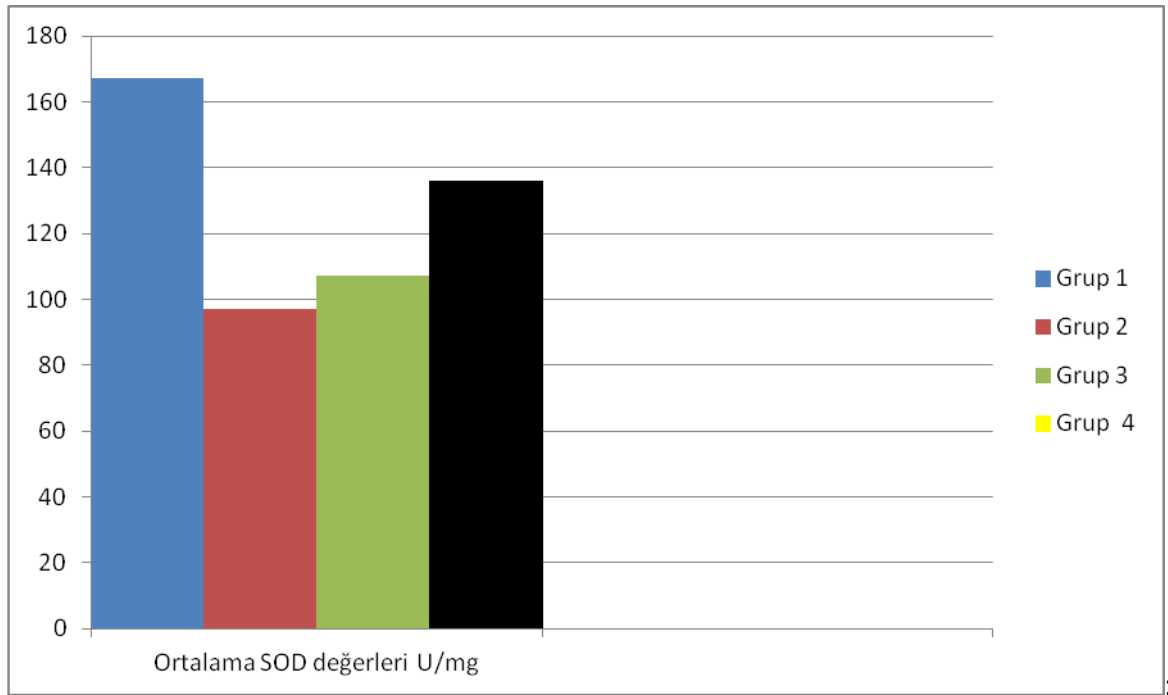
Süperoksit Dismutaz (SOD), reaktif oksijen ürünlerine karşı hücrel savunma enzimlerinden biridir. SOD enzimi, süperoksit radikallerini GSH-Px ile indirgenen hidrojen peroksite indirger. Reaktif oksijen ürünlerinin artmış metabolik aktivitesi sırasında SOD'un ve diğer antioksidanların nötralizasyon kapasitelerinin aşılması halinde reaktif oksijen radikalleri ortamda birikirler.

Omurilik yaralanmasından sonra 14. Günde elde edilen doku örneklerinde ölçülen SOD seviyeleri şekil 15' de gösterilmiştir.

II.gruba ait SOD seviyesi, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında , SOD seviyesinin bu grupta anlamlı azalma gösterdiği saptandı ( $p<0.05$ ).

IV.grup II ve III.gruplar ile karşılatırıldığında SOD seviyesinin anlamlı olarak arttığı ( $p<0.05$ ) dikkat çekti.

II ve III. gruplar arasındaki fark anlamsızdı.



Şekil 15. SOD Değerleri

### 4.3.Fonksiyonel Değerlendirme

#### 4.3.1. Inclined Planed Pestinin Değerlendirilmesi

##### *Gruplardaki 1, 7 ve 14. Günlerdeki Inclined Plane Dereceleri Değerlendirilmesi*

Grup 2 ile grup 3 arasında izlem süresince değerlendirilen inclined plane dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir. ( $p=0,143>0,05$  ;  $p=0,07>0,05$  ; $p=0,07>0,05$ )

1. günde Grup 2 ile grup 4'ün inclined plane dereceleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir.(  $p=0,07>0,05$ )

1. ve 2. haftalarda grup 4' teki inclined plane dereceleri grup 2 ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. ( $p=0,007<0,05$  ;  $p=0,007<0,05$ )

İzlem süresince grup 3 ve grup 4 arasında inclined plane dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ( $p>0.05$ )

**Tablo 4: Gruplardaki 1, 7 ve 14. Günlerdeki Inclined Plane Dereceleri Değerlendirilmesi**

|               |    | Grup<br>n |    |      |         | Toplam<br>n<br>p* |
|---------------|----|-----------|----|------|---------|-------------------|
|               |    | 1         | 2  | 3    | 4       |                   |
| Birinci gün   | 30 | 0         | 6  | 2    | 0       | 8                 |
|               | 35 | 0         | 4  | 8    | 9       | 21                |
|               | 40 | 0         | 0  | 0    | 1       | 1                 |
|               | 60 | 10        | 0  | 0    | 0       | 10                |
| Medyan        |    | 60        | 30 | 35** | 35***   | 0,0001            |
| Birinci hafta | 30 | 0         | 4  | 1    | 0       | 5                 |
|               | 35 | 0         | 6  | 6    | 5       | 17                |
|               | 40 | 0         | 0  | 3    | 5       | 8                 |
|               | 60 | 10        | 0  | 0    | 0       | 10                |
| Medyan        |    | 60        | 35 | 35** | 37,5*** | 0,0001            |
| İkinci hafta  | 30 | 0         | 4  | 1    | 0       | 5                 |
|               | 35 | 0         | 6  | 6    | 5       | 17                |
|               | 40 | 0         | 0  | 3    | 5       | 8                 |
|               | 60 | 10        | 0  | 0    | 0       | 10                |
| Medyan        |    | 60        | 35 | 35** | 37,5*** | 0,0001            |

Kruskal Wallis testi

#### 4.3.2. Motor Fonksiyon Skorlaması

##### *Gruplardaki 1, 7 ve 14. Günlerdeki Motor Fonksiyon Skorları Değerlendirilmesi*

1. Gün travma grubu ile tedavi grupları arasında motor fonksiyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (grup2-3.:  $p=1,00>0,05$ , grup 2-4:  $p=1,00>0,05$ )

1.haftada grup 2 ile grup 3 arasında motor fonksiyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ( $p=0,529>0,05$  )

Grup 4'ün 1. haftadaki motor fonksiyon skorları grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir. ( $p=0,003<0,05$ )

2.haftada tedavi gruplarının motor fonksiyon skorları grup 2' ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir.( grup 2-3:  $p=0,015<0,05$  , grup2-4:  $p=0,0001<0,05$ )

İzlem süresince grup 3 ve grup 4 arasında sadece 2. haftada motor fonksiyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiştir ( $p<0,05$ )

**Tablo 5: Gruplardaki 1, 7 ve 14. Günlerdeki Motor Fonksiyon Skorları Değerlendirilmesi**

|               |   | Grup<br>n |    |       |      | Toplam<br>n<br>p* |
|---------------|---|-----------|----|-------|------|-------------------|
|               |   | 1         | 2  | 3     | 4    |                   |
| Birinci gün   | 0 | 0         | 10 | 10    | 10   | 30                |
|               | 4 | 10        | 0  | 0     | 0    | 10                |
| Medyan        |   | 4         | 0  | 0**   | 0*** | 0,0001            |
| Birinci hafta | 0 | 0         | 6  | 5     | 0    | 11                |
|               | 1 | 0         | 4  | 3     | 6    | 13                |
|               | 2 | 0         | 0  | 2     | 4    | 6                 |
|               | 4 | 10        | 0  | 0     | 0    | 10                |
| Medyan        |   | 4         | 0  | 0,5** | 1*** | 0,0001            |
| İkinci hafta  | 0 | 0         | 4  | 0     | 0    | 4                 |
|               | 1 | 0         | 6  | 6     | 0    | 12                |
|               | 2 | 0         | 0  | 4     | 6    | 10                |
|               | 3 | 0         | 0  | 0     | 4    | 4                 |
|               | 4 | 10        | 0  | 0     | 0    | 10                |
| Medyan        |   | 4         | 1  | 1**   | 2*** | 0,0001            |

*Kruskal Wallis Testi*

## 5. TARTIŞMA

Medulla spinalis yaralanması insidansı yüksek olmakla birlikte özellikle genç nüfusta görülmesi toplum üzerinde olumsuz etki bırakmaktadır. Toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen ciddi bir nörolojik problemdir. Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hücresel hasar, omurilikteki hasarın zaman içinde artması ve klinik kötüleşme ile sonuçlanır. İkincil hücresel hasar, birincil hasarı izleyerek dakikalar, saatler içinde başlayıp haftalarca devam eden bir süreçtir. Birincil hasarı tedavi etmek mümkün değildir. İkincil 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 oluşumudahil olmak üzere hem vasküler hem de nöronal hasarları kapsar. Bunlar arasında **lipid peroksidasyonunun** akut yaralanmanın ardından ortaya çıkan ana ikincil mekanizma olduğu düşünülmektedir (97).

Klinik tedavinin asıl amacı ikincil hasar kaskadının durdurulması veya yavaşlatılmasıdır. Tedavi seçenekleri belirlenebilmesi açısından cerrahi, farmakolojik ve fizyolojik metodları içeren çeşitli deneysel araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir. Bu amaçla son 20 yılda omurilik yaralanmasında farmakolojik korumaya yönelik pek çok çalışma yapılmış, ancak bunların hiçbiri insanda kullanılacak standart tedavi olamamıştır. Geliştirilmeye çalışılan modern farmakolojik tedavi protokolleri, ilerleyici nöron hasarının azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekeli en aza indirmeyi amaçlamaktadır.

Günümüze kadar insan omurilik yaralanmasını taklit edebilecek, tanı ve tedavide gelişmeler sağlanmasında yardımcı olacak birçok deneysel omurilik yaralanma modeli geliştirilmiştir. 1911 yılında 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. 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 (13).

Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katokolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır.

Glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun nöronal hasara yol açtığı Olney ve ark. tarafından tanımlanmış ve eksitotoksitite olarak isimlendirilmiştir (12,101). Eksitotoksinler tarafından tetiklenen hücre ölümü akut nöronal şişmeye öncülük eden sodyum ve klorun ve daha sonra gecikmiş hasara neden olan kalsiyum'un hücre icine girmesini sağlayan spesifik reseptörler tarafından yönetilir (101).  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATP'az mekanizmasındaki yetmezlik ise  $\text{Na}^+$  ve suyun hücre içi birikimini şiddetlendirir (12). Bir sonraki aşamada  $\text{Ca}^{+2}$ 'un hücre içine akımı artar, bu ise  $\text{Ca}^{+2}$  bağımlı proteaz ve lipazların aktivasyonuna yol açarak hücre membranının ve nroflamanların hasarına neden olur (102).

Sonucta; intrasellüler kalsiyum birikimi sanral sinir sistemindeki toksik hücre ölümünün son ortak yolu olarak belirtilmektedir (12).

Glutamat nrotoksititesi ayrıca lipid peroksidasyonunun başlaması,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATP'az aktivitesinin inhibisyonu, doğrudan membran sodyum kanal inaktivasyonu, mitokondrial solunum enzimlerinin inhibisyonu, gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz inaktivasyonu gibi mekanizmarla nöronal ölümü şiddetlendiren, reaktif oksijen ve nitrojen rnerinin meydana gelmesi ile sonuçlanan birtakım olaylar zincirini başlatır (12). Travmatik spinal kord hasarı sonrası eksitotoksititeye neden olan aşırı glutamat birikimi; hücre membran polarizasyonuna bağlı olarak sinaptik veziküllerden glutamat salınımının uyarılması ve enerji yetmezliğine bağlı glutamat geri alım mekanizmalarının yeterli çalışmamasıdır (103).

Deneyssel spinal kord yaralanması sonrası medulla spinalis icersinde ekstrasellüler eksitatuvar amino asid konsantrasyonun 15 dakika sonra toksik düzeye ulaştığı gösterilmiştir (98).

Gutamat farklı farmakolojik ve elektrofizyolojik özelliklere sahip bir grup reseptör aracılığı ile aktivasyon gösterir (98).

NMDA reseptörleri Glutamik asit(glu) bağlanması sonrasında  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{+2}$ 'un hücre içine girişine,  $\text{K}^+$  'un ise hücre dışına çıkışına neden olurlar (104). NMDA reseptörünün özelliği, hem voltaj hem de ligand kapılı olmasıdır. NMDA reseptörleri tarafından oluşturulan eksitotoksitede, nöronal ölümü şiddetlendiren reaktif moleküllerin oluşması sonucu meydana gelen bir takım olaylar kaskadının başlaması söz konusudur (12). NMDA reseptör aracılığı ile  $\text{Ca}^{+2}$  düzeyinin yükselmesi sonucu, serbest radikal oluşumu, mitokondrial hasar, gen ekspresyon değişiklikleri gibi mekanizmalarla hücrel hasar şiddetlenmektedir (12,105).

NMDA reseptörlerinin spinal kordda eksitator nörotransmisyon yönetici özelliği olduğu düşünülmektedir (101).

4-Aminobutyl guanidin'nin (Agmatin) glutamat reseptör alt grubu olan NMDA reseptörlerini selektif olarak bloke ettiği ve bu işlevinin guanidino grubu ve NMDA reseptör kanal porları ile olan ilişkisinden kaynaklandığı gösterilmiştir(78).

Omurilik yaralanmasında glutamat antagonistleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan 3-propyl-l-phosphonic acid (CPP) ve dizocilpine (MK-801) ile yapılan çalışmalar travmatik ve iskemik omurilik hasarında histolojik ve klinik iyileşmeye neden olduklarını göstermiştir (42).

Bu çalışmamızda, deneysel omurilik yaralanması sonrası gelişen ikincil hasardan korumak amacıyla kullanılan selektif NMDA reseptör antagonisti olan agmatinin biyokimyasal, histopatolojik ve motor fonksiyonlardaki iyileşme üzerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

Agmatin; bir semi-esansiyal amino asid olan L-arginin'in mitokondrial arginin dekarboksilaz (ADC) ile dekarboksilasyonu sonucu oluşan, endojen guanidoamin yapısında bir moleküldür (75-88).

Özellikle nörotravma sonrası NMDA reseptör inhibisyonu, nöroprotektif etkisi üzerinde durulmasını sağlamıştır (90).

Bununla bağlantılı olarak NMDA reseptör blokajının travmatik ve iskemik modellerde sekonder hasara karşı koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (54).

Faden ve ark. yaptığı çalışmada spinal kord travması sonrası NMDA reseptör aktivasyonunun gecikmiş doku hasarını arttırdığı düşünülmüş ve reseptör blokajının tedavide yarar sağlayacağı belirtilmiştir (101).

Sun ve Faden ağırlık düşürme yaralanmasından 4 saat sonra işaretlenmiş MK801 (dizocilpine) bağlanmasının azaldığını göstermişlerdir (42). Travmatik beyin ve omurilik yaralanmasından sonra glutamat reseptörlerinin hızla azalması, hücrenin kendisini eksitotoksisteden koruma çabası olabilir.

Yu ve ark. yaptıkları deneysel çalışmada 14 gün süreyle 100 mg/kg dozunda agmatin uygulamanın spinal kord travmasında doku hasarını azalttığını ve fonksiyonel iyileşmeyi olumlu yönde etkilediğini gösterdiler (81).

Lipid peroksidasyonu seviyesinin değerlendirilmesinde önemli bir ölçüt olan MDA değerlendirilmesinde;

III.gruptaki MDA değerlerinin 1.gruba göre anlamlı artış gösterdiği ,III. ve IV . grupların MDA değerlerinin II. gruba göre anlamlı azalma gösterdiği izlenmiştir ( $p<0.05$ ). Ancak her iki tedavi grubu arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir ( $p>0.05$ ).

Süperoksit Dismutaz (SOD), reaktif oksijen ürünlerine karşı hücresel savunma enzimlerinden biridir. SOD enzimi, süperoksit radikallerini GSH-Px ile indirgenen hidrojen peroksite indirger. Reaktif oksijen ürünlerinin artmış metabolik aktivitesi sırasında SOD'un ve diğer antioksidanların nötralizasyon kapasitelerinin aşılması halinde reaktif oksijen radikalleri ortamda birikirler.

II.gruba ait SOD seviyesi, diğer gruplar ile karşılaştırıldığında , SOD seviyesinin bu grupta anlamlı azalma gösterdiği saptandı ( $p<0.05$ ).

IV.grup, II ve III.gruplar ile karşılaştırıldığında SOD seviyesinin anlamlı olarak arttığı ( $p<0.05$ ) dikkat çekti.

II ve III. gruplar arasındaki fark anlamsızdı.

Deneklerin klinik fonksiyonel iyileşmeleri eğik düzlem testine göre değerlendirildi.

İzlem süresince 1. ve 2. haftada grup 4' teki inclined plane dereceleri grup II' ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p=0,007<0,05$  ;  $p=0,007<0,05$ ).

Ancak tedavi gruplarında inclined plane dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ( $p>0.05$ )

Travma uygulanıp tedavi verilen sıçanların eğik düzlem test sonuçlarında birinci haftadan itibaren artış görülmeye başlandı.

Motor nörolojik muayeneleri ise Drummond ve Moore kriterlerine göre değerlendirildi.

Grup IV'ün 1. haftadaki motor fonksiyon skorları grup II'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p=0,003<0,05$ ).

2.haftada tedavi gruplarının motor fonksiyon skorları grup II'ye göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir.( grup II-III:  $p=0,015<0,05$  , grupII-IV:  $p=0,0001<0,05$ )

İzlem süresince grup III ve grup IV arasında sadece 2. haftada motor fonksiyon skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiştir ( $p<0,05$ )

Travma uygulanıp tedavi verilen sıçanların motor fonksiyon skorlarında birinci haftadan itibaren artışlar görülmeye başlandı.

Histopatolojik incelemede tedavisiz travma grubuna göre Agmatin tedavisi verilen gruplarda gri ve beyaz cevherde ödem ve hemorajik alanların bu grupta da yer aldığı, bununla birlikte bu değişikliklerin diğer tüm deney gruplarına oranla azalmış olduğu görüldü. Hücresel düzeydeki yapıların korunmuş olduğu, daha az dejeneratif değişiklikler gösterdiği görüldü.

Çalışmamızda; Reaktif oksijen ürünlerine karşı hücresel savunma enzimlerinden biri olan SOD seviyelerinde artma ve lipid peroksidasyonunda önemli bir gösterde olan MDA seviyelerindeki azalma saptandı. Eğik düzlem testi ve Drummond Moore kriterleri kullanılarak yapılan klinik motor fonksiyon değerlendirmelerinin istatistik sonuçları eklendiğinde Agmatinin nöroprotektif bir ajan olduğu düşünülmüştür.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hücrel hasar, omurilikteki hasarın zaman içinde artması ve klinik kötüleşme ile sonuçlanır. İkincil yaralanma mekanizmalarından lipid peroksidasyonunun akut yaralanmanın ardından ortaya çıkan ana ikincil mekanizma olduğu düşünülmektedir (97). Klinik tedavinin asıl amacı ikincil hasar kaskadının durdurulması veya yavaşlatılmasıdır. Tedavi seçenekleri belirlenebilmesi açısından cerrahi, farmakolojik ve fizyolojik metodları içeren çeşitli deneysel araştırmalar yapılmaktadır.

### Çalışmamızın sonucunda ;

1. Lipit peroksidasyon seviyesini belirlemede önemli ölçüt olan MDA seviyeleri ölçülmüştür. İlaç uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre MDA seviyelerinde anlamlı düzeydeki azalmanın Agmatinin ikincil hücrel hasarda ana mekanizma olduğu düşünülen lipit peroksidasyonu üzerinde koruyucu olabileceği düşünülmüştür.
2. Reaktif oksijen ürünlerine karşı hücrel savunma enzimlerinden biri olan SOD seviyeleri de ölçülmüştür. İlaç uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre SOD seviyelerinde anlamlı düzeyde artma saptanmıştır. Agmatinin antioksidan aktiviteyi artırıcı etkisinin olabileceği düşünülmüştür.
3. Klinik verilerin istatistiksel sonuçları tedavi grubunda, travma grubuna göre motor fonksiyonlarda anlamlı düzelme olduğunu gösterdi.
4. Histopatolojik incelemede tedavisiz travma grubuna göre Agmatin tedavisi verilen gruplarda gri ve beyaz cevherde ödem ve hemorajik alanların bu grupta da yer aldığı, bununla birlikte bu değişikliklerin diğer tüm deney gruplarına oranla azalmış olduğu görüldü. Hücrel düzeydeki yapıların korunmuş olduğu, daha az dejeneratif değişiklikler gösterdiği görüldü.

Spinal kord travma modelinde agmatinin yararlı etkisinin bulunduğu biyokimyasal parametreler , motor fonksiyon skorları, inclined plane dereceleri ile birlikte aynı zamanda histopatolojik olarak da desteklenmiş oldu.

Bu çalışmamızda omurilik zedelenmesinde birincil hasardan sonra gelişen ikincil hasardan omuriliği korumak için Agmatinin tedavi protokollerinde yer alabileceği düşünülmüştür. Ancak agmatinin etkisini gösterecek yeni klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. **Sekhon LH, Fehlings MG.** Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine* 26;S2-S12, **2001**
2. **Karamehmetoglu SS, Unal S, Karacan I, Yılmaz H, Togay HS, Ertekin M, Dosoglu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T:** Traumatic spinal cord injuries in İstanbul, Turkey. An epidemiological study. *Paraplegia* 33(8): 469-71, **1995**
3. **Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C,** The role and timing of decompression in acute spinal cord injury. *Spine* **2001**; 26:s101-s110.
4. **Fehlings MG, Tator CH.** An evidence-based review of surgical decompression for acute spinal cord injury: rationale, indications and timing based on experimental and clinical studies. *J Neurosurg (Spine)* **1999**; 91:1-11
5. **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**
6. **Tator CH, Fehlings MG.** Review of Secondary Injury Theory of acute Spinal Cord Trauma With Emphasis of Vascular Mechanisms. *J. Neurosurg.* 75:15-26, **1991.**
7. **Allen AR:** Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report. *JAMA*; 57:878-880
8. **Allen AR:** Remarks on the histopathological changes in the spinal cord due to impact. An experimental study. *J Nerv Dis* 1914; 41:141-147
9. **Blight AR, Zipper MP.** Acute spinal cord injury: Pharmacotherapy and drug development perspectives. *Current Opinion in Investigational Drugs* **2001**; 2:801-808
10. **Burns AS, Ditunno JF.** Establishing prognosis and maximizing functional outcomes after spinal cord injury. *Spine* **2001**; 26: s137-s145.
11. **Dumont AS, Dumont RJ, Oskouian R.** Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? *Current Opinion in Neurology* **2002**; 15:713-720.
12. **Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J.** Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin. Neuropharmacology* **2001**; 24(5): 254-264.

13. **Xarchas K, Bourandas J.** Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* **2003**; 28(13):1481-1484.
14. **Hughes JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus:** An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia* **1988**; 26:71-82.
15. **Elsberg CA. The Edwin Smith Surgical Papyrus and diagnostic treatment of injuries to the skull and spine .** *Ann Med. Hist.* **1931**; 3:271-279.
16. **Somntag VKH.** History of degenerative and traumatic disease of the spine.In a history of neurosurgery. Greenblat SH. *American Association of Neurological Surgeons* **1997**;355-357.
17. **Ohry A, Ohry KK. Spinal** cord injuries in the 19th century.Churchill Livingstone,Edinburg **1989**; 9-35
18. **Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W.** Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* **2002**; 27(14):1504-1510.
19. **Amar AP, Levy ML.** Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* **1999**; 44(5)1027-1040.
20. **Gülmen V, Zileli M.** Deneysel omurilik yaralanması. *Omurilik ve omurga cerrahisi 2nd ed.* **2002**; 951-956.
21. **Taoka Y, Okajima K.** Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* **1998**;56:341-358.
22. **Bunge RP, Puckett WR, Beccera JL, et al.** Observations on the pathology of human spinal cord injury: a review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* **1993**; 59:75-89
23. **Tator CH. Spine-spinal cord relationships in spinal cord traumas.** *Clin Neurosurg* **1983**; 30:479-494
24. **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.
25. **İplikçioglu C:** Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. *Omurilik Omurga Cerrahisi,Ed. Zileli M, Özer AF, 2.Baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 2002*, s: 459-465.
26. **Li Y, Bickel KD, Im MJ.** Effects of deferoxamine on ischemia/reperfusion injury after peripheral nerve compression. *Ann Plast Surg.* **1996**;36(4):365-9.
27. **Ducker TB, Kindt GW, Kempe JG.** Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurgery* **1971**;35:700-708.

28. **Nemecek ST.** Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol* **1978**;20:395-405.
29. **Kobrine AI, Evans DE, Rizzoli HV.** The effects of ischemia on long-tract neuro conduction in the spinal cord. *J Neurosurgery* **1979**;50:639-644.
30. **Fehlings MG, Tator CH, Linden RD.** The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials and spinal cord blood flow. *EEG Clin Neurophysiol* **1989**;74:241-259.
31. **Carlos TM, Harlan JM.** Leucocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* **1994**;84:2068-2101.
32. **Demopoulos HB, Flamm ES, Seligman M.** Further studies on free radical pathology in the major central nervous system disorders: effect of very high doses of methylprednisolone on the functional outcome, morphology and chemistry of experimental spinal cord impact injury. *Can J Physiol Pharmacol* **1981**;60: 1415-1424.
33. **Kılınç A, Kılınç K:** Nitrik oksit. Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Ankara: *Palme*, **2003**.
34. **Hall ED, Yonkers PA, Andrus PK.** Biochemistry and pharmacology of lipid antioxidant in acute brain and spinal cord injury. *J Neuro Trauma* **1992**; 9 : 165.
35. **Demopoulos H, Flamm E, Pietronigro D.** The Free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. *Acta Physiol Scand* **1980**; 492:91.
36. **Young W, Huang P, Kume K.** Cellular, ionic and biomolecular mechanisms of the injury process: Editörler: Benzel EC, Tator CH. Bölüm 4, 27-42, AANS, Illinois
37. **Uzan M.** Medulla spinalis yaralanmalarında fizyopatoloji, In Hancı M; *Medulla spinalis yaralanmaları* **2000**; 152-161.
38. **Halliwell B, Gutteridge JM.** Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. *Biochem.J.* **1984**;219:1-14.
39. **Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ.** Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *Brain res* **1991**;547-:344-348.
40. **Choi DW.** Excitotoxic cell death. *J Neurobiol* **1992**;23:1261-1276.
41. **Giulian D, Robertson C.** Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol* **1990**;27:33-42.
42. **Sun FY, Faden AI.** High and low-affinity NMDA receptor binding sites in the rat spinal cord: effects of traumatic injury. *Brain Res* **1994**;666: 88-92.
43. **Bakshi R, Faden AI.** Competitive and non-competitive NMDA antagonists limit dynorphin A-induced rat hindlimb paralysis. *Brain Res* **1990**;507:1-5.

44. **Guha A, Tator CH, Piper I.** Increase in rat spinal cord blood flow with the calcium channel blocker, nimodipine. *J Neurosurgery* **1985**;63:250-259.
45. **Balentine JD.** Pathology of experimental spinal cord trauma. *Lab Invest* **1978**;39:236-253.
46. **Schwab ME, Bartholdi D.** Degenerative and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* **1996**;76:319-370.
47. **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.
48. **Emery E, Aldana P, Bunge MB.** Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* **1999**;89:911-920.
49. **Springer JE, Azbill RD, Mnapp PE.** Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. *Nature Med* **1999**;5:943-946.
50. **Citron BA, Arnold PM, Sebastian C.** Rapid upregulation of caspase-3 in rat spinal cord after injury: mRNA, protein and cellular localization correlates with apoptotic cell death. *Exp Neurol* **1997**;72:317-323.
51. **Bethea RJ, Nagashima H, Acosta MC.** Systemically administered interleukin10 reduces tumor necrosis factor alpha production and significantly improves function recovery following traumatic spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* **1999**;16:851-863.
52. **Li M, Ona VO, Kaul M.** Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and-3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* **2000**;99:333-342.
53. **Kaptanoğlu E.** Temel nöroÇirurji; Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi.1. Baskı, Ankara: BuluÇ Tasarım ve Matbacılık Hizmetleri, **2005**.
54. **Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ.** Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. *Clin. Neuropharmacology* **2001**; 24(5):265-279
55. **Marion DW.** Head and spinal cord injury. *Neurol.Clin.* **1998**; 16(2):485-502.
56. **Ducker TB, Zeidman SM:** Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* **1994**; 19:2281-2287.
57. **Tuma RF;Vasthare US, Arforks KE, Young WF.** Hypertonic saline administration attenuates spinal cord injury. *J Trauma* **1997**; 42:54-60.
58. **Bracken MB, Holford TR.** Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurgery* **1993**;79:500-507.
59. **Bracken MB, Shepard M, Holford TR.** Methylprednisolone or tirilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurgery* **1998**;89:699-706.

60. **acute spinal cord injury:** an inappropriate standard of care. *J Neurosurgery* **2000**;93(suppl): 175-179.
61. **Nesathurai S. Steroids** and spinal cord injury : revisiting the NASCIS 2 and NASCIS 3 trials. *J Trauma* **1998**;45: 1088-1093.
62. **Rhoney DH, Luer MS, Hughes M. New pharmacological** approaches to acute spinal cord injury. *Pharmacotherapy* **1996**; 16:382-392.
63. **Hall ED.** effects of the 21-aminosteroid U-74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* **1988**; 6:176-179.
64. **Hall ED, Wolf DL, Althaus JS. Beneficial** effects of the alpha opioid recep. Antagonists. *Brain Res* **1987**; 435:174-180.
65. **Faden AI, Takemore AE, Portogese TS.** Alpha selective opiate antagonists norbinaltorphimine improves outcome after spinal cord ischemia. *J Neurosurg* **1986**; 64:951-961.
66. **Imanaka T, Hukuda S, Maeda T.** The role of GM-1 ganglioside in the injured spinal cord of rats. *J Neurotrauma* **1996**; 13:163-170.
67. **Faden AI. Therapeutic** approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol* **1997**; 72:377-386.
68. **Hall ED, Braugler JM. Role** of lipid peroxidation in posttraumatic spinal cord degeneration. *CNS Trauma* **1987**; 3:281-293.
69. **Weir B. Calcium** antagonists, cerebral ischemia and vasospasm. *Can J Neu.***1984**; 11:239-246.
70. **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.
71. **Teng YD, Wrathall JR.** Local blockade of sodium channels by tetrodotoxin ameliorates tissue loss and long term functional deficits resulting from experimental spinal cord injury. *J Neurosci* **1997**; 17:4359-4366.
72. **Shwartz G, Fehlings MG.** Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with Riluzole. *J Neurosurg* **2001**;94: 245-56.
73. **Katzung BG.** Basis and clinical pharmacology. Stamford: Appleton-Lange **1998**; 304-317.
74. **Arnold PM, Citrom BA, Ameenuddin S.** Caspase-3 inhibition is neuroprotective after spinal cord injury *J Neurochem* **2000**; 74:811-829.
75. **Aanonsen L, Wilcox GL.** Nociceptive action of excitatory amino acids in the mouse: effects of spinally administered opioids, phencyclidine and sigma agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, **1987**;243; 9-19.

76. **Reis D, Regunathan S.** Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *TIPS*, **2000**; 21:187-193.
77. **ZHU MY, Piletz JE, Halaris A, Regunathan S.** Effect of agmatine against cell death induced by NMDA and glutamate in neurons and PC12 cells. *Cell. And Mol. Neuobiol.*, **2003**; 23:865-871.
78. **Grillo MA, Colombatto S.** Metabolism and function in animal tissues of agmatine, biogenic amine from arginine. *Amino Acids*, **2004**; 26:3-6.
79. **Lortle MJ, Novotny WF, Peterson OW, Vallon V.** Agmatine, a bioactive amin of arginine. *J.Clin. \_nvest.*, **1996**; 97(2):413-420.
80. **Sastre M, Regunathan S, Reis D.** Uptake of agmatine into rat brain synaptosomes: Possible role of cation channels. *J Neurochem*, **1997**; 69:2421-2426.
81. **Yu CG, Marcillo AE, Fairbanks CA, Wilcox GL, Yezierski RP:** Agmatine improves locomotor function and reduces tissue damage following spinal cord injury. *Neuroreport*, **2000**; 11(14):3203-3207.
82. **Fairbanks CA, Schreiber KL, Brewer KL, Yu CG, Stone L.** Agmatine reverses pain induced by inflammation, neuropathy, and spinal cord injury. *PNAS*, **2000**; 97(19):10584-10585.
83. **Gilad GM, Salame K, Rabey JM, Gilad V.** Agmatine treatment is neuroprotective in rodent braininjurymodels.*PharmacologyLetters*,**1996**;58(2)41-46.
84. **Pineda J, Ruiz-Ortega JA, Martin-Ruiz R, Ugedo L.** Agmatine does not have an activity at alpha 2 adrenoceptors which modulate the firing rate of locus coeruleus neurons. *Neurosci. Lett.*, **1996**; 219:103-106.
85. **Otake K, Ruggiero DA, Regunathan S, Wang H, Milner TA, Reis DJ.** Regional localization of agmatine in rat brain. *Brain Res*, **1998**; 787:1-14.
86. **Galea E, Regunathan S, Eliopoulos V, Feinstein DL, Reis DJ.** Inhibition of mammalian nitric oxide synthases by agmatine, an endogenous polyamin formed by decarboxylation of arginine. *Biochem J*, **1996**; 316:247-249.
87. **Morrissey JJ, Klahr S.** **Agmatine** Activation of nitric oxide synthase in endoteial cellss. *Proc.Assoc. Am. Phys.*, **1997**; 51-57.
88. **Abe K, Abe Y, Saito H.** Agmatine suppresses nitric oxide production in microglia. *Brain Research*, **2000**; 872:141-148.
89. **Wiesinger H.** Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Progress in Neurobiology*, **2001**; 64:365-391.
90. **Gilad GM, Gilad VH.** Accelerated functional recovery and neuroprotection by agmatine after spinal cord ischemia in rats. *Neuroscience Letters*, **2000**; 296:97-100.

91. **Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH.** Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatric Research*, **2002**; 52(4):606-611.
92. **Raghavan SAV, Dikshit M.** Vascular regulation by the l-arginine metabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacol. Res.*, **2004**; 49:397-414.
93. **Dudkowska M, Lai J, Gardini G.** Agmatine modulates the in vivo synthesis and interconversion of polyamines and cell proliferation Bioch. et biophy. Acta., **2003**; 1619:159-166.
94. **Regunathan S, Youngson C, Raasch W, Wang H, Reis DJ.**  $\alpha$ -midozoline receptors and agmatine in blood vessels: anovel system inhibiting vascular smooth muscle cells. *J Pharmacol Exp.*, **1996**;30:295-300.
95. **Sastre M, Galea E, Feinstein D, Reis DJ, Regunathan S.** Metabolism of agmatine in macrophages: modulation by lipopolysaccharide and inhibitory cytokines. *Biochem J*, **1998**; 330:1405-1409.
96. **Rivlin AS, Tator CH:** Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. *J Neurosurg*; 47: 577-581, **1997**.
97. **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
98. **Amar AP, Levy ML:** Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* **1999**; 44(5)1027-1040
99. **Kruk Z, Pycock C:** Neurotransmitters and drugs. London, Chapman and Hall **1991**.
100. **Cooper J, Bloom Froth R:** The biochemical Basis of Neuropharmacology, 7th edition. Nev York, Oxford University press, **1996**
101. **Faden AI, Simon RP:** A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol.* **1988**; 23:623-626
102. **Meldrum B:** Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acids neurotransmitters. *Clin Sci.* **1985**; 68:113-122
103. **Mills CD, Xu GY, McAdoo J, Hulsebosch CE:** Involvement of metabotropic glutamate receptors in excitatory amino acid and GABA release following spinal cord injury in rat. *J Neurochem* **2001**; 79:835-848
104. **Fields RD, Yu C, Nelson PG:** Calcium network activity, and the role of NMDA channels in synaptic plasticity in vitro. *J Neurosci* **1991**; 11:134-146

- 105. Choi DW:** Ion dependence of glutamate neurotoxicity. *J Neurosci.* **1999**;7: 369-379
- 106. Kulkarni SK, Avodesh C, Sharma.** Nitric oxide: Anew generation of neurotransmitter. *Indian J. Br J Pharmacol*, **1993**; 25:14 -17.
- 107. Chabrier PE, Pallardy CD, Auget M:** Nitric oxide synthases: targets for therapeutic strategies in neurological diseases. *CMLS* **1999**; 55:1029-1035
- 108. Arnolda LF, Mckitrick DJ, Llewellyn-Smith IJ, Minson JB:** Nitric oxide limits pressor responses to sympathetic activation in rat spinal cord. *Hypertension***2001**; 36:1089-1092
- 109. Çelik M, Gökmen N, Elbayraktar S, et al:** Erythropoietin prevents motor Neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury. *PNAS*, 99:2258-2263, **2002**.
- 110. Kahraman S, Duz B, Kayali H, Korkmaz A, Oter S, Aydın A, Sayal A.** Effects of methylprednisolone and hyperbaric oxygen on oxidative status after experimental spinal cord injury: a comparative study in rats. *Neurochem Res.* **2007** Sep;32(9):1547-51.Epub2007May8.56