

İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakóltesi
Sualtı Hekimliğı ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI
MODELİNDE HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ
İLE METİLPREDNİZOLONUN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Salih Kaan Emek
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Akın Savaş Toklu

İSTANBUL- 2010

İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakóltesi
Sualtı Hekimliğı ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI
MODELİNDE HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ
İLE METİLPREDNİZOLONUN ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Salih Kaan Emek
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Akın Savaş Toklu

İSTANBUL- 2010

I.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde gelişen cerrahi teknikler ve medikal tedavilere karşın medulla spinalis (MS) hasarı ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmekte olup, önemli oranda iş gücü kaybına neden olmakta, yaşam kalitesini düşürmekte ve MS hasarlarında tedavi maliyetlerini belirgin ölçüde yüksek olmaktadır. Omurilik yaralanmalarının yıllık insidansı 15-40 / milyon, prevalansı ise 130-1124 / milyondur (1). Her ne kadar önlenmesine yönelik programlar uygulanmaya başlanmış olsa da insidensin düştüğüne dair hiçbir kanıt yoktur.

MS hasarı geçiren hastaların yaklaşık olarak yarısı hayatlarının en üretken çağında olan genç erkeklerdir. MS travmalarında ilk baştaki hospitalizasyonun maliyeti ve sonraki tıbbi bakım giderleri çok yüksektir. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde MS yaralanmasının tahmini maliyeti yılda 4 milyar dolardır (1,2). Bu nedenle MS hasarı için etkili bir tedavi yöntemi geliştirilmesinin çok büyük faydaları olacaktır (3).

Geçen son üç dekattır MS hasarından sonra nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeye yönelik ilgi giderek artmıştır. MS hasarında patofizyolojik süreçleri daha iyi anlamak, tedavide yeni seçenekler geliştirebilmemize katkı sağlar. Yapılan deneysel çalışmalar, travma sonrası oluşan hasarın karmaşık olduğunu; birincil ve ikincil olarak iki aşamada geliştiğini ortaya koymuştur. Birincil yaralanma, travma anında gerçekleşmekte olup, doku hasarı ve hücre ölümü sonucu meydana gelir. İkincil yaralanma ise endojen hücre ölümü yollarının aktivasyonu ile sonuçlanan, birincil yaralanma ile başlatılmış hücre ölüm kaskatının bir sonucudur. Deneysel çalışmalar ve klinik gözlemler MS lezyonlarının daha çok ikincil hasar mekanizmasıyla genişlediğini göstermektedir. Geçerli olan kanıtlar ikincil hasar sürecinde serbest radikallerin oluşmasının ve hücre membranı lipid peroksidasyonunun önemli bir rol oynadıkları yönündedir (4).

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran bileşiklerdir. Serbest bir radikal olan nitrik oksit (NO•) ve “reaktif nitrojen türleri” (RNOS) oksidatif ve nitrozatif stres oluşturarak toksik sonuçlara

neden olur. İnflamasyon, dolaşımsal şok ve iskemi-reperfüzyon fizyopatolojisinde NO• yol açtığı sitotoksisitenin temelini oluşturur. NO• düzeyleri kararlı son ürünleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin ölçümü ile dolaylı olarak ölçülebilmektedir. 3-nitrotirozin (3-NTyr) ise reaktif nitrojen türlerinin in vivo oluşumunu gösteren diagnostik bir belirteç olarak kullanılmaktadır (5).

Günümüzde travmaya bağlı MS yaralanmalarında özellikle ikincil hasarı önlemeye yönelik olarak çeşitli tedavi metotları denenmektedir (6-9). Ancak bunlardan yüksek dozda metilprednizolon tedavisi hariç hiçbir rutin tedavi yöntemleri arasına girememiştir. Akut MS travmasında yüksek doz metilprednizolonun ikincil hasara bağlı gelişen lipid peroksidasyonunu, serbest radikallerin oluşmasını ve ödemi sınırlandırarak etki ettiği düşünülmektedir (10). Ancak bu tedavinin etkinliği hakkında halen tartışmalar bulunmaktadır (4). Young ve arkadaşları tarafından MS hasarına yönelik tüm tedavi yaklaşımlarının metilprednizolon agonist çalışmasıyla karşılaştırılması tavsiye edilmiştir (10-12). Literatürde yüksek doz metilprednizolon tedavisiyle karşılaştırılması yapılmış yeni tedavi yöntemleri ve kombine tedavileri denenmiş birçok çalışma mevcuttur (3,10).

MS yaralanması çalışmalarında hayvan modellerinin kullanımı, uygulanmanın basit ve ucuz olması, neden-sonuç ilişkisi açısından insanlarla benzerlik göstermesi nedeniyle oldukça yaygındır (3). Deneysel hayvan modelleri içerisinden klip kompresyon metodu insanlarda MS'in akut kompresyon travmasını en iyi biçimde taklit edebilen model olarak seçilmiştir (13,14). Sıçanlar, temin edilmelerinin kolay olmaları, yapılan cerrahi müdahalelere oldukça dirençli olmaları ve MS vasküler sistemlerinin insanlarınkiyle son derece benzerlik göstermesi nedeniyle deneysel MS yaralanmasında son yıllarda tercih edilen deney hayvanı olmuştur (3,4,9,15-19).

Hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT), izole bir basınç odasında hastaya deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan [1 ATA (atmosfer absolute) =760 mmHg] daha yüksek bir basınçta aralıklı olarak % 100 oksijen solutulması ile uygulanan bir tedavi yöntemidir. Maske, başlık veya endotrakeal tüp ile uygulanan HBOT ile arteriyel oksijen basıncı 2000 mmHg'ya, doku oksijen basıncı da 400 mmHg'ya kadar

yükselebilmektedir. HBOT bazı durumlarda biyokimyasal, hücrel ve fizyolojik açıdan birçok yarar sağlar (20-22).

Gerek beyin gerekse MS travmalarının klinik göstergeleri bir hayli değişkendir. Lezyonlar travmanın şiddetine ve süresine göre değişkenlik gösterirler. Acil tedavileri, cerrahi dekompresyon, hemostaz, kırıkların sabitlenmesi ve eğer mümkünse reperfüzyon hasarından korunmaya yönelik olarak düzenlenmektedir.

Reperfüzyon hasarı üzerinde hiperbarik oksijenin etkisi incelenerek hasarı azalttığı yönünde bulgular elde edilmiştir (32). Benzer etkiler MS ve beyindeki iskemi-reperfüzyon hasarı için de geçerli gibi gözükmektedir. Literatürde yer alan birkaç deneysel ve retrospektif klinik çalışmada HBOT'un travmatik MS yaralanması üzerine olan olumlu etkilerinden bahsedilmektedir (30,32,33). HBOT'un MS hasarındaki etki mekanizmaları halen net olarak anlaşılamamıştır. Ayrıca günümüze kadar bu konuda prospektif randomize kontrollü klinik bir çalışma da yapılamamıştır (22-34).

Literatürde MS yaralanması ve buna yönelik geliştirilen tedavilerin klinik, histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle değerlendirildiği yüzlerce çalışma mevcuttur. Deneysel hayvan modelleri ile yürütülen bu çalışmaların gözden geçirilmesi sonucu MS hasarının değerlendirilmesi açısından biyokimyasal parametrelerin en güvenilir olduğu ve bunu histopatolojik bulgular ile klinik motor muayene sonuçlarının izlediği belirtilmiştir. Öte yandan iyileşmenin en belirgin olarak klinik sonuçlarda, sonra biyokimyasal parametrelerde en az ise histopatolojik bulgularda görüldüğü bildirilmiştir (4,8,10,16).

Günümüze kadar elde edilen bilgiler ışığında çalışmamızda sıçanlarda klip kompresyon metoduyla gerçekleştirilen deneysel MS yaralanması modelinde HBOT ve yüksek doz metilprednizolon tedavileri ayrı ayrı ve bir arada uygulanarak karşılaştırılması amaçlanmıştır. Karşılaştırılmada nörolojik fonksiyonların Tarlov'un motor fonksiyon skorlaması ile biyokimyasal değerlendirmenin MS dokusunda nitrit/nitrat, nitrotirozin düzeyleriyle, histopatolojik değerlendirmenin de hasarlı MS segmentinin horizontal kesitlerinin hematoksilin-eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenmesiyle değerlendirilmesi planlanmıştır.

II. GENEL BİLGİLER

II.A. MS HASARI

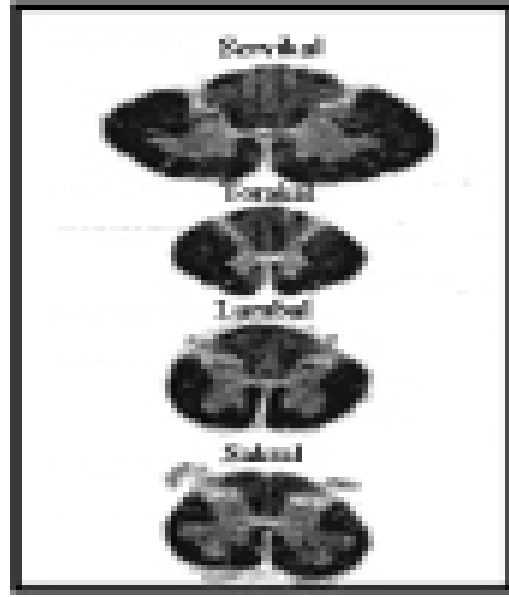
II.A.1. MS'in Yapısı

MS, vertebraların cisimleri ile arkusları arasında bulunan vertebral kanalda bulunur. Vertebral kanal atlas kemiğinin üst kenarından başlayarak koni şeklindeki alt ucu erkeklerde 1. ve 2. lumbal vertebralar arasındaki discus intervertebralis, kadınlarda ise 2. lumbal vertebranın ortasına kadar uzanır. Şahısa göre değişmekle birlikte yaklaşık olarak, 40-50 cm. uzunluğunda, 1 cm. çapında, 30 gram ağırlığındadır. MS en kalın olduğu yerde el başparmağı genişliğindedir (35,36). Merkezi Sinir Sisteminin (MSS) ancak % 2'sini oluşturmalarına rağmen, fonksiyonu bu oranla kıyaslanmayacak kadar önemlidir (Tablo 1).

Tablo 1: MS'in Fonksiyonları (37)

- Vücudun büyük bölümünden gelen duyuşsal impulsar MS'den geçerek beyne ulaşır.
 - İstemli hareketleri başlatan impulsar MS'den geçerek iskelet kaslarına gider.
 - Birçok organın otonomik innervasyonunu sağlayan lifler buradan geçer.
-

MS spinal sinirlerin çıkış yerlerine göre servikal, torakal, lumbal, sakral olmak üzere dört bölüme ayrılır. Hem renk hem de yapı bakımından içte gri cevher dışta beyaz cevher olmak üzere farklı iki farklı cevherden oluşmuştur. *Substantia alba* denilen beyaz cevher miyelinli sinir lifleri ile glial hücrelerden yapılmıştır. Beyaz cevherde seyreden sinir lifleri ya MS'in değişik segmentlerini birbirlerine bağlayan kısa yollardır ya da çeşitli MS segmentlerini beyin merkezlerine birleştiren uzun yollardır (36-40). (Şekil 1)

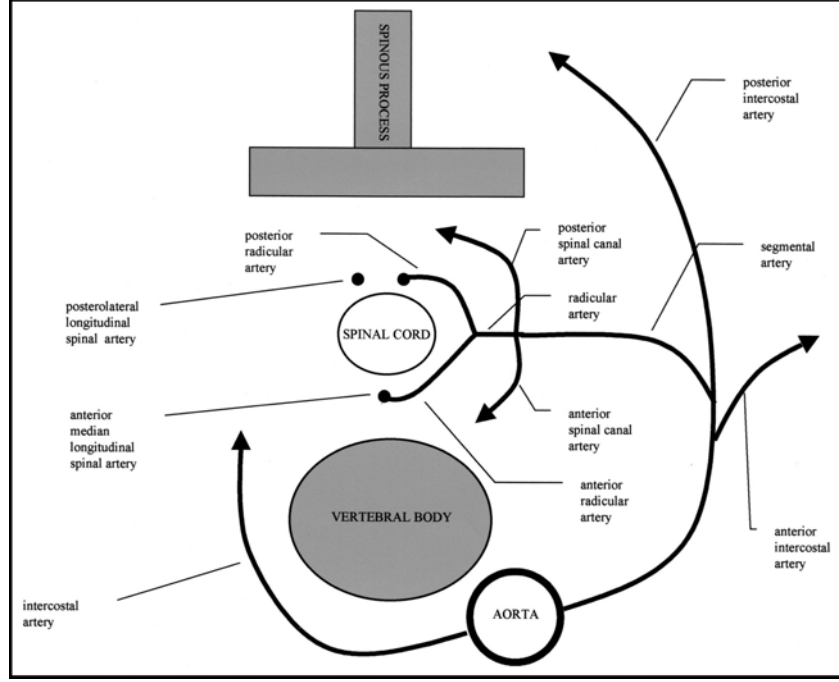


Şekil 1: MS'in Değişik Seviyelerdeki Transvers Kesileri (37)

Gri ve beyaz cevher içerisindeki kan damarlarının segmental dağılımı vasküler yapıları dışardan gelecek travmaya duyarlı kıldığından, MS'in damarsal yapısı önemlidir. Aynı zamanda vasküler yapıların anatomisi MS'in tüm eksenini boyunca ikincil hasar gelişmesi hakkında ipucu sağlar (19,36-40).

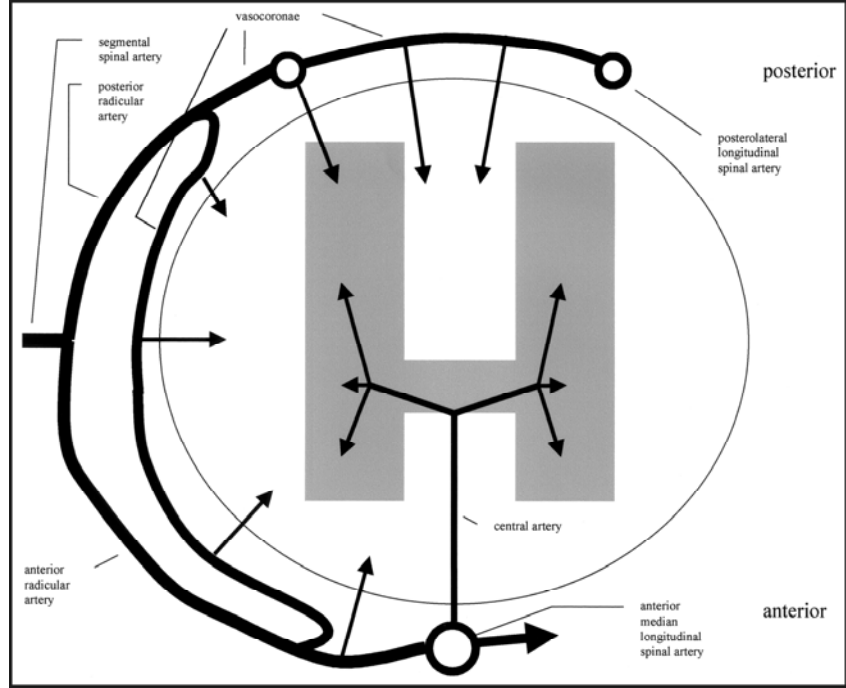
İnsanda MS'in kanlanması segmental yerleşimli longitudinal ana damarlardan sağlanır. Erişkinde ekstrensek arterler olarak adlandırılan değişken sıralı arterler çoğu zaman yerleşim olarak omurganın dış kısmına yakın bölgede bulunmaktadır. Segmental bir spinal arter intervertebral foramen içine girer ve MS'in her segmentinde, spinal kanalın dışında üç dala ayrılır. Bu dallar anterior ve posterior longitudinal spinal kanal arterler ve radiküler arterlerdir (41) (Şekil 2). Radiküler arterler sinir kökü boyunca devam ederler ve anterior radiküler arter ve posterior radiküler arter olmak üzere ikiye dallanırlar. Dura materi deldikten sonra anterior ve posterior radiküler arterler MS'in yüzeyinde üç major damarı oluşturmak üzere birleşirler. Bu damarlar anterior median longitudinal spinal arter, sağ ve sol posterolateral longitudinal spinal arterlerdir (41) (Şekil 3). Bu arterlerin arasından birçok anastomozlar çıkarak piamater üzerinde damarlardan düzensiz bir ağ meydana

getirirler. Bu oluşum "*pial plexus*" veya "*vasocorona*" olarak adlandırılır. Bu anastomoz ağı özellikle yaralanma ile lokal kan akımının zayıflayabildiğı MS hasarında kritik rol oynar.



şekil 2: MS'in Ekstresek Arterleri (41)

Radiküler arterlerin her birinin MS'in içine doğru anterior ve posterior radiküler arterler olarak dallanması insanlara hastır. Servikal bölgedeki en önemli damarlar radiküler arterlerdir. Bunlar tipik olarak derin servikal arterlerden çıkarlar ve C5 ve C6 arasında MS'e girerler. Torakolomber bölgenin ihtiyacını geniş bir anterior radiküler arter karşılar. Bu arter ilk olarak 1882'de Adamkiewicz tarafından bu bölgenin kan temininin ayrılmaz bir parçası olarak tanımlanmıştır (19).



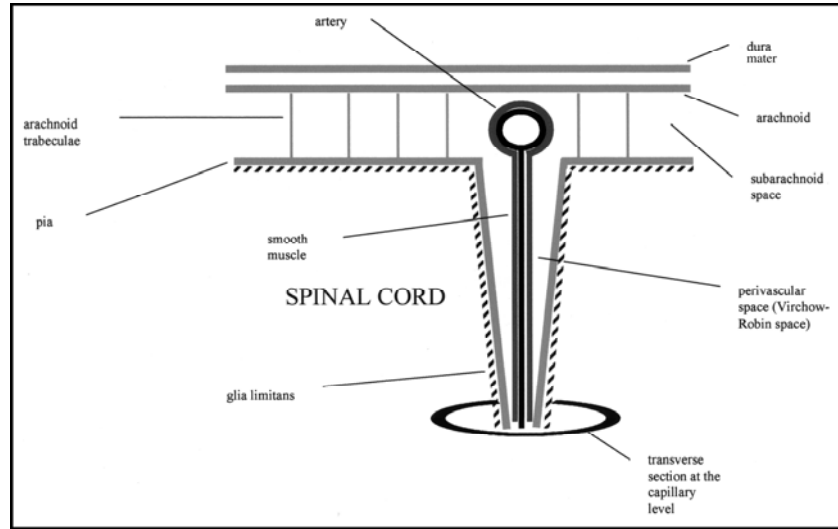
Şekil 3: MS'in İntrensek Arterleri (41)

Bir "watershed zone" kanlanmanın doğrudan değil daha çok üst üste gelen terminal vasküler alanlardan sağlandığı bir alandır. Bu nedenle "watershed zone" içindeki alanlar kanlanmaya katkıda bulunan vasküler alanlardan herhangi birinin kesilmesine özellikle hassastır.

Adamkiewicz tarafından "Parsiyel kan akımı teorisi" tanımlanmış (42) ve bu teori yakın zamanda spinal anjiyografiyle de (43) doğrulanmıştır. Bu teoriye göre MS'in kan akımı tek yönlü değildir ve kan akımı bazı damarlarda tersine dönebilir. Anterior median ve posterolateral longitudinal spinal arterleri oluşturan radiküler arterlerin inen ve çıkan dallarında kan akımları yukarı ve aşağı doğrudur. Yani her MS segmentinin içine doğru olan kan akımı, hem yukarı doğru hem de aşağı doğru olan kan akımlarının kısmen katılımını yansıtmaktadır. MS hasarlarında lokal kan damarları hasarlandığı ve çevresindeki dokunun kanlanmasını sağlayamadığı zaman bu çok yönlü akım MS'in korunmasına hizmet edebilir.

Kan akımının tersine çevrilmesi vücut postüründe değişiklikler gibi normal fizyolojik uyaranlara ve bazı patolojik durumlara yanıt olarak gözlemlenmiştir. Kan akımının tersine dönebilmesiyle MS hasarlarında azami ihtiyacı olan bölgelere akımın çevrilmesi ek bir koruma sağlayabilir (44).

Subaraknoid boşluktaki arterler MS'in içine girdiklerinde arteriol halini alırlar. Subaraknoid boşluk MS'in içine penetre olan arteriolleri çevreler ve "Virchow-Robin boşluğu" (Şekil 4) olarak adlandırılır. Bu boşlukta sadece beyin omurilik sıvısı değil ayrıca fagositler gibi hareket etme kabiliyetinde olan piaaraknoidal hücreler de bulunur. Arteriol duvarı çevresi bir düz kas tabakası ile çevrili endotel hücrelerle döşenmiştir.



Şekil 4: Virchow-Robin Boşluğu (41)

Kan/MS bariyeri kapiller seviyede olup moleküllerin santral sinir sistemine taşınmasını düzenlemeye ve sınırlamaya spesifikleşmiş endotel hücrelerinden oluşmuştur. Bu spesifikleşmiş ara yüz normal nöronal fonksiyonlar için gerekli olan sabit bir ortam sağlar. Kan/MS bariyerinin morfolojik temeli; kısmen plazma proteinlerini içeren büyük moleküllerin intersellüler hareketini etkili biçimde kesen bitişik endotel hücreler arasında bulunan sıkı bağlantıların varlığına dayanmaktadır.

II.A.2. Deneysel MS Yaralanması

İnsanlarda akut travmatik MS hasarının tedavisine yönelik rasyonel bir yaklaşımın geliştirilebilmesi için, kantitatif bir travma stimulusunun, kord lezyonunun morfolojisi ve fonksiyonel iyileşmesi ile korelasyon gösterecek biçimde standardize edilmiş ve tekrarlanabilir bir hayvan modeline ihtiyaç vardır. İnsanlarda gerçekleşen MS yaralanmalarının büyük kısmında birincil hasar mekanizması, omurganın fraktür-dislokasyon veya burst fraktürü sırasında kemik veya diskin MS'in içine doğru deplasmanına bağlı MS'in akut kompresyonu ya da laserasyonudur. Akut MS hasarı olan hastalarda, hasarlı bölgeden kaudaline kadar klinik nörolojik fonksiyonların tam kaybı oluşmuş olsa bile mekanik travmanın nadiren kordun tam transeksiyonuna yol açtığı iyi bilinmektedir (3,45,46,47).

MS künt travması ile başlayan patofizyolojik süreçle ilgili bildiklerimizin aslında çok azı insan çalışmalarından kaynaklanır. Bu bilgilerin çok önemli kısmı deneysel olarak MS hasarı gerçekleştirilen hayvan modellerinden gelmektedir. Laboratuvar şartlarında ümit vaat etmesine rağmen insanlar üzerindeki denemelerde etkinliğinin gösterilemediği nöroprotektif tedaviler yorumlandığı sırada bu durumun hesaba katılması özellikle önemlidir (48-50).

MS yaralanmasından sonra gelişen ikincil hasar çalışmalarının büyük bir kısmında ağırlık düşürme veya klip/balon kompresyon gibi künt travma modelleri kullanılmıştır. Ayrıca kesiye bağlı yaralanma modelleriyle aksonal yenilenme çok daha kolay çalışılır (Tablo 2).

Tablo 2: MS Yaralanmasından Sonra Gelişen İkincil Hasar Mekanizmalarının İncelenmesi İçin Hayvan Modelleri (3)

- MS yaralanması modellerinde primat, köpek, kedi ve tavşan gibi çok çeşitli hayvan türleri kullanılmıştır. Fare ve sıçan modelleri günümüzde en yaygın şekilde kullanılmaktadır.
 - MS’e künt biçimde hasar verilen modeller, akut patofizyolojik süreçleri incelemek için faydalı olmalarına rağmen bu modellerde lezyonun bulunduğu segmentin periferinde sağlam aksonlar kaldığı için aksonal yenilenmenin incelenmesi zordur.
 - MS’in tamamen veya kısmî olarak kesildiği modeller aksonal yenilenmenin incelenmesinde faydalıdır. Ancak bu modeller insanlarda karşılaşılan tipik yaralanmayı iyi şekilde temsil etmemektedirler. Bu nedenle akut patofizyolojik çalışmalar için pek uygun değildir.
 - Künt MS yaralanması hasarın şiddetinin derecelendirilebilmesi için yaygın olarak yüksekte ağırlık düşürme ve klip veya balon kompresyon modelleri kullanılmıştır.
-

Kompresyon tipi akut MS travmasını taklit için birkaç deneysel model geliştirilmiştir (3,48). MS hasarı araştırmaları için muhtemelen en yaygın kullanılmış deneysel model "Ağırlık Düşürme Tekniği" ile kontüzyon modelidir.

Tarlov ve arkadaşları tarafından 1953 yılında tanımlanan "Balon kompresyon tekniği"ni (3,51) Martin ve Bloedel 1973 yılında bir "Fogarty balonu" ile geliştirmiş (52); daha sonra Khan ve Griebel "12-062-2f Fogarty Arteriyel Embolektomi Balon Kateter Modeli" ile sıçanlarda başarıyla MS hasarı oluşturmuşlardır (3,13).

Croft ve arkadaşları tarafından 1972 yılında geliştirilen "Ağırlıkla Blok Tekniği"ni (blocking weight technique) (3,13,14,53) Holtz ve arkadaşları 1990 yılında çalışmışlar ve bu tekniğin hasar bölgesinde kan akımındaki düşüş ile nörolojik defisit arasında güvenilir ve tekrarlanabilir bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir (54).

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen “Klip Kompresyon Modeli”nde MS çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klempe edilmekte ve bu sayede değişik düzeylerde travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette hasar oluşturulabilmektedir. Bu modelin avantajı MS’in tamamının travmaya maruz bırakılarak aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki, bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası gelişen MS hasarına benzer bir model olmaktadır. Klip kompresyon metodunun en önemli dezavantajı tam bir laminektomi gereksinimidir (3,13,55-59).

Deney hayvanı olarak sıçanlar deneysel zorlukları tolere edebilmeleri ve MS kan dolaşımlarının insanlara çok benzemesi yanında ekonomik ve kolay elde edilebilir olduğu için MS hasarı deneysel çalışmaları için uygun gibi görünmektedir (15,16,49). Khan ve Griebel 1983 yılında sıçanlarda deneysel MS hasarı oluşturan üç tekniği (ağırlık düşürme metodu, anevrizma klipi kompresyon metodu ve ekstradural balon kompresyon metodu) karşılaştırmışlardır (13). Bu araştırmacılar tekrarlanabilir lezyonların en iyi biçimde anevrizma klipi kompresyon metodu ve ekstradural balon kompresyon metodu ile elde edildiğini bildirmişlerdir. Ağırlık düşürme tekniğiyle oluşturulan MS hasarının patogeneziindeki major faktörün mekanik olduğuna oysa klip ve balon kompresyon tekniklerinde hem mekanik hem de vasküler faktörlerin etkili olduğuna inanılmaktadır.

MS hasarının diğer bir modeli ise transeksiyondur. Birçok araştırmacı MS yenilenmesini araştırmak üzere MS’in fiziksel transeksiyonunu kullanmışlardır. Ancak insanlardaki MS yaralanmalarında MS’in transeksiyonuna nadiren rastlanmaktadır (3,45,46).

II.A.3. MS Hasarının Patofizyolojisinde Rol Oynayan Birincil ve İkincil Hasar Mekanizmaları

Akut MS hasarına yol açan patolojik sürecin iki basamaklı olduğu ileri sürülmüştür. MS travması başlangıçta mekanik olarak MS yapılarının bozulması ve

buna bağlı olarak gelişen ikincil olayların toplu olarak komşu sağlam dokuları harap etmesiyle sonuçlanır. Birincil hasar tipik olarak başlangıçtaki mekanik hasara dayalı iken ikincil hasar ilerleyici hücre hasarıdır.

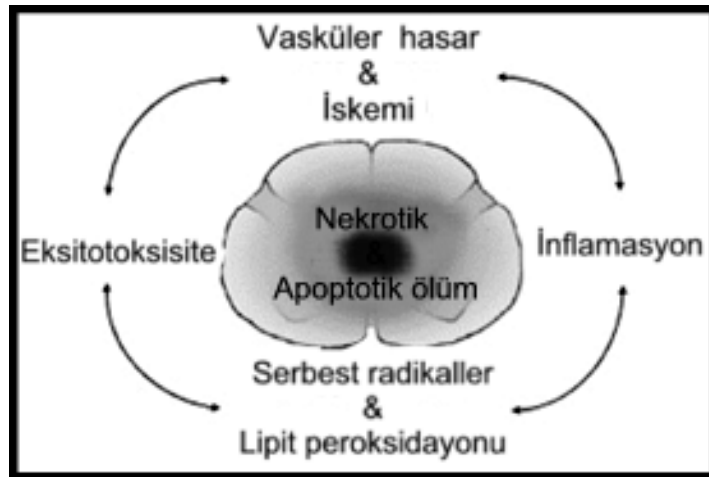
Tablo 3: Primer Hasar Mekanizmaları (39)

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

Primer yaralanmanın dört karakteristik mekanizması vardır (Tablo 3). İlk ve en yaygın mekanizma persistan kompresyon ve darbedir. Burst fraktürlerinde geriye doğru yer değiştiren kemik fragmanların kordu sıkıştırması, fraktür dislokasyon ve akut disk rüptürlerinde kanıtlanmıştır. İkinci mekanizma olan transient kompresyon ile darbe, altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı olan kişilerde hiperekstansiyon yaralanmalarında görülür. Distraksiyon aksiyel planda spinal kolonu gerici kuvvetlerin oluşturduğu mekanizmadır. Fleksiyon, ekstansiyon, rotasyon ya da dislokasyondan kaynaklanan distraksiyonel kuvvetlerin MS’i ve/veya onun vasküler yapısını gerip yırtmasından kaynaklanır. Son mekanizma laserasyon ve transeksiyondur. Kord laserasyonu ateşli silah yaralanması, keskin kemik fragman dislokasyonu yada ileri derecede distraksiyondan kaynaklanır (39).

İkincil hasar kavramı ilk defa 1911 yılında Allen tarafından ortaya atılmıştır. Allen köpeklerde deneysel MS yaralanması gerçekleştirdikten sonra myelotomi ve hematomyelin drenajı yapmış, sonrasında bu köpeklerin nörolojik fonksiyonlarında iyileşme olduğunu gözlemleyerek ikincil hasar kavramını ortaya atmıştır. Allen 1914 yılında hemorajik nekrotik arterlerin içinde MS’i ek olarak hasarlandıracak zararlı bir ajan bulunduğu teorisini ileri sürmüştür. Bu zararlı ajan “biyokimyasal faktör” olarak tanımlanmış ve travma sonrası devam eden otodestruksiyonun ilk deneysel kanıtı olmuştur.

Sekonder hasar, vasküler değişiklikleri (ödem, iskemi, hipoksi), eksitotoksik biyokimyasal olayları (serbest radikaller ve NO[•] formasyonu, proteaz salınımı) ve hücresel cevabı (immün hücrelerin invazyonu, glial hücrelerin aktivasyonu, nöronların ölümü) içerir. Primer travma sonrası oluşan subsellüler düzeydeki sekonder hasar, başlangıçtaki primer hasarın çevresindeki alanda, primer travmadan ilk aşamada teorik olarak zarar görmemiş nöral dokunun hasar görmesine ve ölümüne neden olur. Primer travma çevresinde yer alan bu risk altındaki alanın sekonder hasardan kurtarılması veya sekonder hasarın mümkün olan en alt düzeye indirilmeye çalışılması, MS yaralanması için geliştirilen tedavilerin temel hedefidir (3,6,7,9,39,60,61) (Şekil 5).



Şekil 5: MS Yaralanmasını Takiben Akut Patofizyolojik Süreçler (4).

Başlangıçtaki travma MS'in içinde nekrotik ve apoptotik hücre ölümüyle ilgili olan birçok farklı süreci başlatır. Bu süreçleriyle birbirlerine etkileri genellikle pozitif feedback olarak birinin diğerini daha kötüleştirdiği şekildedir.

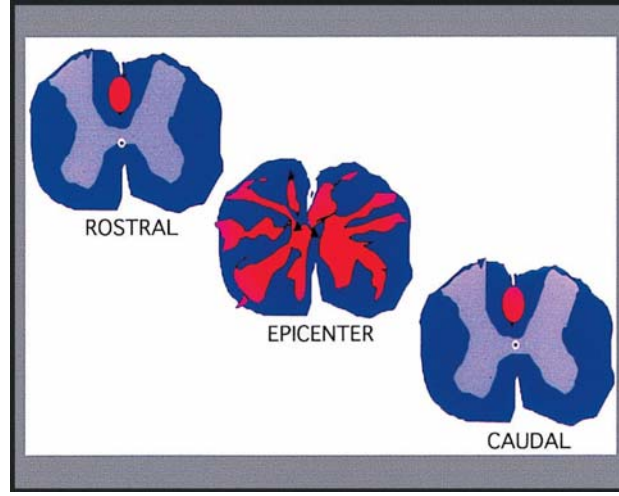
II.A.3.a. Vasküler Değişiklikler

Akut MS yaralanmalarında sistemik ve lokal olmak üzere çeşitli boyutlarda vasküler değişiklikler meydana gelir.

Akut MS hasarında ortalama sistemik arteriyel kan basıncında ani fakat geçici bir artışı derin bir hipotansiyon takip eder. Yaralanmadan sonraki 2 saat içinde MS kan akımı önemli şekilde düşer. Bunun nedeni sempatik tonusun azalarak myokardın etkilenmesidir. Young ve arkadaşları tarafından 1980 yılında kediler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada torasik MS segmentlerine kontüzyon hasarını takiben gelişen hipertansif fazın iki komponentinin olduğu ileri sürülmüştür. Bunlardan biri torasik sempatik gangliyonların oluşturduğu erken dönem diğeri ise adrenal bezlerin aracılık ettiği geç dönemdir. Faden ve arkadaşları bu geç hipertansif faz zarfında norepinefrin ve epinefrin plazma düzeylerinde eş zamanlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir (60,62-65).

MS kontüzyonunda gri ve beyaz cevher arasındaki kompliyans farklılığının bir sonucu olarak gri cevherdeki mikrodamarlanma gerilime ve strese maruz kalır. Gri cevherdeki mikrodamarların akut mekanik hasarı, mikrodolaşımı zayıflatarak perfüzyonu engeller. Bu durum, MS'in kanlanması önemli biçimde azalmasıyla birlikte otheregölasyonun bozulmasına yol açar. Travmaya maruz kalmış MS'teki azalmış kan akımı posttravmatik hipotansiyon, bradikardi ve kardiyak outputun azalmasını içeren iskemik hasarı şiddetlendiren sistemik yanıtların daha da kötüleşmesine yol açar (41,56,66).

Başlangıçtaki travmanın ağırlığı ile doğrudan orantılı olan kanamanın büyüklüğü hasar bölgesinde en fazladır. Rostral ve kaudal segmentlerde dorsal sütunun içine doğru uzanır. Santral kanama gri cevheri ve değişken oranlarda hasarın dışına bitişik beyaz cevheri tutar. Hasara uzak bölgelerde kanama tipik olarak dorsal sütunun en santral kısmında bulunur (41) (Şekil 6).



Şekil 6: MS Hasarında Hasarın Rostral ve Caudal Yayılımı (41)

MS hasarını takiben değişik zaman dilimlerinde in vivo olarak MS kan akımı üzerinde yapılan mikroanjiyografik çalışmalarda merkezi gri cevher ve onu çevreleyen beyaz cevherin mikrovasküler olarak perfüzyonunda bir ikiye bölünme olduğu saptanmıştır (3). İnsanlar üzerinde yapılan postmortem çalışmalarda vasküler perfüzyonun genel olarak beyaz cevherden ziyade gri cevherde esaslı şekilde kötüleştiği gösterilmiştir. Bu primer olarak mikrovasküler bir hadisedir ve anterior spinal arter gibi büyük çaplı damarlar normaldirler.

Şiddetli hasardan sonra erken dönemde arteriyel ve venöz kanamanın ardından kanamayı çevreleyen dokulardaki kan akımının azalması post travmatik iske miyle sonuçlanır (41,55,67). Nöronların yüksek metabolik ihtiyaçları gri cevheri iskemik hasara son derece duyarlı hale getirir. Bununla birlikte normalde MS'te mikrovasküler hemodinamiklerin sıkı kontrolünü sağlayan otoregülatuar mekanizmaların kaybı bu hassasiyeti daha da şiddetlenir.

Normalde otoregülasyonla sistolik kan basıncının 50 ila 130 mmHg arasındaki dalgalanmaları sırasında MS'in lokal hemodinamikleri dengede tutulabilir. Otoregülasyonun bozulması MS'i sistemik arteriyel basıncın etkilerine karşı savunmasız kılar. Akut travma geçirmiş hastalarda ilave yaralanmalar, ve/veya nörojenik şoka ikincil sistemik hipotansiyon ve sempatik tonusun kaybına bağlı

bradikardi gelişebileceği için travma resüsitasyonunun süratle yapılması, ve sistolik kan basıncının sık takip edilerek korunması başlangıçta verilecek yoğun bakımın kritik yönleridir. MS yaralanması sonrası ortalama arteriyel basıncın 90 mmHg veya üstünde tutulması önerilmiştir (58).

İskemik hasar aşağıdaki olaylardan birinden veya hepsinden kaynaklanarak ortaya çıkabilir:

(1) Kan- MS bariyerinin bozulmasına bağlı vazojenik ödem (60,68)

(2) Bitişik dokuların doğrudan basısı (69)

(3) Mekanik travmanın bir sonucu olarak, veya oksihemoglobin ve endotelin içeren eritrosit komponentlerine maruziyete bağlı olarak meydana gelen gri cevherin çoğunu sentrifügal besleyen sulkal arteriyel damar ağının vazospazmı (70-72)

(4) Tromboz veya trombosit agregasyonu

(5) Eksitator aminoasitler

Yaralanan MS'te ödem tek başına bir fenomen olmayıp, glutamat eksitotoksitesisi gibi diğer yaralanma mekanizmalarına bağlı olarak gelişmektedir. İntrasellüler sodyum (Na^+) birikimine bağlı sitotoksik ödem buna örnek olarak gösterilebilir. Ödem sadece lezyon seviyesinde kalmaz hem rostral hem de caudal yönde ilerleme gösterir (60).

İskemi dönemini takiben MS bir reperfüzyon dönemine maruz kalır. Bu süreçte fagositik hücrelerin aktivasyonu ve hemoglobin degradasyonu sırasında yüksek konsantrasyonlarda bulunan katalitik metal iyonlarının serbestleşmesi ile ikincil hasarı daha da alevlendiren serbest radikaller belirgin biçimde artar. Merkezi sinir sistemi (MSS) özellikle serbest radikal hasarına eğilimlidir (67). Hücre membranları, serbest radikal hasarına duyarlı olan çoklu doymamış zincirli yağ asitleri açısından zengindirler. Bununla birlikte MSS antioksidan savunma mekanizmalarıyla bu olayı sınırlar. Beyin ve MS düşük düzeyde katalaz aktivitesi ve orta düzeylerde süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesi sergiler (41,73).

"Hem oksijenaz" (HO) hemin biliverdin, karbon monoksit ve demire degradasyonunda yer alan hız kısıtlayıcı bir enzimdir. Bu arayol safra pigmentlerinin güçlü bir antioksidan olduğunun gösterilmesi açısından önemlidir. Safra

pigmentlerinin serbest radikal hasarına bağı hücre hasarına karşı hücresel savunmada önemli bir fonksiyonları vardır (41,74). MSS'de HO'ın alt tipleri; mikrogliyal formu olan HO-1, yapısal formu olan HO-2 ve yakın zamanda bulunmuş formu HO-3 formu bulunur. MS hasarına bağı posttravmatik kanama HO-1'in güçlü bir indükleyicisidir (75). Tartışmalara rağmen HO-1'in MSS için koruyucu olduğu hakkındaki kanıtlar giderek artmaktadır. Panahian ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada HO-1 overekspresyonu yapan transgenik farelerde serebral iskemiden sonra hücre hasarında bir azalma olduğunu bulmuşlardır (41,76).

MS hasarından sonra Kan-MS bariyerinin bozulması sadece hasarlı bölge ile sınırlı olmayıp MS'in tüm aksisi boyunca sürer. Bariyer geçirgenliğinin bozulması, MS'in inflamatuvar hücrelerin toksik etkilerine maruz kalmasına neden olur. Ayrıca glutamat ve glisin gibi aminoasit nörotransmitterler de ortamda yüksek konsantrasyonda bulundukları zaman hücrelere toksik olabilirler. Lökosit infiltrasyonunun nöral yapılara zararlı olduğu yönünde önemli deliller olmasının yanında bariyer bozukluğunun inflamatuvar bir cevabın yokluğunda da zararlı olabileceği kanıtlanmıştır. Kan basıncının geçici şekilde yükselmesinin sonucu olarak bariyer bozulmasının geri dönüşümsüz patolojik doku hasarına neden olduğu gösterilmiştir (77). Kan-MS bariyerin ortadan kalkmasıyla travmatize MS ödem gelişiminde rolü olan sitokinler ve vazoaktif peptidleri içeren geniş bir spektruma yayılmış maddelere maruz kalır. Bu maddelerden biri de "Endotelin"dir. Endotelin-1(ET-1) 21-aminoasitli bir peptiddir. Yanagisawa ve arkadaşları tarafından aort endotel hücrelerinin süpernatanı içinde tanımlanmıştır (78). ET-1 karakterize edildikten sonra ek olarak 3 izoformu daha tanımlanmıştır. Bunlar Endotelin-2 (ET-2), Endotelin-3 (ET-3) ve Vazoaktif İntestinal Konstriktör Polipeptiddir (VIC). Bu peptidler ayrı ayrı genler tarafından kodlanırlar.

ET-1'in MS hasarına bağı Kan-MS bariyer bozulmasına karıştığı kanıtlanmıştır. Sağlam MS'te ET-1'in intratekal verilmesi de Kan-MS bariyerinin bozulmasıyla sonuçlanır. Sonuç olarak ET-1'e bağı kan-MS bariyerinin bozulma mekanizması bu maddenin güçlü vazokonstriktör etkisine dayanıyor gibi gözükmektedir(41,79-83).

II.A.3.b. Serbest Radikal Hasarı

II.A.3.b.(1). Serbest Radikal Kavramı

Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ve bu çekirdeğin etrafında bulunan negatif yüklü elektronlardan oluşurlar. Elektronlar hem partikül, hem de dalga özelliğine sahip olup çekirdek etrafında ışık hızı ile hareket ederler. Bu nedenle de lokalizasyonları tam olarak tarif edilemeyip, yalnızca bulunma olasılığının en fazla olduğu yerden bahsedilebilir. Bu yerler de "orbital" olarak adlandırılır. Her orbital zıt spinli olmak üzere iki elektron içerebilir ve sayılarına göre, farklı enerji seviyesindeki elektronlar, farklı orbitalleri doldururlar (84).

Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, elektirik yüklü veya yüksüz olabilen, atom ya da moleküllerdir. Molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgiyle gösterilir ($R^\bullet$, R').

Elektronlar, belirli enerji düzeylerinde birbirlerine zıt momentli çiftler halinde bulunmaya eğilimlidirler. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron atoma ya da moleküle büyük bir aktiflik kazandırır (84,85). İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır. Hücre mikroortamında da önemli miktar ve çeşitlilikte radikaller üretilir.

Serbest radikaller organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluşabildiği gibi, dış etkenlerin etkisiyle de oluşmaktadır (Tablo 4). Bu faktörler genellikle birlikte etkilidirler (86-89).

Tablo 4: Başlıca Serbest Radikal Kaynakları (5)

Endojen kaynaklar:	Egzojen Kaynaklar:
• Mitokondrial elektron transport zinciri • Endoplazmik retikulum • Redoks döngüsü • Araşidonik asit metabolizması • Fagositik hücreler (monosit ve makrofajlar vs.) ve endotelial hücrelerdeki oksidatif reaksiyonlar. • Ksantin Oksidaz, NADPH Oksidaz vs. enzimler. • Otooksidasyon reaksiyonları.	• Diyet faktörleri • Çevresel faktörler (hava kirliliği) • İlaçlar, ksenobiyotikler • Zararlı ışınlar (X ışınları, ultraviyole)

Moleküler oksijenin kendisi (O_2) iki adet eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijene bir elektronun eklenmesi ile süperoksid ($O_2^{\bullet-}$), iki elektronun eklenmesi ile hidrojen peroksid (H_2O_2) ve üç elektronun eklenmesi ile yüksek düzeyde reaktif hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) meydana gelir. Bu üç serbest radikalın oluşmasını serbest veya proteine bağlı demir katalizleyebilir. $O_2^{\bullet-}$ 'in $NO^{\bullet}$ 'le birlikte interaksiyonuyla yapılanan diğer bir yüksek düzeyde reaktif madde peroksinitrit ($ONOO^{\bullet-}$) (4). Hücrel koşullarda oluşabilen önemli bazı reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrojen türleri (RNOS) tablo 5'de özetlenmiştir (84,85,90).

Tablo 5: Önemli Reaktif Oksijen Türleri ve Reaktif Nitrojen Türleri Özellikleri (86)

$O_2^{\bullet -}$	Süperoksit anyonu	Organizmada çeşitli kaynaklardan ilk oluşan serbest radikaldir. Oluşum yerinden fazla uzağa difüzyonu olmaz ve ROS oluşur. dismutasyon reaksiyonuyla derhal H_2O_2 ve oksijene dönüşür. Bu dismutasyon reaksiyonu spontan oluşabilir. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimiyle de 10.000 kat hızlandırılır. Hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. Ferritin +3 değerlikli demir içerir ve $O_2^{\bullet -}$ bunu +2 değerlikli ferröz demire dönüştürerek serbest hale geçirebilmektedir.
H_2O_2	Hidrojen Peroksit	Serbest radikal değildir. Demir (Fe^{+2}); bakır (Cu^{+2}) gibi geçiş metalleri ile serbest radikaller oluşturup, hücre membranının içine ve dışına geçebilir. H_2O_2 DNA kırılmalarına neden olan başlıca oksidandır. Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile suya dönüştürülür. Bu iki enzimin yetersiz olduğu veya H_2O_2 'in aşırı üretildiği hallerde ortamdaki demir başta olmak üzere geçiş (transition) elementlerinin katalizörlüğü ile hidroksil radikaline dönüşür.
$OH^{\bullet}$	Hidroksil radikali	Biyolojik moleküllere en kuvvetli atak yapan serbest radikaldir. $O_2^{\bullet -}$ ve H_2O_2 'in demir iyonu varlığında reaksiyona girmesi sonucu oluşur ki bu reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonu olarak adlandırılır. Ayrıca H_2O_2 , Fe^{+2} ve Cu^{+2} reaksiyona girmesiyle hidroksil radikali oluşur ki bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak bilinir. Hidroksil radikali hızla lipidleri, nükleik asitleri, proteinleri, serbest aminoasitleri ve bağ dokusu ana maddelerinden olan hiyaluronik asidi parçalar. Ayrıca ortamda bulunan halidlerle birleşerek çok şiddetli bir oksidan olan hipoklorik asidi (HOCl) ve monokloraminleri oluşturur. Karbonat iyonu ile (CO_3^{-2}) reaksiyona girerek güçlü bir oksidan ajan olan karbonat radikalinin ($CO_3^{\bullet -}$) oluşmasına neden olur. En iyi tanımlanmış biyolojik hasarı lipid peroksidasyonunu stimüle etmesidir.
$RO^{\bullet}$, $R^{\bullet}$, $R-S^{\bullet}$	Organik radikaller	Sırasıyla ROH, RH, RSH gibi yapıları moleküllerden köken alırlar.
$RCOO^{\bullet}$	Peroksil radikali	$LOO^{\bullet}$ olarak da gösterilen örneğin lipid yıkımında oluşan organik peroksil radikali

HOCl	hipoklorik asit	Zararlı mikroorganizmaları yıkan, nötrofil oksidatif patlama reaksiyonunda üretilir. Nötrofiller içerdikleri miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla $O_2^{\bullet-}$ dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 molekülünü klorür (Cl^-) iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür.
$O_2\downarrow\uparrow$	Singlet oksijen	Bilinen en aktif radikal olmasına rağmen çok stabil olmadığından <i>İn vivo</i> toksik etkisi yoktur. Yüksek oksijen basıncında ultraviyole ışınlarına maruziyet sonucunda oluşur.
$NO^{\bullet}$	Nitrik Oksit	Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) ile endojen iyonlarına bağlanır. O_2 ve diğer O_2 içeren serbest radikallerle farklı RNOS'lar üretir
$ONOO^{\bullet-}$	Peroksinitrit	Serbest radikal olmayan RNOS'dır. Ancak güçlü okside edici ajan olarak radikal olan NO_2 (nitrojenioksit) oluşturabilirler.

Vücudumuzda oluşabilen bu radikaller içinde $O_2^{\bullet-}$ ve $NO^{\bullet}$ devamlı olarak ve yoğun olarak üretilen radikallerdir. Ayrıca bu iki radikal, biyolojik sistemlerde tanıdığımız diğer bütün önemli radikaller ile radikal yapıda olmayan reaktif türlerin oluşumunu başlatabilecek özelliktedirler (9).

II.A.3.b.(2). Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)

$O_2^{\bullet-}$ normalde hücresel solunum sırasında mitokondriler tarafından ve sitoplazmada bazı oksidaz enzimlerinin bir yan ürünü olarak üretilir. İlave olarak patolojik koşullar altında aktive olan lökosit ve makrofajlar, immün sistemi etkileyen maddeler olarak işlev gören $O_2^{\bullet-}$ ve diğer serbest oksijen radikallerini yüksek miktarlarda üretirler. Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz esasen fagositlerdeki $O_2^{\bullet-}$ 'in primer kaynağı olarak bulunmuştur ve MSS'ni de içeren değişik diğer dokularda $O_2^{\bullet-}$ 'in ana kaynağı olduğu açığa çıkmıştır (91).

II.A.3.b.(3). Nitrik Oksit (NO•)

NO• insan biyolojisinde çeşitli etkileri son yıllarda tanımlanan, küçük molekül ağırlıklı ve renksiz, kokusuz, 3-5 saniye gibi çok kısa yarı ömre sahip, toksik bir gazdır. Küçük boyutu ve nötral yükünden dolayı, NO• serbestçe hücre zarından içeriye girer, otokrin ve parakrin davranış göstererek efektör molekül olarak rol oynar.

Hızlı metabolize olması nedeniyle başlıca etkilerini lokalizasyonuna ve üretim oranına bağlı olarak gösterir. NO• düşük derişimlerde (<1µM) spesifik biyolojik moleküllerle tepkimeye girerek doğrudan etkiler gösterir. Bu etkiler daha çok düzenleyici ve koruyucudur. Bazı metal kompleksleri (hemoglobin/miyogloblin, guanilat siklaz, sitokrom p450) ve yüksek enerjili radikallerle (lipid radikalleri, O₂, NO₂) direkt olarak tepkimeye girer. Endotelyal hücre relaksasyonunun fizyolojik mediatörü olarak tanımlanmış ve trombosit agregasyon ve adezyonunu önlemede, vazodilatasyonda, nörotransmisyon ve nöromodülasyonda rol aldığı ve mikrobisitik, sitostatik, sitotoksik etkileri olduğu gösterilmiştir (85). Fizyolojik konsantrasyonları için gerekli olan derişimin üstündeki konsantrasyonlarda (>1µM) dolaylı etkiler gösterir. NO•, O₂• radikali veya moleküler O₂ ile reaksiyona girerek “*reaktif nitrojen türleri*” (RNOS) adı verilen çeşitli reaktif ara ürünlerin oluşumuna neden olur (Tablo 6). NO•’in, yüksek konsantrasyonlarda, RNOS oluşumu aracılığı ile indirekt etkileri ortaya çıkar. Bunlar çeşitli biyolojik moleküllerin oksidasyonu, nitrozasyonu, nitrasyonu ve nitrolizasyonu şeklinde olabilir. Oluşan bu RNOS, oksidatif ve nitrozatif stres oluşturarak toksik sonuçlara neden olarak inflamasyon, dolaşımsal şok ve iskemi-reperfüzyon fizyopatolojisinde NO•’in yol açtığı sitotoksisitenin temelini oluşturur.

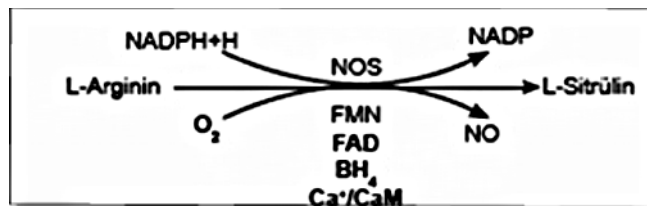
Radikal yapısı ve kısa yarı ömründen dolayı NO• radikalinin kendisinin tayini zordur. Çiftleşmemiş elektronlarından biri tek e⁻ oksidasyonu ile uzaklaştırılırsa nitrozonyum katyonu (NO⁺) ve tek e⁻ redüksiyonu ile de nitroksil anyonu (NO⁻) oluşur. NO• radikalinin O₂•⁻ anyon radikali ile reaksiyonu sonucu ONOO•⁻ anyon radikali oluşur. Oluşan ONOO•⁻; çok kısa ömürlü ve öncüllerinden

daha reaktif, kararlı yapıda bir moleküldür. Fizyolojik pH'da protonlanması sonucu; OH^- gibi davranan, kuvvetli bir oksidan madde olan peroksinitröz asit (ONOOH) oluşur. Oluşan bu ONOOH ise çok kararsızdır ve hızlıca nitrata (NO_3^-) dönüşür. $\text{NO}^\bullet$ radikalının oksijenli çözeltilerde otooksidasyon sonucu oluşan tek kararlı ürünü ise nitrittir (NO_2^-).

Tablo 6: Biyolojik Sistemlerde Oluşabilecek Reaktif Nitrojen Türleri (90)

– NO^- (Nitroksil anyonu)	– $\text{NO}_2^\bullet$ (Nitrojen dioksit)
– N_2O (Nitröz)	– N_2O_4 (Dinitrojen tetra oksit)
– N_2O_2 (Dinitrojen dioksit)	– N_2O_5 (Dinitropentaoksit)
– NO^+ (Nitrozil katyonu)	– NO_2^+ (Nitril katyonu)
– NO_2^- (Nitrit)	– O_2NOO^- (Peroksinitrat)
– ONOO^- (Peroksinitrit (oksoperoksinitrit [-1]))	– NO_3^- (Nitrat)
– N_2O_3 (Dinitrojentrioksit (Nitröz asid anhidrid))	

Oksijen radikallerinin aksine, insan vücudunda $\text{NO}^\bullet$ sentezini sağlayan mekanizmalar oldukça kısıtlıdır. Vücuda giren nitro bileşiklerinin metabolize edilmesi bir tarafa bırakılırsa, endojen $\text{NO}^\bullet$ oluşturan tek kaynak NOS enzimleridir. $\text{NO}^\bullet$ radikalının sentezi lokal olarak başlıca endotelium ve sinir hücreleri olmak üzere makrofajlar, trombositler ve düz kas hücrelerinde meydana gelir. Sentezi sırasında kalmoduline (CaM), kosubstrat olarak O_2 ve NADPH 'a, kofaktör olarak ise tetrahidrobiopterin (BH_4), FAD (flavin adenin dinükleotid), FMN (flavin mononükleotid) ve hem'e (protoporfirin IX) ihtiyaç vardır (Şekil 7).



Şekil 7: Nitrik Oksit Sentezi (5)

Bu enzimatik reaksiyonu katalizleyen NOS sitokrom p-450 homologudur ve Konstitütif NOS (cNOS), Nöronal NOS (nNOS; Tip I), Endotelial NOS (eNOS; Tip III), İndüklenebilir NOS (iNOS; Tip II) olmak üzere üç izoformdan oluşur (Tablo 7).

CaM; redüktazın amino terminaline bağlanarak oksijenaza elektron akımı için gerekli olduğundan, üç NOS izoformu da kofaktör olarak CaM'e ihtiyaç duyarlar. Enzimin N-terminali hem, BH₄ ve L-arginin için; C-terminali ise FAD, FMN ve NADPH için bağlanma bölgeleri içermektedir. Memelilerde bulunan NOS sadece dimer halinde iken aktivite gösterebilir ve iNOS dimerizasyonu için önemli olan kofaktör BH₄'dir. BH₄ eksik olan hücrelerde monomer halinde bulunan iNOS inaktiftir ve BH₄ varlığında tekrar aktif dimerik forma dönüşebilir.

Artmış hücre içi kalsiyum konsantrasyonları cNOS aktivasyonuna yol açar ve düşük miktarlarda (nanomol düzeyinde) kısa süreli NO• sentezine yol açar. iNOS endotel hücreleri, makrofajlar, hepatositler ve vasküler düz kas hücrelerinde bulunur. Özellikle septik şok patogenezinde önemlidir. Bakteriyel endotoksinler ve sitokinlerle indüklenerek uzun süreli reaksiyona yol açar. Protein sentez inhibitörleri ve antiinflamatuvar ilaçlar (glukokortikoidler) indüksiyonu yavaşlatabilir ya da durdurabilir. Aktive iNOS, cNOS'dan farklı olarak daha yüksek miktarlarda (mikromol düzeyinde) ve daha uzun süreli NO• sentezine yol açar.

NO• sentezi, transkripsiyonal, post transkripsiyonal ve translasyonal kontrol altındadır.

MSS tüm nöronlarında nNOS bulunmaktadır. Bazı astrositlerin eNOS aktivitesine sahip olduğu ve hipokampal ve striatal nöronlarda eNOS'un bulunduğu gösterilmiştir. Normal beyin fonksiyonu için iNOS gerekli değildir. Fakat serebral iskemi gibi patolojik durumlarda astrositlerden, nöronlardan ve endotelial hücrelerden iNOS aracılı NO• salgılanmaktadır (92).

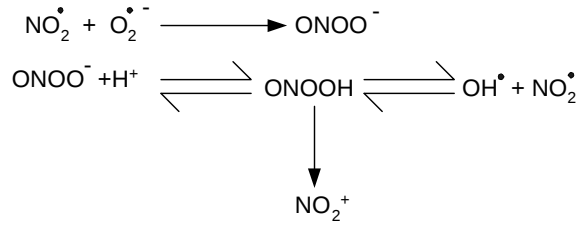
iNOS aracılığı ile üretilen NO•'in daha yüksek miktarlarda olduğu ve oksidasyon, nitrozasyon ve nitrasyon olan indirekt etkilerinin buna bağlı olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir. nNOS ve eNOS aracılığı ile NO• radikalının kısa süreli ve az miktarlarda üretildiği, dolayısı ile direkt etkilerinin görüldüğü bildirilmiştir.

Tablo 7: Nitrik Oksit Sentetaz İzofomları, Özellikleri ve Akut Serebral İskemi İle İlişkileri (5)			
İzoform	NOS I (nNOS, cNOS)	NOS II (iNOS)	NOS III(eNOS, ecNOS)
Protein Büyüklüğü	1433 aa (161 kD)	1203 aa (131 kD)	1153 aa (133 kD)
Enzim Aktivitesi	Ca ⁺² -bağımlı	Ca ⁺² -bağımsız	Ca ⁺² -bağımlı
İdentifiye Edildiği Hücre	Nöron	Makrofaj, monosit	Endotel
Lokalizasyonu	Membrana bağlı	Sitozol	Membrana bağlı
Fizyolojik Fonksiyon	Sinaptik plastisite ve nöronal iletiye aracılık etmek	İnfeksiyöz ajanların oksidatif tahribi	Dokudaki kan Akımının düzenlenmesi
Farmakolojik Antagonist	7-nitroindazol	Aminoguanidin	L-nitroarginin Nitro-L-argininmono metil ester (L-AME)
RNA ve Protein Ekspresyonu	Sürekli	İndüklenme ile	Sürekli
Üretilen Miktar	Pikomolar	Nanomolar	Pikomolar
Etki Süresi	Kısa	Uzun	Kısa
Katalitik aktivite ve pik zamanı	Katalitik aktivitesi cerebral iskemiye takiben 10 dakika içinde Yeniden düzenlenir ve 3. saatte pik yapar.	Katalitik aktivitesi serebral iskemiye takiben 12 saat içinde yeniden düzenlenir ve 48. saatte pik yapar.	Katalitik aktivitesi serebral iskemiye takiben 1 saat içinde yeniden düzenlenir ve 24. saatte pik yapar.
Akut Serebral İskemideki Rolü	Serebral iskemiye takip eden nöronal hasarın erken döneminde önemli rol oynar	Serebral iskemiye takip eden nöronal hasarın geç döneminde rol oynar.	Serebral iskemide, kan akımını devam ettirerek koruyucu rol oynar.
	Nörodestrüktif	Nörodestrüktif	Nöroprotektif

iNOS sağlıklı dokularda bulunmazken patolojik süreçlerde inflamatuvar mediatörler ve sitokinler tarafından sitümülasyonu sonucu makrofajlar ve glial hücreler, endotelial hücreler, fibroblastlar, nöronlar ve vasküler düz kas hücreleri tarafından üretilir. Özellikle patolojik koşullarda iNOS'a bağlı NO[•] radikalinin aşırı

üretimi ve ONOO^- oluşumu; protein hasarı, lipid peroksidasyonunun artışı, DNA hasarıyla birlikte "Poly-ADP Riboz Sentetaz" (PARS) aktivasyonu ile hücresel enerji kaybı, mitokondrial elektron transport zinciri enzimleri olan kompleks 1-2 ve akonitaz'ın demir sülfür merkezlerine etki ederek inhibisyonu ile mitokondrial respirasyonun durması, DNA replikasyonunun inhibisyonu ile hücre ölümüne neden olur (9,93).

$\text{NO}^\bullet$ ve $\text{O}_2^\bullet$ radikallerinin reaksiyona girmeleri sonucunda meydana gelen ve son derece reaktif bir metabolit ONOO^- oluşumu, $\text{NO}^\bullet$ metabolizmasının primer yollarından biridir. ONOO^- bir serbest radikal değildir ve oldukça kısa ömürlüdür (Şekil 8).

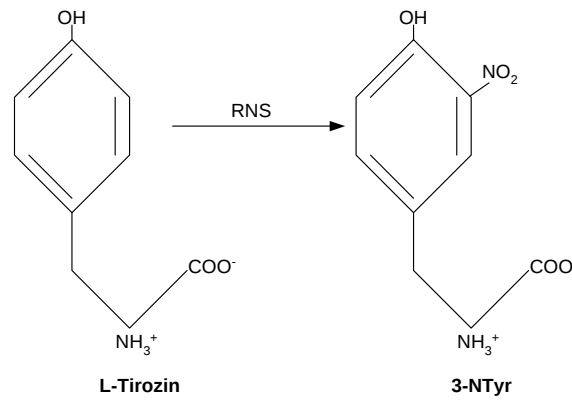


Şekil 8: Peroksinitrit Oluşumu (5)

Fizyolojik koşullarda ONOO^- 'in yarı ömrü 1 saniyeden azdır ve protonlanmış şekli olan ONOOH 'e döner, ki bu da daha sonra çok daha toksik olan NO_2^+ , $\text{NO}_2^\bullet$ ve $\text{OH}^\bullet$ radikallerini meydana getirir. Fizyolojik özellikleri bakımından $\text{NO}^\bullet$ 'e çok benzeyen ONOO^- ve konjuge asidi, lipidler, tiyoller, aminoasit rezidüleri, DNA bazları, çinko yapılar ve düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar reaksiyona girebilen okside edici ajanlardır. Bunların sonucunda da lipid peroksidasyonu başlar.

Hücre içinde $\text{O}_2^\bullet$ radikali, $\text{NO}^\bullet$ radikalinden daha uzun ömürlüdür. $\text{NO}^\bullet$ ve $\text{O}_2^\bullet$ arasındaki reaksiyon süperoksit radikalinin SOD ile katalizlendiği reaksiyondan iki üç kat daha hızlıdır. Ancak organizmada SOD konsantrasyonu, $\text{NO}^\bullet$ radikalinin fizyolojik düzeylerinden daha yüksektir ve bu da ONOO^- oluşumunu sınırlar. Organizmada $\text{NO}^\bullet$ konsantrasyonu arttığı zaman; $\text{NO}^\bullet$, SOD ile $\text{O}_2^\bullet$ için yarışır ve

ONOO^- oluşumu artar. Kuvvetli bir oksidan ve nitrotlayıcı ajan olan ONOO^- , prekürsörlerinden daha reaktif ve zararlıdır. ONOO^- hücre içinde $\text{O}_2^\bullet$, hidrojen H_2O_2 ve $\text{NO}^\bullet$ radikallerinden daha toksik etki yapar. $\text{NO}^\bullet$ ve $\text{O}_2^\bullet$ seviyeleri arasındaki denge $\text{NO}^\bullet$ radikalının prooksidan veya antioksidan davranışını ortaya koymada temel faktördür. ONOO^- ; fenilalanin, tirozin ve triptofan aminoasitlerinin dahil olduğu aromatik bileşikler nitrolayabilir. Bugüne kadar protein moleküllerinde en fazla çalışılmış olan 3-NTyr'dir (Şekil 9).



Şekil 9: 3- Nitrotirozinin Oluşumu (5)

3-NTyr, ONOO^- veya diğer RNOS tarafından tirozin aminoasidinin nitrolanması sonucunda oluşan stabil son üründür. Tirozin'in orto pozisyonunun nitrolanması yoluyla oluşan 3-NTyr; ONOO^- 'in ana ürünüdür ancak 3-NTyr oluşumu, sadece ONOO^- aracılı $\text{NO}^\bullet$ hasarı göstermez. Serbest tirozinin veya proteinlerdeki tirozin rezidülerinin orto pozisyonunun nitrasyonu; çeşitli RNOS aracılığı ile de meydana gelebilir. İn vivo'da 3-NTyr oluşumu için bir alternatif yol da; miyeloperoksidaz (MPO) tarafından $\text{NO}^\bullet$ radikalının yıkılmasından meydana gelen NO_2^- ve aktif nütrofillerde oluşan bir oksidan olan HOCl varlığında meydana gelen nitrasyondur. 3-NTyr rezidülerinin nitrasyonu bazı enzimlerin (örn; E-coli'de glutamin sentetaz, bovin glutatyon redüktaz) ve reseptörlerin inaktivasyonuna neden olur. 3-NTyr rezidülerinin nitrasyonu, tirozin kinazlarla fosforilasyonu bloke edebilir.

3-NTyr, RNOS'nin in vivo oluşumunu gösteren diagnostik bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Biyolojik numunelerde nitrotirozinin 3-NTyr ayırımı, tayini ve miktar belirtimi için, immunohistokimya, ELISA, Western-blotting, HPLC, gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ve elektrosprey kütle spektrometrisinin de dahil olduğu çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Sandwich ELISA ile 3-NTyr tayininin, düşük plazma konsantrasyonunda (2 nm), yüksek hassaslıkta mümkün olduğu ve numune için herhangi bir işlem gerektirmediği, ayrıca, tirozin, 3-klorotirozin ve fenilalaninin de ortamda interfere olmadığı yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (5).

II.A.3.b.(4). Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Radikallerin ikili biyolojik fonksiyonu vardır. Sinyal iletiminde hücresel iletilci, apoptoz ve fizyolojik proteolizin mediatörleri olup kemotaksisi, sitokin üretimini, mikrovasküler tonüsü düzenlerler. Bu nedenle gerek enfeksiyöz gerekse de enfeksiyöz olmayan inflamasyonda hücre savunma sisteminin önemli mediatörleridir. Ama belirli durumlarda doku ve hücrelere zarar verme potansiyeline sahiptirler. Çoğu durumlarda antioksidanlarla nötralize edilirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmez. Buna karşılık, savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, denge bozulur ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkar. Oksijen radikallerinin fazla yapımının neden olduğu etkilerin toplamı "oksidatif stres" (ya da sinonimi olarak oksidan stres) olarak adlandırılır. Oksidatif stres terimi 1950'lerden beri kullanılmaktadır. Bu terim,

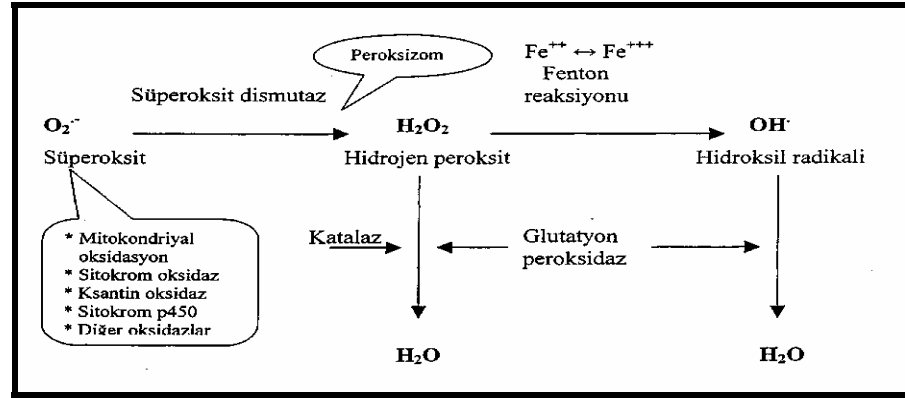
(1) oksijenin metabolize edildiği canlılarda üretilen serbest radikaller ile antioksidan defans mekanizmaları arasındaki doğal dengeyi,

(2) bu dengenin serbest radikaller yönünde bozulması halinde hasar ya da ölümle sonuçlanan olaylar dizisini ve

(3) bu sonuçların hücresel düzeyde nonspesifik ya da rasgele gerçekleştiğini ifade eder (84,90).

Antioksidan kavramı, çeşitli şekillerde tanımlanabilir. Kısaca, ROS inhibitörleri denilebileceği gibi, okside edilebilir substratlarla kıyaslandığında çok düşük konsantrasyonlarda olduklarında bile substratın oksidasyonunu önleyen ya da geciktirebilen maddeler olarak da tanımlanabilirler.

Temel antioksidan savunma enzimleri süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz'dır. Enzimatik savunma sistemi ilk basamağında süperoksit dismutazın yer aldığı bir dizi reaksiyonla hücreleri oksidatif strese karşı korur (84,85) (Şekil 10).



Şekil 10: Oksidatif Strese Karşı Enzimatik Savunma Mekanizmaları (84)

II.A.3.b.(5). Serbest Radikallerin Biyolojik Aktiviteleri ve Hasar Mekanizmaları

ROS'nin oluşturduğu doku hasarı en çok belirli süre iskemide kalıp tekrar oksijenizasyona uğramış dokularda çalışılmıştır. İskemi sırasında iskemiye maruz kalan dokuda Adenozin trifosfat (ATP) kullanılmakta ve bu da hızla Adenozin monofosfata (AMP) dönüşmektedir. Bu da nükleotidlerine yıkılarak hipoksantin

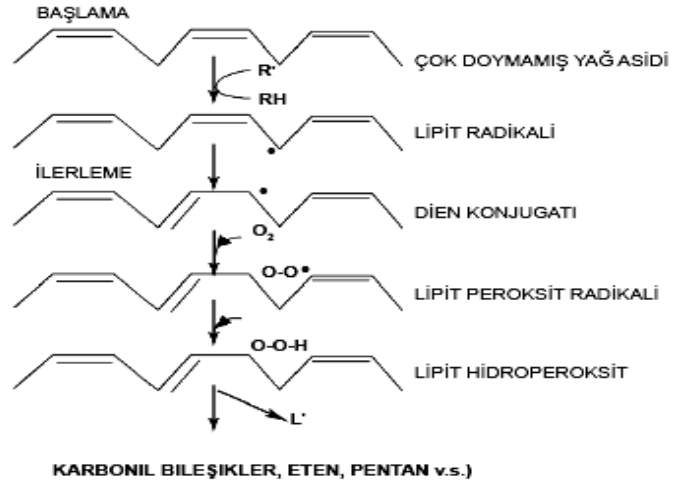
oluşmaktadır. Normalde oluşan hipoksantin Ksantin Dehidrogenaz (XD) ile ksantine buradan da ürik aside çevrilebilmektedir. Fakat iskemi sırasında ATP depoları bitmekte böylece hücre dışına kalsiyum pompalanması mekanizması çalışmamaktadır. Hücre dışına pompalanamayan kalsiyum proteazları aktive ederek ksantin dehidrogenazı (XD) ksantin oksidaza (XO) çevirmektedir. XO tekrar oksijenli ortam oluştuğunda hipoksantinle reaksiyona girerek ksantini oluşturmakta fakat bu sırada $O_2^{\bullet -}$ ortaya çıkmaktadır. Bu da SOD katalizörlüğü ile hızla dismutasyona uğratarak H_2O_2 'e dönüşmektedir. H_2O_2 de katalazla suya dönüşmektedir. Fakat H_2O_2 aşırı miktarda oluşursa spontan olarak ortamdaki Fe^{+2} iyonları ile $OH^{\bullet}$ radikallerini oluşturmakta daha sonra bu radikalde başta lipidler olmak üzere ortamdaki organik bileşikler okside edip parçalamaktadır (90).

Patolojik durumlarda serbest radikaller antioksidan aktivitenin üzerine çıkmakta ve hücre ve dokuların ana yapımında zedelenmeye neden olabilmektedir (tablo 8).

Tablo 8: Serbest radikallerin hücresel hedefleri (94)	
HEDEF	SONUÇ
Lipidler	Lipid peroksidasyonu
Aminoasitler	Protein denatürasyonu ve çapraz bağların oluşumu, enzim inhibisyonu ve hücre membran geçirgenliğinde değişiklik
Nükleik asit bazları	Hücre döngüsünde mutasyon
Karbonhidratlar	Hücre membran reseptör duyarlılığında değişiklik
Kofaktörler	Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin miktarında ve aktivitesinde azalma
Nörotransmitterler	Serotonin ve epinefrin gibi nörotransmitterlerin miktarında ve aktivitesinde azalma
Antioksidanlar	E vitamini ve β karoten ile katalaz ve SOD enzimlerinin inhibisyonu, glutatyon peroksidaz aktivitesinde değişiklik
Proteinler	Peptid zincirinde kopma, denatürasyon
DNA	Zincir kopması, baz değişiklikleri
Hyaluronik asit	Sinovyal sıvı viskozitesinde değişiklik

Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri ve endoplazmik retikulum) membran fosfolipidlerinin varlığı dolayısıyla oksidatif ataklara karşı özellikle hassastırlar. $\text{OH}^\bullet$ radikalinin membran fosfolipid komponentlerinden olan çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki etkisi, hücresel oksidatif hasarda başlıca etkin faktör olarak yorumlanmaktadır.

Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar arasında en önemlilerinden olan lipid peroksidasyonu, membran yapısında yer alan çok doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksijen radikallerine maruz kalması sonucunda ve dört aşamada oluşur (Şekil 11).

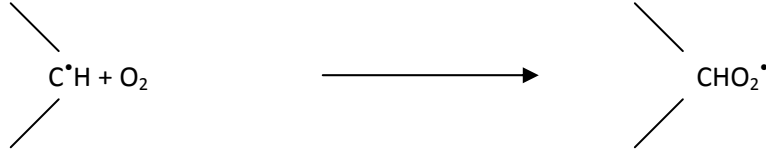


Şekil 11: Lipid Peroksidasyonunun Aşamaları (87,88)

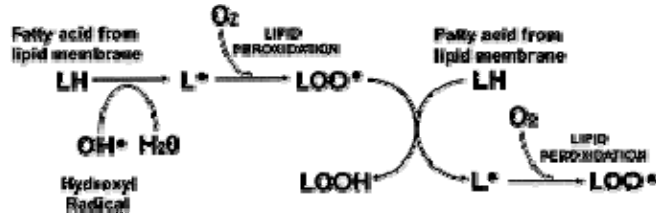
$\text{HO}^\bullet$ radikali bir yağ asidinin (LH) metilen kısmından bir hidrojen iyonu kopararak lipid radikalini ($\text{L}^\bullet$) oluşturur. Bu safhaya lipid peroksidasyonunun “başlama (initiation) safhası” denir Oluşan Karbon radikalleri ($\text{R-CH}^\bullet$) kendilerini stabilize etmek için yeniden moleküler düzenlemeye giderek konjuge dienleri oluştururlar.



Konjuge dienler ise aerobik ortamda O_2 ile reaksiyona girerek peroksil radikalini ($RCOO^\bullet$ veya $LOO^\bullet$) oluşturlar.



Peroksil radikalinin oluşması önemlidir. Çünkü komşu olan başka bir lipid molekülünden hidrojen atomu koparıp lipid hidroperoksit (lipid peroksit) oluştururken yeni bir lipid radikali oluşturur ki, bu safhaya “ilerleme (propagation) safhası” denir. Yeni oluşan karbon radikali oksijenle reaksiyona girerek başka bir peroksil radikalini oluşturur. Böylece oluşan lipid peroksidasyonu zincir şeklinde devam eder (Şekil 12). Burada lipid peroksidasyonuna ilerleyen geometrik bir “zincir reaksiyonu” olduğuna dikkat edilmelidir. $OH^\bullet$ serbest radikali lipid membranda serbest yağ asitlerinden bir lipid radikali $L^\bullet$ meydana getirir. $L^\bullet$ ’nin oksidasyonundan sonra, membrandan başka bir lipid molekülü oksidasyon reaksiyonuna katılarak reaksiyonun daha yayılmasına yol açan başka bir lipid radikalini oluşturur. Bu reaksiyon kontrolsüz devam ederse hücre membranının nasıl progresif biçimde bozulduğu düşünülebilir.



Şekil 12: Serbest Radikallerle Lipid Peroksidasyonu (4).

Sonuç olarak membran fonksiyonu bozulur; lizozomal fragilite artar; mikrozomal enzimlerde değişiklikler meydana gelir; membran bozulması ile daha sertleşir ve akışkanlığı azalır; membrandaki iyon pompaları (Ca^{+2}) ve permeabilite

değişir. Sonuçta membrana bağlı enzimleri inaktive eder; protein sentezini inhibe eder, DNA replikasyonunu önler, mitokondrial solunumu durdurur. Membranda yağ asidi yan zincirinin devamlı aldehit ve pentan gibi hidrokarbonlar üretmesi membran bütünlüğünün tamamen kaybolmasına yol açar. Bu yolla lizozom membranlarının yırtılmasıyla hidrolitik enzimler hücrenin geri kalan kısmına boşalır ve hasarın daha da artmasına yol açar (4,39,85).

Lipid peroksidasyonunun yapısal hasara yol açmasının yanı sıra günümüzde yapısal hasarların da lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Travmanın doğrudan etkisi ile membran stabilizasyonunu sağlayan Na/K-ATP'ase enziminin yıkılması sonucunda, hücre içinde kalsiyum kontrolsüz biçimde yükselir. Bu mitokondrilerde oksidatif fosforilasyonunun durmasına, ATP yapımının azalmasına neden olur. Kalsiyumun hücre içinde yükselmesi ayrıca fosfolipazların aktivasyonuna yol açar. Ayrıca birincil hasar bölgesinde biriken lökositlerden de fosfolipaz salgılanır. Fosfolipazların aktivasyonu membran fosfolipidlerinden araşidonik asidin salınmasına neden olur. Araşidonik asitten lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolları ile lökotrienler, prostoglandinler ve tromboksan oluşur. Oluşan bu eikozonoidler, vazokonstriksiyon ve trombosit agregasyonunu tetikleyerek lokal iskemiye neden olurlar. İskemi ise serbest radikallerin oluşmasına ve lipid peroksidasyonu ile hasarın ilerlemesine yol açar. Serbest radikaller hücre membranındaki yağ asitlerinin progresif oksidasyonuna yol açarak geometrik biçimde daha çok serbest radikal oluşmasına yol açarlar. Oluşan bu serbest radikaller reaksiyonun hücre yüzeyi boyunca yayılmasına neden olurlar. Plazma NO_3^- düzeyleri $\text{NO}^\bullet$ radikalinin endojen üretiminin belirlenmesi için kullanılabileceği ileri sürülmüştür (9,61,95).

II.A.3.c. Eksitotoksisite ve Elektrolit Bozuklukları

Glutamat, glutaminerjik sinir uçlarında mitokondriyal bir enzim olan glutaminaz enzimi aracılığı ile glutaminden sentezlenir. Sinaptik aralığa salınan glutamat postsinaptik uçta bulunan spesifik reseptörleri aktive ederek etkilerinin

ortaya çıkmasını sağlar. Sinaptik aralığa salınan glutamat normal koşullarda geri alım taşıyıcılarla hızla ortamdan uzaklaştırılır. Bu taşıyıcılar nöron ve glial hücrelerin membranlarında bulunur. Glial hücre içine alınan glutamat glutamin sentetaz enzimi aracılığı ile glutamine dönüştükten sonra tekrar glutaminerjik sinir uçlarına gönderilir.

Glutamat reseptörleri metabotropik ve iyonotropik reseptörler olmak üzere ikiye ayrılır. Metabotropik reseptörler uyarıldıklarında hücre depolarından $[Ca^{++}]$ serbestlenmesine yol açar.

İyonotropik reseptörler ligand kapılı iyon kanallarıdır. Bu reseptörler kendilerini selektif olarak aktive eden bileşiklere göre 3 alt tipe ayrılır. Bunlar:

- (a) N-metil D-aspartat (NMDA),
- (b) Delta-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propionik asit (AMPA),
- (c) Kainat reseptörleridir (Quisqualat reseptörleri).

NMDA reseptörü temel olarak hücre içine kalsiyum iyonunun girişine aracılık ederler.

AMPA reseptörleri GLUR1-4 (Glu RA-D) adlandırılan 4 alt ünitenin ikiye katlı kombinasyonundan oluşur. Bu alt grup esas olarak sodyum iyonu geçişine aracılık eder.

Bunlardan en aktif olanı NMDA reseptörüdür. Travma sonucu fazla miktarda eksitotoksik aminoasitler salınımı, akut hücre şişmesine yol açan Na^+ ve Cl^- 'un hücre içi artışıyla sonuçlanır. Bunu hücre-içi Ca^{++} artışı izler. Bu durum lipolitik (lipaz ve fosfolipaz) ve proteolitik (Calpain I ve diğer Ca^{++} bağımlı proteazlar) enzimleri aktive eder. Proteolitik enzimler plazma membranını ve hücre iskeletini oluşturan madde ve zincirleri yıkar. Lipolitik enzimlerin aktivasyonu ise nöral membrandaki fosfolipidlerden araşidonik asid salınmasına, yani araşidonik asid döngüsünün başlamasına neden olur. Bu döngüde prostoglandinler, lökotrienler ve tromboxanlar ortaya çıkar. Olay serbest radikal ve lipid hidroksiperoksidlerin yapımıyla kısır bir döngü içinde ilerleyerek nöronun ölümüyle sonuçlanır (96). Eksitotoksik aminoasitler ve MS travması arasındaki ilişki bu konudaki diğer sistemler üzerindeki araştırmalara paralel bir seyir izlemiştir. Davies ve Watkins 1983 yılında MS'te eksitotoksik aminoasitler reseptörlerinin varlığını ortaya koymuştur (97). Spinal

subaraknoid mesafeye enjekte edilen yüksek konsantrasyondaki glutamat, lokal hasarı arttırmıştır (98). Spinal travma ve iskemiyi takiben mikrodializ yöntemi ile yapılan çalışmalar, ekstrasellüler alandaki glutamat ve aspartat miktarında ilk 15 dakika içinde aşırı bir artışı göstermiştir (96,99). Farooque ve arkadaşları bu artışın hasarın derecesi ile orantılı olduğunu belirtmişlerdir (100). MS yaralanmasında aşırı glutamat birikiminin nedenleri; hücre membranının polarizasyonuna bağlı olarak sinaptik veziküllerden glutamat salınımının uyarılması ve ATP yetmezliğine bağlı olarak glutamat geri alım mekanizmalarının çalışmamasıdır. MS yaralanmasından sonra gelişen eksitator glutamat artışı hücre içi kalsiyum iyonların artışına yol açarak hücre ölümünde önemli rol oynar (4,17,18,60,101).

Na^+ dengesinin bozulması MS yaralanmasının patofizyolojisinde özellikle beyaz cevherin aksonal ve glial yapılarının hasarında önemlidir. Normal koşullarda aksiyon potansiyelinin yayılımı voltaj kapılı sodyum kanallarının aktivasyonu aracılığıyla geçici olarak sodyumun hücre içine akışına yol açar. Hücre içine giren hücre içine klor iyonu suya beraberinde çekerek akut hücre şişmesine neden olur. Daha ileri aşamalarda ise değişen membran polarizasyonu kalsiyumun hücre içine girmesine ve eksitator aminoasitlerin sinaptik veziküllerden salınmasına yol açar (4).

Hücre fonksiyonların yerine getirilmesi için hücrenin intrasellüler-ekstrasellüler sodyum-potasyum gradientlerinin dengelenmesi gerekir. İntrasellüler Na^+ konsantrasyonu ekstrasellüler alandan 12 kat daha düşükken, K^+ konsantrasyonu 50 kat daha yüksektir. Bu elektrokimyasal gradientin devamı için bariyer işlevi gören sağlam hücre membranı ve bu membrana bağlı enzim olan Na/K ATPase aktivitesinin normal olması gerekir (61). Akut MS yaralanmasında geçici veya kalıcı olarak aksonal iletim kesintiye uğrar. Akut evrede iletimin kesintiye uğraması biyokimyasal değişikliklere özellikle de elektrolit değişikliklerine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Ekstrasellüler potasyum artışı aşırı depolarizasyon ve spinal şoktan sorumlu tutulmaktadır. Membran bozukluğu ile birlikte olan daha şiddetli mekanik aksonal yaralanmada kalıcı iletim bozukluğu görülebilir (60).

MS yaralanması, doku magnezyum konsantrasyonunu da etkiler. Normalde magnezyum; yaklaşık 300 kadar enzimin maksimum aktivitede çalışabilmesi için

gerekli olan bir iyonudur; oksidatif fosforilasyonla yüksek enerji metabolitlerinin üretimi için gereklidir; fosfolipidlerle stabil kompleksler oluşturarak, hücre membranının hareketini, permeabilitesini ve hücre membranına bağlı enzimlerin aktivitesini etkiler; protein sentezinde temel bir role sahiptir; doğal bir kalsiyum iyonu antagonistidir. Lemke ve arkadaşları ağırlık düşürme tekniği ile sıçanlarda oluşturdukları MS yaralanmasından sonra doku magnezyum konsantrasyonunun 60. dakikada % 17, 24. saatte ise % 28 oranında azaldığını ve 7. günde ise normale döndüğünü bulmuşlardır (48,102).

MSS’de yaralanmayı takiben nöronal dejenerasyonun patogeneğinde kalsiyuma karşı oluşan membran geçirgenliğindeki değişiklikler önemli yer tutar. Örneğin nöronal kültürlerde glutamat sitotoksitesi çalışmaları, beyaz cevher yaralanmasında hipoksi çalışmaları, MS travması sonrası aksonlarda kalsiyum akümüasyonu ultrastrüktürel çalışmaları, optik sinir ve MS’de aksonal ve glial kalsiyum seviye değişikliklerini görüntüleme çalışmaları ve posttravmatik MS kan akımı çalışmaları nöronal yaralanmanın kalsiyum hipotezini kuvvetle desteklemektedir.

II.A.3.d. Nekrotik ve Apoptotik Hücreler

Normal yaşlanma sonucu ve hasardan sonra oluşan hücre ölümü morfolojik olarak farklı biçimlerde gerçekleşebilir. Bir tarafta *nekrotik hücre ölümü* hücrenin şişmesi ve organellerin bozulmasından sonra membranların lizisini ve hücre içeriğinin salınımını içerir ki, bahsedilen bu son durum lokal bir inflamatuvar reaksiyonu alevlendirebilir. Diğer taraftan *apoptotik hücre ölümü (veya programlanmış hücre ölümü)*, sağlam organellerle birlikte hücresel bir büzüşmeyi ve apoptotik cisimcikler içine fragmentasyonu içerir. Apoptotik cisimcikler daha sonradan belirgin bir inflamatuvar yanıt olmadan fagositozla temizlenirler (60) (Tablo 9).

Tablo 9: Apoptotik Hücre Ölümü (4)

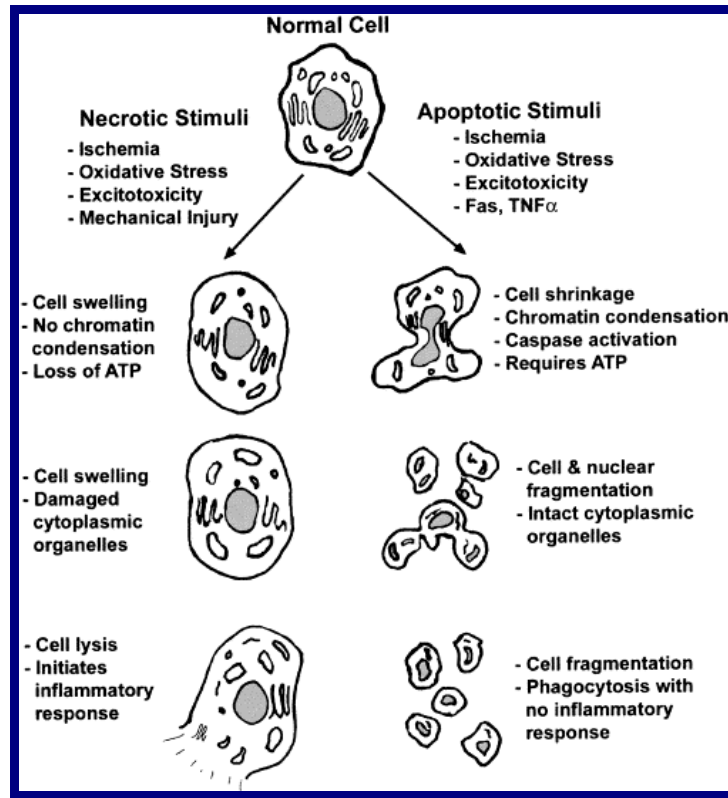
- “Apoptozis” terimi nekrotik hücrelerden tamamen farklı bir hücre ölümünün morfolojik bir görünümünü tanımlamak için 1970’lerde türetilmiştir.
 - Apoptotik hücre ölümü normal gelişim ve yaşlanma sırasında doku homeostazisinin önemli bir komponentidir. Apoptotik hücre ölümünün başlamaması malignitelere neden olurken belirli nörodejeneratif hastalıklarda da hücrelerin apoptoza gitmeyi tercih ettikleri görülür.
 - İskemi, oksidatif stres ve inflamatuvar sitokinler gibi birçok hücre dışı ve hücre içi uyaranlar/hasarlar apoptozu tetikleyebilir.
 - Bu uyaranlar sonunda kaspazlar olarak adlandırılan enzimlerin aktivasyonu ile sonuçlanan karmaşık hücre içi yolları aktive ederler.
-
- Kaspazlar ve onları aktive eden yollara müdahale apoptotik hücre ölümünü önleme açısından potansiyel bir anlam ifade eder.
-

Hücre içi ATP seviyesi hücrenin apoptozis veya nekrozla öleceğine yön verir. Nekroz ATP üretiminin kaybıyla ve enerji yetmezliği ile karakterize iken apoptotik süreç gerçekten ATP bağımlıdır ve tamamlanması için yeni proteinlerin sentezi gerekir. Her ne kadar apoptozis ve nekrozu ayrı patofizyolojik ve morfolojik antiteler olarak düşünmek uygunsa da hücre ölümünün bu ikisi arasında uzanan bir spektrum boyunca vuku bulması muhtemeldir (Şekil 13).

MSS’de apoptozisin varlığı ilk olarak fokal ve global serebral iskemide gösterilmiştir. Liu ve arkadaşları zamana bağlı yaptıkları kontüzyonel travma sonrasında apoptozisi 4. saatte lezyon bölgesi içindeki nöron ve glialarda immünohistokimyasal olarak göstermişlerdir. Nöronal apoptozisin 8. saatte, glial apoptozisin 24. saatte pik yaptığı izlenmiştir. 7 gün sonra da daha fazla hücre ölümü ile birlikte başlangıç lezyonu ve kavitasyonu progresif olarak genişlemiştir. İkinci bir apoptotik hücre dalgası ise 7. günde oligodendrositlerde akson dejenerasyonu ile ilişkili olarak beyaz cevher boyunca tespit edilmiştir.

İnsanda MS yaralanmasından sonra hem nekrotik hem de apoptotik hücrelerin meydana geldiği bilinmektedir. Şiddetli yaralanmaların nekroza gitme olasılığı daha fazlaysa da çoğunlukla iske mi, oksidatif stres ve eksitotoksinite gibi

patolojiler her ikisini de başlatabilirler. Pratik bakış açısıyla, nekrotik ve apoptotik hücrelerin arasında ayrım yapılması apoptozise yönelik terapötik müdahale potansiyelinin artması nedeniyle faydalıdır. Çarpışma yerinde şiddetli travmaya maruz kalan bir hücrenin hızla harabiyetini ve nekrotik tipteki ölümünü engellemek mümkün değildir. Ancak, başlangıçta bu şiddetli travmadan kurtulan travma odağı çevresindeki hücreler, kaspazların sonradan gelişen aktivasyonlarından etkilenerek, programlı biçimde kendi kendine hasar vermeyi başlatmaya yetecek ikincil biyokimyasal bir hasara maruz kalabilirler. Bu apoptotik programa nasıl müdahale edileceğini bulmak günümüzdeki araştırmaların konusudur (9).



Şekil 13: Nekrozis ve Apoptozis Arasındaki Farklılıklar (4). Bu şema nekrotik

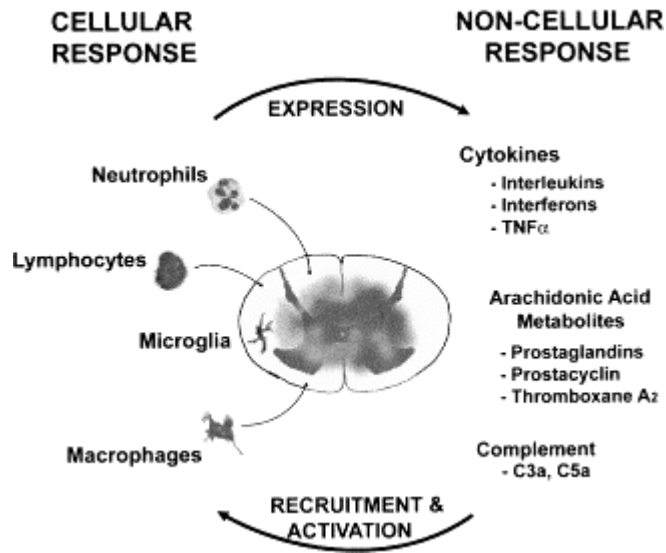
(sol) ve apoptotik (sağ) hücre ölümü arasındaki bazı temel farklılıkları göstermektedir.

Apoptozisin oldukça planlı bir tarzda hücrenin kendisini parçalaması için enzimleri (kaspazlar) aktive eden enerji bağımlı bir süreç olduğunun farkına varılması önemlidir.

Omurilik yaralanmasından sonra bu tarz hücre ölümünü engellemek için kaspazların hedeflenmesi potansiyel bir terapötik uygulamadır.

II.A.3.e. İnflamatuar/İmmunolojik Yanıt

İnflamasyon doku hasarına karşı genel bir savunma ve tamir yanıtıdır. Deneysel MS yaralanmasından sonraki inflammatuar ve immünolojik yanıtlar mikroglialar, beyaz küreler (lenfositler, nötrofiller ve monositler), astrositler gibi hücreler ve sitokinler, prostoglandinler, komplemanlar gibi hücreler olmayan unsurları içerir (4,103) (Şekil 14). MSS hasarına karşı inflammatuar ve immün yanıt hücreler ve hücreler olmayan unsurların karmaşık etkileşimini içerir ki bunlar sadece sekonder hasarı değil aynı zamanda doğal tamir sürecini de etkilerler.



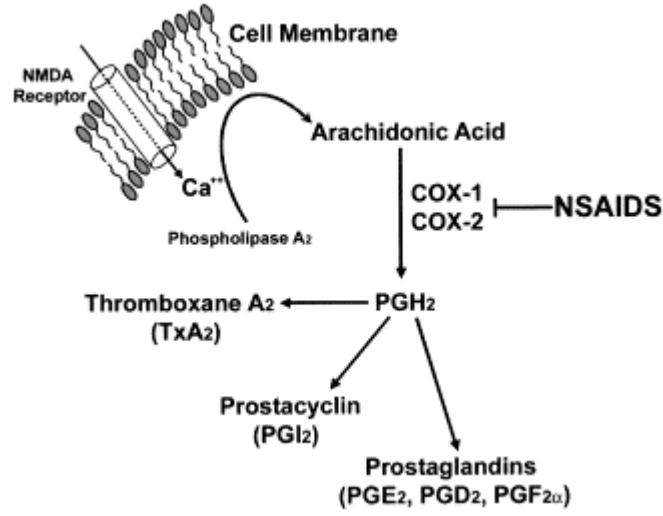
Şekil 14: MS Yaralanmasına Yanıt Olarak İnflamatuar/İmmünolojik Yanıt (4).

MS yaralanmasından sonra, hasar bölgesine hızla kandan taşınan nötrofiller infiltre olur. MS’de travma sonrası bifazik lökosit cevabı mevcuttur. Başlangıçta nötrofil infiltrasyonu predominanttır. Travmatize MS’de nötrofillerin infiltrasyonu hasardan sonraki ilk saat içinde başlar hasardan sonraki 24. saatte pik yapar, hasardan 48 saat sonra azalmaya başlar ve hasardan sonraki 7. günde ihmal edilebilir düzeye iner. Nötrofillerin erkenden ortaya çıkması büyük olasılıkla bir kanamayı yansıtır. Bu lökositlerden salınan litik enzimler nöroglia ve kan damarlarındaki hasarı

arttırır (4,7,104). İkinci fazda ise makrofaj imigrasyonu ile birlikte hasarlı dokunun fagositozu söz konusudur. Lökosit infiltrasyonunun iki fazının da, ayrılan aksonların demyelinizasyonunu şiddetlendirdiği ve bunun özellikle ilk 24 saat içerisinde başlayıp, takip eden birkaç gün içerisinde pik yaptığı düşünülmektedir (105). Bu süreç gri ve beyaz cevherdeki kavitasyonları belirgin hale getirmektedir. Wallerian dejenerasyonu ve skar dokusu oluşumu ile sonuçlanan bu olayda astrositler ve diğer glial hücreler ağırlıklı rol oynar, fibroblastlar da ayrıca katkıda bulunurlar (4,60,105). Bir grup araştırmacı makrofaj ve mikrogliaların Tümör Nekrozis Faktör (TNF) ve NO[•] sentezini arttırarak oligodendrosit lizisi, nöronal ölüm ve demiyelinizasyonda yol açtığını savunurken; diğer bir grup ise bu hücrelerin bir yandan da nöronal rejenarasyona katıldıklarını savunmaktadırlar (106).

MS yaralanmasından sonra hasar bölgesi çabucak kandan taşınan nötrofiller ve diğer reaktif hücreler TNF- α , interleokinler ve interferonlar gibi inflamatuvar yanıtı aracılık eden ve daha fazla doku hasarı gelişmesine katkı sağlayan sitokinleri üretirler. Fosfolipazlar araşidonik asidi hücre membranından ayırabilir. Araşidonik asidin siklooksijenaz metabolizması tromboksan, prostasiklin ve prostoglandinlerin meydana gelmesine neden olur ki bu ürünlerin hepsi inflamatuvar süreçlere etki eder. Tromboksan A₂'nin (TxA₂) trombosit aggregasyonunu ve vazokonstriksiyonu destekleyerek venöz tromboz ve iskeminin kötüleşmesine neden olma eğilimi varken *Prostasiklinin (PGI₂)* inflamasyonun olduğu bölgede damar geçirgenliğini ve ödemi artırma gibi vazodilatatör özellikleri vardır.

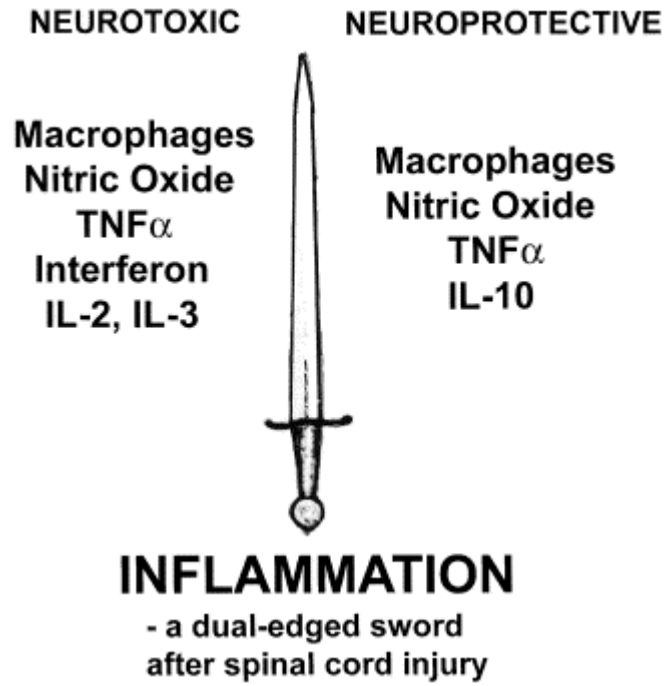
Sitokinler *Siklooksijenaz-2 (COX-2)* salınımına neden olarak, araşidonik asidin, damar geçirgenliği veya direncine ve trombosit aggregasyonu veya adherensine aracılık eden *proinflamatuvar prostanoidlere* (prostaglandinler, prostasiklin ve tromboksanlar) yıkılmasını sağlarlar (4). Artmış hücre içi kalsiyum, hücre membranındaki fosfolipidlerden araşidonik asidi oluşturan *fosfolipazları* aktive edebilir (Şekil 15). Künt MS yaralanmasından sonra hem COX-1 hem de COX-2'nin arttığı gösterilmiştir. Ancak yüksek düzeyde indüklenebilir COX-2 izoformunun üzerinde daha fazla durulmuştur (4,7).



Şekil 15: Araşidonik Asit Metabolizması (4)

İkincil MSS hasarına karışan çeşitli sitokinler arasında muhtemelen en kapsamlı biçimde çalışılanı TNF- α dır. Nötrofiller, makrofajlar, mikroglia, astrositler ve T hücreleri gibi birçok farklı hücre grupları tarafından meydana getirilebilir. MS yaralanmasının olduğu tarafta hızla biriktiği gösterilmiştir. Hasarlanmadan hemen sonra salınan TNF- α aktive lökositlerin kandan MS'in içine migrasyonuna aracılık eder ve ilave sitokin üretimini stimüle eder. Yakovlev ve Faden (1994) sıçanlarda MS travmasından 30 dakika sonra travmanın gerçekleştiği tarafta TNF- α mRNA düzeylerinde yükselme olduğunu; hasarın şiddetinin TNF- α mRNA düzeyi ile orantılı olduğunu göstermişlerdir (3,107). Yapılan hayvan deneylerinde TNF- α 'nın hem nörotoksik hem de (oldukça şaşırtıcı olarak) nöroprotektif özelliklerinin olduğu açığa çıkmıştır. Örneğin santral sinir sistemi hasarından sonra TNF- α 'nın antikorlarla veya diğer sitokinlerle inhibisyonunun fonksiyonel iyileşmeye katkı sağladığının gösterilmiş olması TNF- α 'nın sitotoksik bir rolünün olduğunu akla getirir. Tersine in vitro yürütülen bazı çalışmalarda ise TNF- α 'nın eksitotoksik ölüme karşı nöroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir. Son bahsedilen durumu destekler nitelikte TNF- α reseptörleri eksik transgenik farelerde (muhtemelen fareleri endojen TNF- α etkilerine karşı duyarsızlaştıracaktır) omurilik yaralanmasından sonraki doku kaybının ve fonksiyonel defisitinin *wild type* farelere göre anlamlı derecede fazla

olduğunun gösterilmiş olması $\text{TNF-}\alpha$ 'nın nöroprotektif bir etkiye aracılık ettiğini akla getirmektedir. Bu nedenle inflamasyonun MS yaralanmasından sonra hem nörotoksik hem de nöroprotektif etkileriyle birlikte “iki kenarı keskin bir kılıç” olarak düşünülmesi çok daha uygun olacaktır (Şekil 16). $\text{TNF-}\alpha$ 'nın, sözde net olan faydalı ve zararlı etkilerinin hangisinin baskın olacağı muhtemelen hasardan ne zaman sonra salındığına ve hangi hücre topluluğu üzerinde etki gösterdiğine bağlıdır (4).



Şekil 16: İnflamatuar Yanıtın Nöroprotektif ve Nörotoksik Unsurları (4)

Her ne kadar sitokinlerin birçoğu inflammatuar yanıtı katkı sağlasalar da İnterlökin-10 (IL-10) gibi bazı sitokinlerin güçlü anti-inflamatuar özelliklerinin olduğu da ayrıca dikkate alınmalıdır. $\text{TNF-}\alpha$ 'yı salan lökositler, makrofajlar, astrositler ve mikroglia gibi hücrelerin çoğu IL-10 da üretirler. IL-10'un MS yaralanması sonrası TNF üretimini azalttığı, monosit ve diğer immun hücrelerin aktivasyonuna karşı inhibitör olarak görev yaptığı gösterilmiştir (106). Deneysel

omurilik yaralanmasından sonra IL-10 uygulanmasının muhtemelen antiapoptotik genlerin indüksiyonuna bağlı olarak nöroprotektif olduğu gösterilmiştir.

Posttravmatik inflamasyon, haftalar süren bir periyotta "Wallerian dejenerasyon" gösteren beyaz cevher bölgelerinde meydana gelir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda uzun süredir MS hasarı olan hastalarda, sitokinleri (yani, IL-2, IL-6), solübl IL-2 reseptör ve "İntersellüler Adhezyon Molekülü 1"i (ICAM-1) içeren inflamatuvar mediatörlerin plazma düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. Bu şekildeki bulgular insan MS hasarının geç dönemindeki inflamatuvar yanıtın önemini vurgulamaktadır.

Kontüzyona uğramış MS hasarından sonra erken dönemde aktive makrofajlar görünür hale gelirler. Giderek artarak hasardan sonraki 2. ve 4. haftalar arasında plato yaparlar. Mevcut mikroglialar hızla makrofajlara dönüşür. Ardından infiltre olan monosit prekürsörlerinden oluşan makrofajlar infiltre olurlar. B ve T lenfositleri hasarlanmış MS'de hasardan sonra saatler içinde görülürler ve hasardan sonraki 7. güne kadar görülmeye devam ederler. B lenfositlerinin hasardan sonra 3. ve 6. saatler arasında belirgin bir infiltrasyonu vardır ve hasardan sonraki 4. günde hem B hem de T lenfositleri belirlenebilir. Bu hücrelerde hasardan sonraki 7. günde belirgin bir düşüş olur.

MS yaralanmasından sonra gelişen rejeneratif yanıtın periferik sinir hasarıyla karşılaştırıldığı zaman daha zayıf olmasının periferik sinirlerdeki makrofaj invazyonunun daha çok belirgin olmasıyla ilgili olduğu öne sürülmüştür. Akut travmatik komplet hasarı olan hastaların MS'in içine aktive edilmiş makrofajların implantasyonunun yapıldığı faz I klinik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu örnekler MS yaralanmasına karşı gelişen inflamatuvar ve immünolojik cevabın iç yüzünün kavranmasını sağlamıştır. İnflamasyonun erken dönemlerde zararlı olduğu halde geç dönemde koruyucu olduğu fikrinde giderek birleşilmektedir (94) .

II.A.4. MS Hasarının Patolojisi

MS yaralanmalarında nöropatolojik bulgular yaralanmayı oluşturan etkenin şiddetine, süresine ve yaralanmadan sonra geçen zamana bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (9,108).

MS yaralanmasında akut, subakut ve kronik dönemde görülen değişiklikler aşağıda açıklanmıştır.

II.A.4.a. Akut Faz

Akut hasarın en erken makroskopik bulguları zedelenmenin şiddetine bağlı olarak kordda yumuşama, yuvarlaklaşma ve pembe-kırmızı renk değişikliği oluşmasıdır. Bu renk değişikliği mikrokanamalara ve venöz staza bağlıdır. Erken döneme ait morfolojik değişiklikler travmayı takiben 4. saatte başlar, 8 ila 24 saat arasında nekroz ışık mikroskobu ile görülebilir düzeydedir. İlk belirtiler gri cevherde peteşial kanamalar, beyaz cevherde ödemdir.

Tablo 10: MS Yaralanmasındaki Akut Histopatolojik Değişiklikler (109)

1. Santral hemoraji (özellikle gri maddede kapiller, venüller ve arteriollerden kaynaklanır. Nadiren büyük hematomyeli oluşur)
 2. Uzak kanamalar (özellikle venlerden kaynaklanır)
 3. Santral hemorajik nekrozis
 4. Posttravmatik infarkt
 5. Subaraknoid kanama
 6. Subdural veya ektradural hematomlar (nadiren)
 7. Ödem (lokal veya yaygın)
 8. Aksonal hasarlanma [transeksiyon, aksolemma yırtılması, şişme, dev aksonların oluşması, granüler kayıp (Kromatolizis), organellerin toplanması]
 9. Myelin kılıfı hasarı [ruptür, veziküler hasar (vakuolizasyon), periaksanal boşluklar]
 10. İnflamasyon (makrofaj ve mikrogliya)
-

Özetle MS hasarından sonra akut fazda görülen patolojik değişiklikler tablo 10'da gösterilmiştir (3,6-10).

II.A.4.b. Subakut Faz

Yukarıda tarif edilen akut döneme ait değişiklikler yaralanmayı takip eden 5. günden sonra yavaş yavaş durulmaya başlar. Subakut dönem 5. gün ile 3 ay arasındaki dönemi kapsar (7). Bu fazdaki patolojik değişiklikler akut ve kronik dönem değişikliklerinden farklıdır. Ödem bu dönemde büyük oranda azalmıştır. Küçük boyuttaki kanamalar geri emilmiştir. Büyük alanları işgal eden kanamalar ise organizasyonla giderilmeye çalışılır. Bu nedenle mevcut damarlarda rekanalizasyon izlenir. Eğer santral hemorajik nekroz oluşmuşsa, onarım boru şeklinde kistik boşluk olarak gerçekleşir. Nekrotik dokuların rezorbsiyonu ile "Lückenfelder" denilen boş kistik alanlar oluşur (60). Damarların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır.

Akut dönemdeki Polimorf Nüveli Lökosit (PNL) infiltrasyonunun yerini bu dönemde lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu almıştır. Ortamda çoğunluğu oluşturan hücreler ise lipit yüklü (ölen nöron ve parçalanmış myelini fagosite etmiş) ya da kanamayı fagosite etmiş hemosiderin yüklü makrofajlardır. Fagositik hücreler hasarın olduğu alanda özellikle damarlar çevresinde rozetler halinde gruplar oluşturur (9,108).

Onarım dokusu hem glial hücrelerin hem de genç myofibroblastların üremeye başlamasıyla gelişir. Genç myofibroblastlar zamanla kollajen üreten olgun fibrositlere dönüşür ve ortamda nedbe dokusu meydana gelir. 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. Yaralanmaya cevap olarak astrositler hipertrofi ve proliferasyon gösterirler. Reaktif astrositler lezyon yanında birinci haftada birikmeye başlar 14. günde pik yapar. 28. güne kadar görülebilir (9,109).

Aksonal bağlantısı kesilmiş nöronda "santral kromatolizis" olarak adlandırılan sitoplazmanın belirgin homojenizasyona uğradığı ve şiştiği, çekirdeğin ise kenara itildiği değişiklikler görülür. Travmadan etkilenen nöronların aksonlarında kesi olduğunda, aksonun distal kısmında oluşan Wallerian dejenerasyon proksimaldeki motor traktuslarda ve distalde ise duyuşal traktuslarda daha belirgindir. Bu subakut dönem değişiklikleri klinik gelişmelerden de sorumludur. Örneğin, travmadan bir yıl sonra bile nörolojik fonksiyonlarda iyi yönde gelişmeler olabilir. Bu iyileşme, ortamın temizlenmesi ve az sayıda nöronda aksonal rejenerasyonun devamı ile gerçekleşir. Wallerian dejenerasyon, parçalanan akson ve myelinin makrofajlar tarafından fagosite edilerek ortamdan uzaklaştırılmasıdır (3,6-9,39,60,61,109,110).

II.A.4.c. Kronik Faz

MS travmalarında kronik dönem travmayı takip eden 3-9 ay arasında izlenen otopsi bulgularıyla ve deneysel çalışmalarla gösterilmiş değişikliklerdir (7). Travma bölgesinde MS üzerindeki duramater ve araknoidal membran kalınlaşmıştır. Eski hemorajiler nedeniyle kahverengi-gri renk almıştır. Mikroskobik olarak fibrozisin geliştiği ve meningial hücrelerin proliferasyonla olduğu görülür. Adheziv araknoidit tabloya daima eşlik eder.

Akut fazda hakim olan PNL'ler kronik fazda yerlerini makrofajlara bırakırlar. Makrofajlarda oluşan debris fagosite eder. Travmanın olduğu yerde küçük ve büyük kaviteler gelişir. Bunlar birleşerek büyük ebatlara ulaşırlar ve santral kanalla ilişkili hale gelerek santral kavitasyonu oluştururlar. Daha sonra rostrale ve kaudale uzayarak posttravmatik siringomyeli sendromuna yol açarlar. Kronik dönemde keskin sınırlı nekroz alanları ile infarkt görünümünü birbirinden ayırt etmek daha kolaydır. Travma alanının uzağında lokalize olan nekrotik sahalar, travma bölgesiyle uyumlu olmayan nörolojik defisitlerin izahına yardımcı olurlar. İntramedüller skar ve fibrozis değişik dereceldedir. Travmanın en ciddi hasar oluşturduğu bölgede tüm glial ve nöronal hücreler hasara uğramış olduğundan iyileşme yalnızca genç bağ

dokusu hücreleriyle yani skar dokusu ile gerçekleşecektir. Travma hasarının daha hafif olduğu durumlarda ise skar dokusunun çevresinde astrositlerin artışına bağlı astroglıozis meydana gelir (111).

Kronik fazda MS, hem travma yerinde hem de travma yerinin rostali ve kaudalinde incelmış ve atrofiktir. Skar alanında artık anatomik yapılar seçilemez (108).

Wallerian dejenerasyon bu dönemde de devam eder. Geç lezyonun önemli bir komponenti miyelin kaybıdır. Demiyelinizasyon ilk 24. saatte başlar, 2. haftada maksimum seviyesine ulaşır. Remiyelinizasyon ise 3. haftada başlar. Remiyelinizasyonda oligodentrositlerin rolü olabileceği gibi, lezyon sahasına dorsal köklerin giriş bölgesi “dorsal root entry zone” bölgesinden Schwann hücrelerinin göçü, bu hücrelerinde remiyelinizasyonda rol aldıklarını düşündürmektedir. Deneysel çalışmalarda rejenerasyonun üç yıla kadar yavaş hızla devam ettiği gösterilmiştir (3,6,8-10,39,60,61,109-111).

Özetle MS hasarında kronik dönemdeki patolojik değişiklikler tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11: MS Yaralanmasında Kronik Dönemdeki Patolojik Değişiklikler (109)

1. Santral kavitasyon
 2. Aksonların subpial rimlerinin kalıcı olması
 3. Post-travmatik infarkt (hasarlı bölgede veya uzağında)
 4. Post-travmatik siringomiyeli
 5. Kistik miyelomalazi
 6. Demiyelinizan ve diskomplet nekrotizan alanlar
 7. İnflamasyon-makrofaj
 8. Wallerian dejenerasyon
 9. Skar ve gliozis
 10. Araknoidit
 11. Atrofi
 12. Rejeneratif süreç (aksonlarda, schwann ve ependim hücrelerde proliferasyon)
-

II.A.5. MS Korunması ve Rejenerasyonu

MS künt travmalarının yaklaşık yarısında lezyon seviyesi altında klinik olarak hiçbir motor ve duyuşal fonksiyonun bulunmadığı tam paralizi vardır. Ancak tam paralizili hastaların postmortem çalışmalarında mekanik hasardan kurtulan nöronal dokular gözlenmiştir. Bu gözlemler MS'in künt travmalarından sonra tam motor ve duyuşal paralizi olduğu varsayılan hastalarda bile, nadiren transseksiyon geliştiğini göstermektedir. Hayvan deneyleri sonucunda MS'in hasarlı bölgesini geçen aksonların %1.4 ila %12'sinin kurtulmasıyla birlikte nörolojik fonksiyonların anlamlı ölçüde sürdürüldüğü gösterilmiştir. Minimal motor fonksiyon gözlemlenen kısmi paralizili bir hastanın postmortem incelemesinde ise hasar bölgesinin altında normal akson sayısının yaklaşık olarak % 7'sinin sağlam kalmış olduğu tespit edilmiştir. Ancak insanlarda anlamlı distal nörolojik fonksiyonlar olması için omuriliğin ne kadarının sağlam kalması gerektiği günümüzde henüz net değildir (3).

Sağlam MS dokusu miktarının MS hasarından sonraki fonksiyonel iyileşmeyle yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Young ve arkadaşları tarafından hayvan modellerinde MS hasarı sonrasında eğer kortikal motor nöronların % 4-6 gibi az bir oranının hasarlı MS segmentinden MS'in kaudaline fizyolojik bağlantıları tekrar kazanılırsa motor fonksiyonların normal düzeylere kadar iyileşebilecek kapasitede oldukları gösterilmiştir. Bu deneyler, traktlarda sağ kalan nöronların iyileşmesinden sonraki motor fonksiyonların geri dönüşünde eşik bir etki olduğunu destekler niteliktedir. Hasar bölgesindeki aksonların sağkalımında %3'ten % 6'ya bir artış, hasar bölgesinin bir yanından öbür yanına nörolojik fonksiyonların geri dönmesine olanak sağlar ve paralize kaslar hasarın kaudal kısmında normal fonksiyonlu kaslara dönüşürebilir. Yine Basso ve arkadaşları (1996) tarafından sıçanlarda MS kontüzyon hasarından sonra lezyon merkezindeki fiberlerin % 5-10 gibi az bir oranının sağkalımıyla temel fonksiyonların yapılmasıyla ilgili segmental iletimin sürdürülmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Bu gözlemler ışığında spinal aksonların küçük bir oranını bile kurtarabilecek veya doku hasarını önleyebilecek

herhangi bir tedavinin fonksiyonel iyileşmeyi dramatik olarak iyileştirebileceği düşünülmektedir (3).

Tator'a göre fonksiyonel iyileşme, yaralanma seviyesindeki sinir kökleri, gri cevher, beyaz cevher ve MS vaskülarizasyonu gibi birçok anatomik yapı ile ilişkili olan farklı süreçlerin kombinasyonu sonucu oluşur. Hem komplet hem de inkomplet MS yaralanmasını takiben nörolojik düzelme yönünde bir eğilimin varlığı, deneysel ve klinik gözlemlerle doğrulanmış ise de, bu iyileşmenin biyolojik esasları hala ortaya konamamıştır. Nöral rejenerasyon ile beraber lezyona uğramış nöral elemanların ve fonksiyonel sinaptik bağlantıların restorasyonu, yaralanmadan sonra aylarca, hatta yıllarca sürebilen geç iyileşme sürecini açıklar (61).

Enfarkt alanının etrafında, halen hayatını devam ettirmekte olan hipoksik bir dokudan oluşan penumbra, muhtemelen kenarlarındaki kolletaral dolaşım ile kanlanır. İskemi kritik bir düzeye ulaşırsa veya uzun süre devam ederse, penumbrada geri dönüşümsüz hasar gelişir ve böylece enfarkt zonu genişler; ancak, kalıcı hasar gelişmeden önce kan akımı düzeltilirse, penumbranın normal fizyolojik fonksiyonları geri döndürülebilir (61).

Kısa bir süre öncesine kadar hasarlanmış insan sinir dokusunun kendisini tamir etme kapasitesinin hemen hemen hiç olmadığına ve herhangi bir nedenle hasarlanan sinir dokusuna bağlı olarak kaybolan fonksiyonların bir daha yerine konamayacağına inanılırdı. Günümüzde nöro bilimciler modern teknolojinin de sağladığı olanakların ışığında bize bunun mümkün olabileceğini söylemektedirler. Bu olayı mümkün kılan iki altın sözcük ise nöronal plastisite ve rejenerasyondur (6,112).

II.A.5.a. Nöronal Plastisite

Nöronal plastisite kavramı, sinir sisteminin kendi içerisinde veya içinde bulunduğu ortama gösterdiği uyum kabiliyetini ifade eder (6). Nöronal plastisite, özellikle gelişmesini sürdüren immatür sinir sistemi dokuları için varsayılmakla birlikte, yaşam boyunca da bazı durumlarda belli oranlarda görülebilmektedir.

Plastisitenin genelde adaptif bir fenomen olduğu kabul edilir, sinir dokusunda meydana gelmiş hasarların etkisinin azaltılması ve iyileşmede rol oynar, buna karşın maladaptif örnekte gelişen plastisite formlarıda tarif edilmiştir. İnsan korteksinin, özellikle yaşamın ilk yıllarında oluşmuş hasar sonrası inanılmaz derecede reorganize olma yeteneği gösterdiği bilinmektedir (6,113,114). Plastisite, kendisini nöron sayısında olduğu kadar aksonal gelişimdeki fazlalık ve çeşitlilik ile dendritik gelişim ve sinaptik bağlantılarla da gösterir. Bu şekildeki yapısal yeniden düzenlenmeler fonksiyon seviyesindeki değişmelerle birlikte görülebilir ve fonksiyonel plastisite olarak adlandırılırlar (6,114).

II.A.5.b. Nöronal Rejenerasyon

Nöronal rejenerasyon, travma, iskemi, enfeksiyon ve daha bir çok neden dolayısıyla bütünlüğu bozulmuş ve hasarlanmış, sonuçta da fonksiyonlarını kaybetmiş sinir dokusunun bu olay sonrası kendisini tamir etme işlemini ifade eder.

Periferik sinir sistemine olan travmaların aksine MSS dokusunda meydana gelen hasar irreversibldir. Bunun nedeni olarak santral nöronların aksonal rejenerasyonu yapamamaları gösterilir (115). Her ne kadar zedelenmiş aksonun kökünden bazı kısa oluşumlar filizlenebilse bile, çok az olguda bu lokal filizlenme fonksiyonel bağlantıları tamir edip eski haline getirebilmektedir (6).

Monoaminerjik ve myelinize olmamış kolinerjik santral sinir sistemi aksonlarının rejenere olduğu, fötal monoaminerjik nöral greftlerin yetişkin alıcı beyin merkezlerinde muhtemelen bağımsız olarak yaşayabildikleri ve denerve olmuş hedefleri yeniden innerve ederek fonksiyonu tekrar sağlayabildikleri gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada, periferik sinir implantasyon tekniği kullanılarak MSS'ne yerleştirilen bir periferik sinir kökünde santral aksonal sistemlerinin aktif bir şekilde büyüdükları gösterilmiştir.

Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, o zamana kadar geçerli kabul edilen MSS'nin rejenerasyon yetmezliğini açıklamak için "yetersizlik/kabiliyetsizlik"

hipotezlerini kullanan görüşü çürütmekte, aynı zamanda, MSS'nin büyüme stimülatörü maddeleri salgılayamamasının veya zarar görmüş MSS dokularının salgıladığı maddelerin aksonal büyümeyi inaktive ediyor olmasının da bunun nedenleri arasında olabileceğini düşündürmektedir (116).

Nöral gelişmenin erken safhalarında, gerek santral, gerekse periferik sinir sisteminin ekstrasellüler matriksi aksonal büyümeyi destekleyen glikoproteinler içermektedir. Bu tipten proteinlerden olan laminin ve fibronektin yetişkin memelilerin periferik sinir dokularında bulunmalarına rağmen, beyin ve MS'de bulunmamaktadırlar. Böylece yetişkin santral sinir sistemi dokusunun ekstrasellüler matriksinde aksonal rejenerasyon için ihtiyaç duyulan kritik moleküller bulunmaz ve rejenerasyon mümkün olamaz. Gelişmekte olan aksonlar bunun yanı sıra aktif büyüme ile birlikte görülen intrasellüler proteinler taşırlar. Bunlardan GAP-43, 43000 molekül ağırlığında bir protein olup büyüme ile bağlantılıdır. Bu protein pekçok erişkin MSS yapısında genel olarak bulunmamakla birlikte, hasara karşı bir miktar cevap verebilme yeteneğine sahip hipokampus gibi santral yapıların nöronlarında gösterilmiştir (6,112).

Matür MSS'inde büyümeyi hızlandıran, destekleyen moleküllerin eksikliği yanı sıra aksonal büyümeyi aktif olarak inhibe eden moleküllere de rastlanılmaktadır. Örneğin oligodendrositler, farklılaşıp santral aksonal myelinizasyonu başlattıkları zaman, aksonal büyümeyi aktif olarak baskılayan glikoproteinleri de sentezlemeye başlarlar. Dahası, farelerde bu inhibitör moleküllere karşı oluşan antikorlar, aksonal rejenerasyonu uyarıcı etki yapmaktadırlar. Bu tip inhibitör glikoproteinler, periferdeki aksonları çevreleyen Schwann hücresinin myelinizasyonu prosesinde bulunmamaktadırlar. Hasarlı MSS dokusunun çevresi astrositlerin oluşturduğu glial skar dokusu ile çevrelenmekte ve bu dokunun bizatihi kendisi aksonal rejenerasyonu önleyici etkide bulunmaktadır. Glial skar oluşumu, embriyonik veya postnatal astrositlerde olmayan sadece olgun astrositlere özgü bir özelliktir. Bu özgülük, fare korpus kallosumlarının değişik yaşlarda kesilmesi ile gösterilmiştir. Yetişkin farelerde, aksonlar lezyon bölgesinde orta hattı geçemeyip karışık bir düğüm yapısı oluştururken, orta hatta cerrahi yöntemlerle yerleştirilen ve içerisine immatür astrositlerin implante edildiği nitrosellüloz bir filtre uygulaması ile aksonal büyüme

uyarılabilir. Bu anlatılan mekanizmalar, yani gelişim sırasında aksonal büyümeyi destekleyen moleküllerin ortamdan kaybolması ve inhibitör moleküllerin ortaya çıkması ile kısmen de olsa santral nöronların neden rejenerasyon kapasitelerini kaybettiklerini açıklanabilmektedir (6,117-119).

II.A.6. Akut MS Yaralanmasının Tedavisi

MS yaralanmaları üzerine yapılan birçok araştırmalar olmasına rağmen, tam bir tedavi seçeneği halen bulunamamıştır. Akut MS hasarının patofizyolojisi hakkında sağlam ve önemli bir anlayış geliştirilmesi hasardan geriye kalan omuriliğin fonksiyonel bütünlüğünü azami düzeye çıkarmak için birçok nöroprotektif tedavinin klinik uygulamalarına hız kazandırmıştır. Birincil hasar beklenmedik nedenlere bağlı olduğu için genellikle engellemez ve şiddeti değiştirilemez. Bu nedenle birincil hasarın medikal ya da cerrahi tedavisi yoktur, ancak ikincil hasarı engellemek teorik olarak mümkündür. Günümüzde akut MS yaralanması olan hastalara medikal ve cerrahi müdahalelerin amacı ikincil hasarı en aza indirerek mekanik hasardan kurtulan nöronal yapıların korunmasıdır (60).

Erken dönemde triaj, hipotansiyon ve hipoksiyi önlemeye yönelik agresif şekilde yürütülen resüsitasyon ve zarar görmüş sinir dokusunun devam eden kompresyonunun erken dönemde rahatlatılması önemlidir. Tüm hastaların hipoksi, hipotansiyon ve komplikasyonların engellenmesine dikkat edilerek tedavi edilmeleri mortalitede bir düşüşe ve iyileşme beklentisinin artmasına neden olmaktadır (120).

Hayvan çalışmalarının insanlar üzerinde yapılan dikkatli düzenlenmiş bir protokol kullanılarak yürütülen klinik çalışmalarla doğrulanmasının önemli sonuçları olmuştur (121). Akut MS hasarı hayvan modellerinde günümüze kadar denenmiş medikal tedavilerin etkiler hakkındaki deneysel kanıtlar ve bu kanıtlara bağlı olarak yürütülen klinik çalışmalar şunlardır:

II.A.6.a. Deneysel Kanıtlar

II.A.6.a.(1). Kortikosteroidler

Akut MS yaralanması durumlarında kortikosteroidler 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır (4,122). Oldukça geniş çaptaki hayvan deneyleri ile ilgili literatür deneysel omurilik yaralanmasında steroidlerin etkinliğini desteklemektedir. Ancak hayvan çalışmalarının tümünde faydalı etki gözlenmemiş olup bazı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir (123). Kortikosteroidlerin nöroprotektif etkilerinin kesin mekanizmaları tamamen anlaşılmamış olmasına karşın bu mekanizmaların lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, inflamatuvar sitokinlerle birlikte inflamatuvar ve immün cevapların modülasyonu, vasküler perfüzyonun iyileştirilmesi ve hücre içine kalsiyum girişinin ve birikiminin engellenmesini içerdiği öne sürülmektedir (124). Lipid peroksidasyonunun inhibisyonunun glukokortikoidlerin en etkili nöroprotektif özelliği olduğu varsayılmaktadır. Bu bakımdan metilprednizolon diğer glukokortikoidlerle karşılaştırıldığında özellikle etkili gibi gözükmektedir.

Anderson ve arkadaşlarının 1982 yılında yayınladıkları bir çalışmada sentetik bir glukokortikoid olan metilprednizolonun travmatize MS’de mikrovaskülarite ve metabolizmaya etkileri incelenmiştir. Yüksek doz metilprednizolon (HDMP, 15 mg/kg/24 saat) alan kediler tedavi almamış grupla karşılaştırıldığında 8.saatte hasarlı MS’in mikrovasküler perfüzyonunun önemli ölçüde korunduğu gösterilmiştir (125). MS hasarı olan hastaların iyileşmesi 30 mg/kg (intravenöz) bolus dozundan sonra meydana gelir ki bu miktar vücuddaki glukokortikoid reseptörlerini aktif etmek için gereken dozun 1000 katıdır (11). Terapötik sonuçlar için gereken klinik kullanımdaki dozları ile (24 saatte 154.2 mg/kg) hayvan modellerinde lipid peroksidasyonu ve nörofilamentlerin inhibisyonunda en etkili olduğu gösterilen dozlar birbirine benzerdir (126). MS hasarından sonra yüksek bir dozda (intravenöz, 30 mg/kg) metilprednizolon verilmesinin lipid peroksidasyonunu azalttığı ve ATPase gibi membrana bağlı enzimleri ve nörofilamentler gibi intrasellüler moleküler bağlantıları

koruduğu ve laktik asidin biyolojik olarak zararlı artışını tersine döndürdüğü bulunmuştur.

Metilprednizolonun belirgin bir antioksidan etkinliğinin olduğu ve insanlara veya hayvanlara antioksidan dozlarda verildiği zaman MS hasarından sonraki nörolojik iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiştir. Metilprednizolonun bu etkisi steroidlerin glukokortikoid reseptörlerine bağlı etkilerinden bağımsızdır (3,127).

Demir bağımlı lipid peroksidasyonunu inhibe eden ancak glukokortikoid etkinliği olmayan 21-aminosteroid olan “Larazoidler (Trilazad Mesylat)” MS hasar modellerinde fayda sağladıkları bildirilmiştir. Steroid olmasına rağmen steroidlerin yan etkilerini taşımaz. Antioksidan etkisi metilprednizolondan fazladır. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Membranı stabilize eder, MS kan akımını artırır. Trilazad mesylatın (U74006F) serbest radikal tutucu mekanizmayla da etkili olduğu bildirilmektedir (96,118,128).

Glukokortikoidlerin anti-inflamatuar etkisi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Yapılan araştırmalar glukokortikoidlerin kemotaksiyi (129,130), fagositozu (131), inflammatuar mediyatörlerini sentezini ve lizozomal enzimlerin salınımını (130) içeren lökosit fonksiyonlarını inhibisyonu aracılığıyla inflamasyonu bastırdığını göstermiştir. Ancak metilprednizolonun MS hasarındaki koruyucu etkileri içinde nötrofil aracılı endotel hücre hasarının redüksiyonu yoktur (3,130-132).

Glukokortikoid etkisi metilprednizolondan fazla olan deksametazonun sadece nötrofillerin perisit bazal membranının penetrasyonunu inhibe ettiği ancak endotel hücreleri üzerine adhezyonunu inhibe etmediği gösterilmiştir (133).

II.A.6.a.(2). Ganglioizidler

Ganglioizidler memeli MSS hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan siyalik asit içeren glikosfingolipidlerdir. Bunlar hücre zarlarının major bir komponentidir ve çoğunlukla hücre membranının fosfolipid bilayerinin dış tabakasında yerleşirler (134). *Monosialotetrahexosylganglioside* (GM1 veya Sygen [Fidia Pharmaceutical Corporation, Washington, DC]) sinaptik iletim ve nöronal

gelişimde modölatör rol oynar. Sistemik olarak uygulanmasıyla değişik bir çok deneysel MSS hasarından sonra nöritlerin büyümesi ve plastisitesinin kuvvetlenmesi, eksitotoksitenin inhibisyonu ve apoptozisten korumayı içeren nöroprotektif etkiler elde edilmiştir (4,135,136). Nöroprotektif etkilerini ödemi azaltarak, Na-K ATPaz pompa aktivasyonunu düzenleyerek ve NMDA kaynaklı nörotoksiteyi azaltarak gösterir. Bu mekanizmalara bağlı olarak GM1 Gangliozyd MS hasarından sonra beyaz cevherde nöronal sağkalımı artırır veya hasarlanmış beyaz cevher bölgelerindeki distal MS'in zayıflamış sinyal yanıtını artırır. Santral sinir sistemi hasarında GM1'in yararlı etkileri akut hasar sürecinden çok uzun etkili nöronal iyileşmeye yönelik gibi gözükmektedir. GM1 Gangliozyd'in lökosit aktivasyonunu inhibe edip etmediği ise araştırılmayı beklemektedir (3).

II.A.6.a.(3). Opiyat Antagonistleri

Omurilik yaralanmasının deneysel hayvan modellerinde Naloxane, Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) ve TRH analogu YM-14673 gibi Opiyat reseptör blokerlerinin lokal uygulamasının fonksiyonel ve elektrofizyolojik olarak iyileşmeyle birlikte spinal şoku geri döndürdüğü ve MS'in kan akımını iyileştirdiği bulunmuştur. Travmatik MS hasarında bir opioid peptid olan dinorfinin yükseldiği, sıçan modelinde intratekal enjeksiyonunun ardından geçici paralizi meydana getirebileceği bildirilmiştir. Aynı zamanda kappa reseptörlerinde de artış gösterilmiştir. Kappa reseptörlerinin Opiyat antagonistleri deneysel MS hasarının ardından nörolojik ve histolojik defisitleri azaltmış, dinorfin antisera ile yapılan tedavi ise nörolojik hasarı azaltmıştır. Aynı reseptör antagonistlerinin travmatik beyin hasarında da etkin olduğu gösterilmiştir (96).

Naloxane spesifik olmayan bir Opiyat reseptör antagositidir. 1980'lerin başlarında kapsamlı biçimde incelenmiştir (4,137,138). Seçkin ve arkadaşlarının 1991 yılında yayınladıkları bir deneysel hayvan modeli çalışmasında bir Opiyat antagonisti olan Nalorfin'in MS yaralanmasında iyi bir alternatif olabileceği öne sürülmüştür (139). 1995 yılında İldan ve arkadaşları tarafından sıçanlarda klip

kompresyon metodu ile gerçekleştirilen omurilik yaralanması sonrası uygulanan Nalorfin'in faydalı etkisinin $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Mg}^{++}$ ATP ase inaktivasyonu ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu yoluyla olduğu ileri sürülmüştür (140). MS yaralanmasından sonra gözlemlenen endojen opiyatların artışını antagonize ederek araya girdiği düşünülen Naloxane'ın faydalı etkileri birçok farmakolojik tedavi gibi tüm otörler tarafından doğrulanamamıştır (141).

II.A.6.a.(4). Glutamat Reseptörü ve İyon Kanalı Antagonistleri

Travmaya bağlı olan ve olmayan MSS bozukluklarıyla MS yaralanmasından sonraki eksitotoksik hasarda NMDA ve non-NMDA (AMPA/kainate) reseptör aktivasyonun oynadığı rolün farkına varılması farmakolojik müdahalelerin geliştirilmesine büyük bir ilginin doğmasına yol açmıştır (142). Eksitator aminoasit antagonistleri ile MS modelleri üzerindeki ilk çalışmalar özellikle Faden ve arkadaşları tarafından nonkompetitif NMDA reseptör antagonisti olan 'Dizocilpine (MK-801)' kullanılarak yürütülmüştür. Bu araştırmacılar Dizocilpine'in lokal uygulamasının nörolojik defisiti kötüleştirdiğini, sistemik uygulanmasının ise klinik düzelmeyi arttırdığını ve histopatolojik değişiklikleri azalttığını bildirmişlerdir (143,144). Dizocilpine hasarlı MS'te kan akımını arttırmakta ve ödemi azaltmaktadır (145). Sıçanlarda klip kompresyon yöntemiyle oluşturulan travma sonrası lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (146). Dura üzerine ağırlık düşürülerek yapılan MS hasarında Dizocilpine uygulanması da apoptozisi belirgin olarak azaltmıştır (147).

Agmatin travma sonrası hem aşırı iNOS aktivasyonuna bağlı $\text{NO}^\bullet$ sentezini hem de NMDA reseptörleri üzerinden oluşan glutamat toksitesini azaltmaktadır (9).

Aynı gruptan daha yeni bir ilaç olan 'Gacyclidine (GK-11)', sıçanlarda MS kompresyon modelinde travmayı takiben 10. dakikada uygulandığında oluşan nörolojik defisiti Dizocilpine'den daha etkili olarak azalttığı gösterilmiştir. İlacın etkinliği fonksiyonel, histopatolojik ve elektrofizyolojik olarak da ortaya koyulmuştur (148).

İzleyen dönemde hem kompetitif hem de non-kompetitif NMDA antagonistlerinin etkinliğini ortaya koyan birçok çalışma yayınlanmıştır. CPP'nin (kompetitif NMDA antagonisti) travma sonrası intratekal uygulanması motor fonksiyonel iyileşme ile yakından ilişkili olan Serotonin seviyelerini düşürmüştür (149). Son dönemde klinikte kullanılabilirlikleri nedeniyle popüler olan düşük afiniteli non-kompetitif antagonistler grubundan olan 'Memantin', MS iskemisi sonrası oluşan nörolojik defisiti azaltırken, klip kompresyonu ile oluşturulan MS hasarında etkili olmamıştır (150,151).

NMDA dışı reseptör antagonistlerinin de etkin olduğu gösterilmiştir. Agrawal ve arkadaşları MS beyaz cevherinde NMDA dışında AMPA/KA reseptörleri de olduğunu ortaya koymuştur. NMDA dışı reseptörler yolu ile etkin olan Kainat ve Quisqualat'ın intratekal uygulaması, MS büyük hasar oluşturmuştur (152). Wrathall ve Teng MS travmasını takiben 15. dakikada intravenöz veya mikroenjeksiyon ile uygulanan NBQX'in (spesifik non-NMDA antagonisti) belirgin yan etki oluşturmaksızın fonksiyonel defisiti düzelttiğini ve doku kaybını azalttığını bildirmiştir (153,154). NMDA dışı reseptör antagonistleri ile çalışmalar halen devam etmektedir. Yakın zamanda bildirilen bir çalışmada, Dizocilpin'in hasarlı omuriliğe direkt enjeksiyonunun da duysal uyandırılmış potansiyelleri düzelttiği bildirilmiştir (98). Akut MS kompresyon modelinde travmayı takiben 10. dakikada uygulanan Dizocilpine ve NBQX sensoriyel ileti zamanını ve duysal aksiyon potansiyellerinin şiddetini arttırmıştır (115). Bir AMPA reseptör blokörü olan NBQX'in künt hasar sonrası MS'in içine fokal mikroenjeksiyonları beyaz cevherdeki glial hücrelerin kaybını azalttığı ve lökomotor fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (96,101,155).

Hücre ölümüne giden temel mekanizmaların başında, hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki aşırı artış gelmektedir. Nimodipin, subaraknoid kanama sonrası gelişen vazospazm tedavisi için yaygın olarak kullanılan, iyi bilinen bir kalsiyum antagonistidir. MS travması sonucu Nimodipin kullanımı, lezyon merkezinde etki göstermezken, lezyonu çevreleyen penumbra alanında kalsiyumun hücre içine girişini azaltarak etki göstererek omurilik kan akımını artırdığı ve hipoperfüzyonu tersine çevirdiği gösterilmiştir (156). Bununla beraber Nimodipin ve Flunarizine gibi

kalsiyum kanal blokerleri çeşitli hayvan modellerinde değişken sonuçlar ortaya koymuştur (157-159).

Künt MS hasarından sonra Tetrodotoxin'in lokal mikroenjeksiyonlarıyla sodyum kanallarının bloke edilmesinin beyaz cevherde belirgin nöroprotektif etkisinin olduğu ve fonksiyonel sonuçları iyileştirdiği gösterilmiştir (160,161). Her ne kadar bu sonuçların klinik yorumuna cerrahi müdahalenin de etkisi katılmalıysa da başka bir sodyum kanal blokeri olan Riluzole'un benzer nöroprotektif etkileri bir sıçan modelinde MS'in klip kompresyon hasarından sonra beyaz ve gri cevherdeki hasarını azaltmasıyla ve lökomotor fonksiyonları iyileştirmesiyle gösterilmiştir (162). Riluzole Amyotrofik Lateral Skleroz'un tedavisi için "Food and Drug Administration" onayı almış olmasına rağmen insanlar üzerinde MS yaralanmasına yönelik çalışmalar ise halen yapılmamıştır.

MS yaralanması sonrası miyelin kaybı olmaktadır. Demiyelinizasyon uzun dönemde motor ve duyu bozukluklara yol açan önemli bir faktördür. Miyelin kaybı aksonların internodal bölgelerinde potasyum kanallarının açılmasına, nöron içine potasyum akışına neden olur. Akson içinde potasyum fazlalığı aksiyon potansiyelinin blokajına yol açar. 4-aminopyridin (4-AP), internodal bölgelerdeki potasyum kanallarının blokeridir. 4-AP, aksiyon potansiyelinin süresini uzatarak demiyelinize alanlarda sinir iletisini artırır. Potasyum kanal blokerlerinin kronik dönemde nöronal fonksiyonun yeniden sağlanmasında olumlu etkilerinin olduğuna inanılmaktadır.

II.A.6.a.(5). Serbest Radikal Tutucular

Travma sonrası nöronal harabiyette oksijen radikallerine bağlı oluşan lipid peroksidasyonu kritik bir faktör gibi gözükmektedir. Bu nedenle MS ve beyin hasarı modellerinde lipid antioksidan aktivitesi olan farmakolojik ajanların etkinliği yapılan birtakım çalışmalarla değerlendirilmiştir.

MS hasarının neden olduğu motor fonksiyonlarda bozukluğun E vitamini eksikliğiyle arttığı bulunmuştur (163). Anderson ve arkadaşları hem sentetik bir

glukokortikoid olan Metilprednizolon Sodyum Glukonat'la (MPSS) hem de E vitamini ve selenyumla ön tedavinin kolesterol kaybını tamamen, lipolizi ve prostonaid üretimini kısmen engellediğini ve kronik nörolojik geri dönüşümü artırdığı göstermişlerdir (164-167). Ancak diğer bir çalışmada E vitamini tedavisinin mikrodamarlanma açısından metilprednizolon tedavisine katkı sağlamadığı gösterilmiştir (168).

Iwasa ve arkadaşları tarafından sıçanlarda kompresyona bağlı MS hasarının E vitamini takviyesiyle büyük oranda azaldığı gösterilmiştir (169). Yine bu araştırmacılar tarafından 1988 yılında MS'in kompresyon hasarında E vitamininin etkileri araştırılmış ve motor fonksiyonların E vitamini takviyesiyle büyük oranda iyileştiği gösterilmiştir (170).

Taoka ve arkadaşları E vitamini eksikliğiyle MS hasarının neden olduğu motor fonksiyonlarda bozukluğunun arttığını, MS kan akımının daha fazla düştüğünü, MS uyarılmış potansiyellerin amplitütünde ve latensinde daha az düzelme olduğunu, MS'deki kanama ve ödem gibi patolojik değişikliklerin daha belirgin olduğunu bulmuşlardır (163).

Katoh ve arkadaşlarının 1996 yılında yaptıkları çalışmada C vitamini eksikliğinin MS hasarına bağlı motor fonksiyon bozukluğunu artırdığını bulmuşlardır. Bu çalışma sonucunda ayrıca suda çözünen serbest radikallerin C vitaminiyle yağda çözünen serbest radikallerin ise E vitaminiyle temizlendiğini ve bu vitaminlerin etkilerinin bağımsız olduğu ileri sürülmüştür (171).

21-amino-steroidlerin amino etkinliği ile peroksil radikallerinin temizleyicisi olan E vitaminin kromonal kısmının kombinasyonu olan bileşiğin (yani; 2-*methylaminochromans*) nöroprotektif ajan olarak ümit vaat ettiği gösterilmiştir (122,128).

EPC-K1 vitamin C ve E nin bir diester fosfat bileşimidir. Tekrarlanmış dozlarda verilen EPC-K1 MS hasarının ciddiyetini azalttığı bulunmuştur (172).

Melatonin antioksidan ajan olarak nöroprotektif etki gösterir. Kaptanoğlu ve arkadaşları deneysel MS hasarında hem melatonin hem de metilprednizolonun nöron, akson ve mitokondri ve nukleusu içeren hücresel organelleri koruduğu, ayrıca melatoninin metilprednizolondan daha nöroprotektif olduğunu göstermiştir (173).

Caylı ve arkadaşlarının yürüttükleri bir hayvan deneyinde ise metilprednizolon ve melatonin tedavileri ile bu iki tedavinin kombinasyonu arasında nörolojik iyileşme açısından fark görülmemiştir (174). 2007 yılında yayınlanan diğer bir çalışmada ise dextrometorphan ve melatonin uygulamasının omurilik yaralanması sonrası ikincil hasarı azalttığı bildirilmektedir (175).

Ateş ve arkadaşlarının deneysel akut MS hasarında resveratrol ve metilprednizolon kombine tedavisiyle sadece yüksek doz metilprednizolon tedavisine göre neurobehavioral olarak iyileşmenin daha iyi olduğu bulunmuştur (176). Bu çalışma daha önce yapılan bir çalışmayı (177) doğrular niteliktedir. Bu ilaçların her ikisinin de antioksidan etki mekanizmalarının farklı olması nedeniyle resveratrol ve metilprednizolonun farklı dozlarda ayrı ayrı ve kombine kullanımları içeren gelecekteki çalışmaların umut vaat edici olabileceği bildirilmiştir (8,171,178-180).

II.A.6.a.(6). Non-Steroidall Antiinflatuvar Ajanlar

Membran fosfolipidlerinin fosfolipaz A2'nin kataliziyle hidrolizleri, en başta araşidonik asit olan serbest yağ asitlerinin ve lizofosfolipidlerin üretimi ile sonuçlanır. Bu her iki fosfolipid metaboliti eikozonoidler veya Platelet-Activating Factor (PAF) gibi inflamatuvar mediatörlerin ön maddesi olarak görev yaparlar. Membran fosfolipidlerinin hidrolizi güçlü bir inflamatuvar ajan olan PAF yapımındaki ilk basamaktır. Bu yüzden, teorik olarak PAF aktivitesinin inhibisyonunun etkin bir yaklaşım olması beklenir. Buna yönelik çok miktarda ilaç geliştirilmiş ancak inflamatuvar metabolitlerinin üretimine selektif ve PAF' nin yararlı etkilerini inhibe etmeyecek bir inhibitörün geliştirilmesinin çok zor olduğu şu ana kadar ispatlanmıştır (181).

Yapılan bir çalışmada, İbuprofen ve Meklofenamat kedilerde MS yaralanmasından sonra MS kan akımını muhafaza etmişlerdir (118). Bu çalışmada bir tromboksan inhibitörünün bir prostasiklin analoguyla kombinasyonu birbirine benzer şekilde etkin bulunmuştur.

Sıçan MS'sinde kontüzyon hasarından sonra COX-2 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. COX-2 izoformunun spesifik farmakolojik inhibisyonunun orta dereceli hasarda fonksiyonel sonucu iyileştirdiği gösterilmiştir (182,183).

İndometazin hasarlı MS'de eikosanoidlerin serbestleşmesini azaltır. Ancak nöroprotektif etkisi için uygulanması gereken dozun toksik olduğu bildirilmiştir (184).

II.A.6.a.(7). Antikoagülan Ajanlar

Tromboemboli MS hasarı olan hastaların mortalite ve morbiditesinin önemli bir nedenidir (4,185). Tromboembolinin MS hasarı sonrası tam motor paralizi olan hastaların %70 ila %100'ü arasında meydana geldiği bildirilmiştir (186).

Bir serin proteazı olan Aktif Protein C (APC) önemli bir fizyolojik antikoagülandır (4,175). APC, faktör Va ve VIIIa'yı inaktive ederek pıhtılaşma sistemini düzenler. Ayrıca APC monositlerden TNF- α üretimini baskılayarak inflamatuvar sürecin düzenlenmesine de katılır. TNF- α nötrofillerin kuvvetli bir aktivatörü olduğuna göre yine APC'nin nötrofil aktivasyonu inhibisyonu yoluyla travma nedenli MS'in sekonder hasarını engellemesi mümkündür (187).

İlioprost tedavisinin lökosit aktivasyonu üzerindeki inhibitör etkisinden dolayı MS hasarını azalttığı ve bu inhibisyonu kısmen TNF- α üretiminin inhibisyonu ile gerçekleştirdiği öne sürülmüştür (4,188,189).

Sentetik bir proteaz inhibitörü olan Gabexate Mesilate pıhtılaşma kaskadı ve inflamatuvar süreç sırasında ortaya çıkan çeşitli serin proteazlarını inhibe eder. Gabexate Mesilate posttravmatik MS hasarını daha çok aktif lökosit nedenli doku hasarında önemli bir rol oynayan TNF- α üretimini baskılamasıyla önlediği düşünülmektedir (4,190).

II.A.6.a.(8). Nörotransmitter Reseptör Agonistleri

Spinal aksonlar, GABA, Norepinefrin ve Serotonin gibi nörotransmitter reseptörlere sahiptir. 5-HT reseptör agonisti Quipazine, çeşitli adrenerjik agonistler ve GABA antagonistleri gibi çeşitli sentetik reseptör agonistlerinin spinal aksonlar üzerinde kuvvetli eksitator etkileri vardır. Bunların deneysel MS hasarı modellerinde nöroprotektif olduğu bildirilmiştir (191).

II.A.6.a.(9). Nörotropik Faktörler

Nörotropik faktörlerin nöronların yaşam süresini uzattıkları ve nekrotik alanları azalttıkları bildirilmiştir. NT3, MS yaralanmalarından günler veya haftalar sonra hasarlanmış aksonlarda görülen atrofi ve retrograd hücre ölümlerinin önlenmesi amacıyla verilmiştir (192,193).

II.A.6.a.(10). Fetal Doku Transplantasyonu

Fetal MS dokusu transplantasyonu da aksotomize nöronlara uygun ortam yaratabilir. Nörotropik faktörler ve fetal transplantasyonun tedavide birlikte kullanılmasının ciddi hücre atrofisini önlemede çok etkili olduğu belirtilmiştir. Astrosit ve Schwann hücreleri gibi destekleyici dokuların kültürde üretildikten sonra hasarlı omurilik uçlarında rejenerasyonu başlattıkları gösterilmiştir. Çeşitli araştırmalarda transplante edilmiş oligodendroglial hücrelerin de omurilikte miyelinizasyonu başlattıkları bildirilmiştir (194).

II.A.6.a.(11). Nötralizan Antikorlar

Nötralizan antikor IN-1 MSS miyelinlerinde üretilen inhibitör proteinlerden en büyük olan NI-250 adlı proteinin etkilerini bloke ettiği bildirilmiştir. MS yaralanmalarında bu antikor infüzyonunun bazı aksonlarda rejenerasyona ve dallanmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Oligodendrositlerden elde edilen Myelin-Associated Glycoprotein (MAG) de nötralizan antikor olarak etkili bulunmuştur (60).

II.A.6.a.(12). Hiperbarik Oksijen

Akut MS yaralanması durumlarında hiperbarik oksijen tedavisinin kullanımı ile ilgili çok sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalar hiperbarik oksijen tedavisi bölümünde anlatılacaktır.

II.A.6.a.(13). Sistemik Hipotermi

Hipoterminin MS kan akımını önemli oranda azalttığı ve perfüzyonu etkilediği bilinmektedir. Ancak MS yaralanmasından sonraki histopatolojik hasara karşı koruyucu etkisi ve lökomotor fonksiyonları düzeltici etkisi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Etki mekanizması konusunda çeşitli görüşler vardır. Oksijen serbest radikallerini azalttığı, eksitatör aminoasit nörotransmitter Glutamat'ın serbestleşmesini baskıladığı, hücre içi kalsiyum birikmesini azalttığı, inflamatuvar cevapları engellediği, PNL birikmesini önemli oranda azalttığı bildirilmiştir (195).

II.A.6.a.(14). Minosiklin

Tetrasiklin grubundan bir antibiyotik olan Minosiklin'in eksitotoksisiteyi inhibe ettiği ve muhtemelen mikrogial aktivasyonun inhibisyonuyla nöroprotektif etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Kontüzyona bağlı MS yaralanmasının hayvan

modellerinde günümüzde araştırılmakta olan bu ajan elde edilen ilk sonuçlara göre hasar bölgesindeki doku hasarını ve apoptotik hücre ölümünü ümit vaat edici biçimde azaltmakta ve lökomotor fonksiyonları iyileştirdiği izlenimi vermektedir (60).

II.A.6.a.(15). İmmüsupresanlar

Siklosporin ve FK506 (veya tacrolimus) periferik sinir hasarı durumlarında bazı faydalı etkileri gösterilmiş olan immüsupresanlardır. Siklosporin apoptozisi engellemek için mitokondriyal membrana etki ettiği ve beyin ve omurilik yaralanma modellerinde dokunun canlı kalmasını sağladığı ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Sıçanlarda MS yaralanması sonrası uygulanan Siklosporin-A'nın cNOS aktivitesiyle birlikte nöronal ve endotelial NOS salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (196). FK506'nın ise deneysel MS yaralanmasından sonra fonksiyonel iyileşmeye neden olduğu ve santral sinir sistemi içerisinde aksonal yenilenmeyi arttırdığı gösterilmiştir (197).

II.A.6.a.(16). Eritropoetin

Eritropoetin'in deneysel beyin hasarında gösterilmiş olan nöroprotektif etkisine ilave olarak anti-inflamatuar, anti-oksidan ve anti-apoptotik özelliklerinin olduğu düşünülmektedir. Bu ajanın aynı zamanda MS yaralanmasının tavşanlardaki bir global iskemik modelinde motor nöron apoptozisini engellediği ve nörolojik fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (198,199).

II.A.6.b. MS Yaralanmasının Medikal Tedavisine Yönelik Klinik Çalışmalar

MS hasarı ile ilgili tamamlanmış 11 klinik ilaç çalışması mevcuttur. Bunların 9'unda steroid kullanılmıştır: NASCIS I (National Acute Spinal Cord Spinal Injury Study-1) (200), NASCIS II (53,54), NASCIS III (201), Kiwerski (202), Otani (203), Prendergast (204), George (205), Poynton (206), Pointillart (207). Diğer ikisi ise gangliozid kullanılan Maryland (GM-1) (208) ve Sygen (GM-1) (209) çalışmalarıdır.

Metilprednizolonun bugünkü yaygın kullanımı büyük çapta NASCIS) I, II ve III olarak bildirilmiş olan geniş ölçekli, prospektif randomize çift kör çok merkezli üç klinik çalışmadan kaynaklanmaktadır (4) (Tablo 12).

Her ne kadar NASCIS II ve III, Kuzey Amerika'da metilprednizolonun akut omurilik yaralanmalarında standart uygulamasının yerleşmesine yol açmış olsa da son zamanlarda bu çalışmaların yorum ve sonuçlarına yönelik olarak eleştiriler yöneltilmektedir. Bu durum bazı merkezlerin uygulamadan vazgeçmesine yol açmıştır. Birçok araştırmacı NASCIS II ve III çalışmalarının derinlemesine analizlerini yayınlamışlardır (4,210-213).

NASCIS çalışmaların geçerliliği ile ilgili primer soru NASCIS II çalışmasında (sonradan yapılan NASCIS III çalışması bu çalışmayı temel almaktadır) motor ve duyuşal iyileşmenin primer sonuçlarının analizinin tüm randomize edilmiş hastalarda gerçekte negatif çıkmış olduğu halde sadece bir post hoc analizinden (cut off değeri 8 saat tespit edilmiştir) sonra istatistiksel olarak küçük olmasına rağmen anlamlı bir faydanın bulunduğu gerçeğidir. Benzer biçimde NASCIS III'teki primer sonuçlar da negatiftir. Ancak bir post hoc analiziyle tedavileri 3 saat sonra başlananlarda 48-saatlik metilprednizolon uygulamasının daha faydalı olduğu gösterilmiştir. Yine metilprednizolonun yaygın kullanımına karşın NASCIS II ve III'te pediatrik omurilik yaralanmaları, penetran omurilik yaralanmaları, cauda equina hasarları çalışmaya dahil edilmemişlerdir. Bu durumlarda NASCIS sonuçlarının uygulanabilirliği doğrulanmamıştır.

**Tablo 12: Ulusal Akut MS Hasarı Çalışmalarında (NASCIS) Metilprednizolon
Klinik Denemelerinin Özeti (4)**

NASCIS I (200)

330 hasta, omurilik yaralanmasından sonraki ilk 48 saat içinde randomize edilerek tedavileri verilmiştir.

Tedavi kolları:

1. Metilprednizolon: 100-mg bolus, daha sonra 10 gün boyunca her 6 saatte bir 25-mg
2. Metilprednizolon: 1000-mg bolus, sonra 10 gün boyunca her 6 saatte bir 250-mg

Bulgular:

- Nörolojik iyileşme açısından iki grup arasında altı aylık takipte anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

NASCIS II:

487 hasta, omurilik yaralanmasından sonraki ilk 12 saat içinde randomize edilerek tedavileri verilmiştir.

Tedavi kolları:

1. Metilprednizolon: 30-mg/kg bolus, sonra 5,4 mg/kg/saat x 23 saat
2. Naloksan: 5.4-mg/kg bolus, sonra 4.5-mg/kg/saat x 23 saat
3. Plasebo

Bulgular:

- Hasardan sonraki 6. ve 12. aylarda üç grup arasında nörolojik iyileşme açısından anlamlı bir değişiklik yok
 - Metilprednizolonu ilk 8 saat içinde alan hastalarda hasardan sonraki 6. ve 12. aylarda anlamlı biçimde motor ve duysal iyileşme gözlenmiştir.
 - Naloksanın etkili olduğu gösterilmemiştir. Ancak kısmi lezyonları olan hastalarda daha sonradan Naloksanın anlamlı nörolojik iyileşme sağladığı bildirilmiştir.
-

NASCIS III (201)

499 hasta, omurilik yaralanmasından sonraki ilk 8 saat içinde randomize edilerek tedavileri verilmiştir.

Tedavi kolları:

1. Metilprednizolon: 30-mg/kg bolus, sonra 5,4 mg/kg/saat x 23 saat
2. Metilprednizolon: 30-mg/kg bolus, sonra 5,4 mg/kg/saat x 47 saat
3. Tirizalad mesylate: 48 saat boyunca her 6 saatte bir 2.5 mg/kg

Bulgular:

- Travmadan 6 ve 12 ay sonra üç grup arasında nörolojik iyileşme açısından anlamlı bir fark yoktur.
- Eğer tedavi 3 ila 8 saat arasında başlanmışsa 48 saat boyunca metilprednizolon verilen hastaların takiplerinde iyileşmeleri aynı alt gruptaki 24 saat boyunca metilprednizolon verilen hastaların travma sonrası takiplerine göre daha iyiydi (6. ayda $p=0.01$; 12. ayda $p=0.53$). Tirizaladla nörolojik iyileşme 24 saat metilprednizolonla gözlenenin aynısıydı.

. Ayrıca NASCIS kayıtlarında metilprednizolon uygulamasının masum olmadığına vurgulandığının farkına varılmalıdır. Özellikle NASCIS III'ün 48-saatlik rejiminde olmak üzere yara enfeksiyonu oranları, pulmoner emboli, şiddetli pnömoni, sepsis ve hatta respiratuar komplikasyonlara sekonder ölümlerin steroid kullanımıyla birlikte arttığı bildirilmektedir. İstenmeyen yan etkiler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir değere ulaşılmamıştır. Ancak her iki çalışmada da bu yan etkileri yeterli şekilde değerlendirebilecek biçimde çalışılmamıştır (Tablo 13).

Tablo 13: NASCIS Çalışmalarına Karşı Yöneltilen Temel Eleştiriler (4)

NASCIS I’de plasebo grubu dahil edilmemiştir.
NASCIS II’de birincil olarak hasardan sonraki ilk 12 saat içinde randomize edilerek tedavileri verilmiş hastaların 6. ve 12. aydaki motor ve duyuşsal iyileşmeleri değerdendirilmiş ve sonuçlar negatif çıkmıştır.
NASCIS II’de metilprednizolon için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık sonradan yapılan bir post hoc analiziyle sadece hasardan sonraki ilk 8 saat içinde ve daha sonra ilaç alan hastalar arasında çıkmıştır.
NASCIS III çalışmasının birincil olarak hasardan sonraki ilk 8 saat içinde randomize edilerek tedavileri verilmiş hastaların 6. ve 12. aydaki motor ve duyuşsal iyileşmelerindeki son durumları ölçülmüştür. NASCIS II’ye benzer şekilde bunlar da negatif olarak çıkmıştır.
NASCIS III çalışmasında metilprednizolon dozunun uzatılmasıyla elde edilen istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye ancak hasardan sonra 3 ila 8 saat arasında tedavi alan hastaların bir post hoc analiziyle değerdendirilmesi sonucunda erişilmiştir.
Hem NASCIS II hem de III’de çok yönlü karşılaştırmalar için ayarlama yapmadan birçok istatistiksel karşılaştırma yapılmıştır.
Hem NASCIS II hem de III’de pulmoner emboli, yara yeri enfeksiyonu, şiddetli pnömoni, sepsis ve solunuma bağılı ölümler gibi yan etkilerin metilprednizolonla insidanslarının arttığı bildirilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı değildir ve hiçbir çalışma böyle farklılıkları değerdendirebilmek için güçlendirilmemiştir.
NASCIS III de çalışmaya plasebo grubu (etik olmayacağı düşünülerek) dahil edilmemiştir.

Metilprednizolon dışındaki diğer nöroprotektif ajanların daha önceden yürütölmüş klinik çalışmaları tablo 14 de özetlenmiştir.

Tablo 14: Metilprednizolon Dışındaki Diğer Nöroprotektif Ajanların Daha Önceden Yürütülmüş Klinik Çalışmalarının Özeti (4)

GM1 gangliozyd

- *Geisler ve arkadaşları (46)*

Prospektif, randomize bir klinik denemede toplam 37 hastaya omurilik yaralanmasından sonraki ilk 72 saat içinde ya GM1 Gangliozyd ya da plasebo verildi. GM1 Gangliozyd tedavisiyle hasardan bir sene sonra belirgin nörolojik iyileşme görüldü.

- *Geisler ve arkadaşları (209)*

Prospektif randomize bir klinik denemede 760 hastaya yüksek doz GM1 Gangliozyd, düşük doz GM1 Gangliozyd veya plasebo hasardan sonraki ilk 72 saat içinde verildi (NASCIS II protokolüne göre metilprednizolon verildikten sonra) GM1 Gangliozyd tedavisi plasebo ile karşılaştırıldığında hasardan 26 hafta sonra fonksiyonel belirgin iyileşme görülen hastaların oranını değiştirmede. GM1 Gangliozyd ile birlikte çok daha hızlı iyileşme ve motor, duyuşal ve bağırsak/mesane fonksiyonları hususunda daha fazla nörolojik iyileşme eğilimi görüldü.

Opiyat antagonistleri: Naloksan (NASCIS II’de değerlendirilmiştir)

- *Bracken ve arkadaşları (53,54), Bracken ve Holford (214)*

Her ne kadar NASCIS II’nin 6 ay ve bir senelik ilk sonuçlarında naloksan için faydalı bir etki bildirilmemişse de, 1993 yılında bildirilen post hoc analizinde naloksanla kısmi MS hasarlarında nörolojik iyileşme sağlandığı gösterilmiştir.

Antioksidanlar: Tirizalad Mesylate (NASCIS III’de değerlendirilmiştir)

- *Bracken ve arkadaşları (201)*

Tirizaladla tedavi edilen hastalar ile 24 saat metilprednizolonla tedavi edilen hastalarda görülen nörolojik iyileşme eşittir. Glukokortikoid etkinin olmamasına bağlı olarak şiddetli sepsis ve pnömoni Tirizaladla daha az görüldü.

Kalsiyum kanal antagonistleri: Nimodipin

- *Pointillart ve arkadaşları (207)*

Prospektif randomize bir çalışmada toplam 106 hasta travmadan sonraki ilk 8 saat içinde randomize edilerek Metilprednizolon, Nimodipin, Metilprednizolon ve Nimodipin kombinasyonu veya plasebo verilmiştir. Nimodipinle belirgin bir nörolojik iyileşme görülmemiştir.

NMDA antagonistleri: Gacyclidine

Toplam 280 hasta üzerinde prospektif, randomize bir çalışma sonucunda Gacyclidine’in herhangi bir fayda sağlamadığı bildirilmiştir (yayınlanmamıştır).

II.B. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ

Hiperbarik oksijen tedavisi Undersea and Hyperbaric Medical Society (UHMS) tarafından, hastaların basınç odasında deniz seviyesinden (1 ATA = 1 Bar = 760 mmHg) daha yüksek bir basınçta tutularak aralıklı olarak % 100 oksijen soluması şeklinde uygulanan bir tedavi yöntemi olarak tanımlanmıştır (215).

HBOT invaziv olmayan, medikal bir tedavi yöntemidir. Hastalar tümüyle tek kişilik veya çok kişilik bir basınç odası içerisine alınarak uygulanmaktadır. Tedavi basıncı, süresi, sıklığı ise hastaya ve hastalığa göre değişir. Genelde uygulanan tedavi derinliği 2-3 atmosfer aralığındadır. Daha derin basınçların avantajı olmadığı gibi oksijen toksisitesi riski de vardır. 1 atmosferde % 100 oksijen solunumu veya topikal oksijen uygulaması hiperbarik oksijen olarak kabul edilmez (216).

II.B.1. Tarihçe

İlk hiperbarik sistem olarak 1662’de Henshaw tarafından “*domicilium*” kurulmuş ve yüksek basınçta akut hastalıklar, alçak basınçta ise kronik hastalıklar tedavi edilmeye çalışılmıştır. Priestly 1775’te oksijenin tedavi edici özelliğini bildirmiş, 1789’da Lavoisier ve Seguin oksijenin toksik etkilerine işaret ederek, hiperbarik oksijen tedavisine karşı çıkmışlardır. Oksijenin tıbbi kullanımına ilişkin ilk kitap ise 1796’da Beddocs ve Watt tarafından yazılmıştır (217).

1830’lu yıllarda Junot ve arkadaşları hiperbarik basınç odası kurarak yüksek basınçta bazı hastalıkları tedavi etmişlerdir. 1841’de Triger, Caisson işçilerinde basınç değişikliklerine bağlı bazı patolojiler tanımlamıştır. Paul Bert ve arkadaşları 1873’te basınçlı hava ve oksijen tedavisinin prensiplerini açıklamışlardır. Ayrıca yüksek basınç altında solunan oksijenin özellikle santral sinir sistemi ve pulmoner sistem üzerine toksik etkisi olduğunu göstermişlerdir. 1879’da Fontain mobil basınç odası geliştirmiş ve bazı cerrahi girişimler gerçekleştirmiştir (217).

Cunningham 1927’de dolaşım bozukluklarının deniz seviyesinde iyileştiği ve yüksek rakımlarda kötüleştiğini yayınlamıştır. Tedavi ettiği hastalardan birisi iyileşince Cunningham’a hiperbarik tıp tarihinde “elik kre hastane” olarak bilinen basınç odasını inşa etmiş, ancak Cunningham kullanımının faydalı etkilerini kanıtlayamadığı için bu hastane kapatılmıştır.

Erken dönemde basınç odalarında oksijen toksisitesi hakkındaki önceden yayınlanmış makalelerden dolayı oksijenden ziyade basınçlı hava kullanılmaktaydı. Drger dekompresyon hastalığında basınçlı oksijen kullanılmasını ilk defa keşfetmiş ve 1930’ların sonlarına doğru Behnke ve Shaw onun protokollerini pratiğe geçirmişlerdir (217).

HBOT’nin tıpta ilk kullanımı, 1937’de Behnke ve Shaw’ın dekompresyon hastalarını HBOT ile tedavi etmeleriyle başlamış, bunu 1938’de Brezilya’da Ozario de Almeida ile Costa’nın lepra tedavisi için HBO kullanmaları, End Long’un 1942’de, Amerika Birleşik Devletleri’nde hayvanlarda oluşturulan karbonmonoksit zehirlenmesini HBOT ile tedavi etmeleri izlemiştir.

1955 yılında Churchill-Davidson ve arkadaşları radyoterapi gören kanser hastalarında hiperbarik oksijen kullanmıştır. Aynı yıl Hollanda’da Amsterdam niversitesi’nden Prof. I. Boerema, hayvan deneylerinden alınan olumlu sonuçların rehberliğinde, açık kalp cerrahisindeki sirkulatuar arest sırasında hasta toleransını arttırmak için HBOT’dan yararlanmış ve olumlu sonuçlarını 1956’da yayınlamıştır. Boerema 1960’ta domuzlarda yaptığı deneysel çalışmalarda ise HBOT kullanarak kan olmasa da canlılığın korunabileceğini göstermiştir. Bu çalışmaların sonucunda Amsterdam’da içinde tam teşekküllü bir ameliyathane bulunan büyük bir basınç odası kurulmuştur. Yine aynı niversiteden W. H. Brummelkamp ise hiperbarik HBOT’nin anaerobik infeksiyonları inhibe ettiğini, Clostridial myonecrosisteki sonuçları ve HBOT ile tedavi ettiği gazlı gangren olgularını 1961 yılında yayınlamıştır. Bu arada İskoçya’dan G. Smith ve G. R. Sharp bir karbonmonoksit zehirlenmesi olgusunu HBOT ile tedavi eden ilk hekimler olarak 1960’da tarihe geçmişler, 2 atmosfer basınçta uyguladıkları bu tedaviyi 1962’de bildirmişlerdir (218).

HBOT'nin farklı hastalıklardaki yararı 1960'tan başlayarak peş peşe yayınlanmıştır; anaerobik infeksiyonlar, hemoraji, hipoksi, CO zehirlenmesini ekstremitelerinin oklüzyonu, osteomyelit, inme izlemiştir. HBOT ne yazık ki sağlam kanıtlara dayanmadan demans, amfizem ve artrit gibi hastalıklarda da kullanılmıştır. Bu konuyla uğraşan akademisyen ve klinisyenler ilk olarak 1963 yılında Amsterdam'da bir araya gelmişlerdir. Bilimsel süreçlere ve kontrole ilgi olmayışı UHMS'yi 1970'lerin sonunda Hiperbarik Oksijen Tedavisi Komitesi'ni kurmaya itmiştir. Günümüzde bu komite hiperbarik oksijen tedavisi konusunda uluslararası bir otoritedir. Halen bilimsel toplantılar ve kongreler ile yeni gelişmeler, yeni endikasyonlar ve klinik deneyimler konuşulup tartışılmaktadır (218).

II.B.2. Hiperbarik Oksijenin Fiziksel Temelleri

Oksijen dünyadaki en yaygın ve canlıların yapısındaki en önemli elementlerden birisidir. Oksijenin taşınma şeklini ve onun karakterlerini belirleyen temel fizik kanunlarının kısaca tanımlanması konuyu daha kolay anlaşılır hale getirecektir (219).

II.B.2.a. Dalton Yasası

Dalton yasası bir gaz karışımındaki gazın total volümünün oranına bağlı olarak kendi basınçlarını uyguladığını ifade eder.

Gazın parsiyel basıncı = Toplam basınç x Gazın Total Volüme Oranı

Gazların su ve vücut sıvılarında uyguladığı basınçlar, gaz halinde iken uyguladığı basınçlardan çok farklıdır. Sıvı içindeki bir gazın konsantrasyonunu sadece basınç değil aynı zamanda gazın çözünübilirlik katsayısı belirler (219,220).

Gaz karışımının hava olduğu bir alveolde, 1 ATA' da %79 nitrojen ve %21 oksijenden oluşan bu karışımın total basıncı 760 mmHg' dır. Dalton kanununa göre bu 760 mmHg'lik basıncın %21' i ise oksijene aittir.

II.B.2.b. Henry Kanunu

Çözünmüş bir gazın konsantrasyonu = Basınç x Çözünübilirlik katsayısı

Farklı sıvılar için çözünübilirlik katsayısı değişiktir. Bu katsayı sıcaklıkla ters orantılı olarak değişmektedir. 1 birim suda 1 atm basınçta vücut sıcaklığında önemli solunum gazlarının çözünübilirlik katsayıları aşağıdadır:

O₂ : 0.024

CO₂ : 0.5

Nitrojen: 0.067

HBOT tanımdan da anlaşılacağı üzere hastalara deniz seviyesinde bulunan basınçtan (1 atm) daha yüksek basınçlarda oksijen uygulayarak gerçekleştirilmektedir (hiperbarik oksijenizasyon). Doğru basınç ölçümü sadece civalı manometre ile yapılır. Kapalı bir ortamdaki basınç ile onu çevreleyen atmosfer basıncı arasındaki farkın ölçümüne aletsel basınç, ya da geyç basıncı denir. Bir manometre tarafından kapalı bir ortamda ölçülen basıncı, mutlak (gerçek) basınca (ATA=Atmosfer Absolute) çevirmek için normal barometrik basıncın (atmosferik basınç) ölçülen basınca eklenmesi gerekir (220). Henry kanunu, HBOT'nin dekompresyon hastalığı da dahil olmak üzere pek çok hastalığın tedavisindeki fiziksel etkilerini açıkladığı gibi, dekompresyon hastalığının oluşum mekanizmasını da açıklar (219).

II.B.2.c. Boyle Kanunu

Sabit sıcaklık altında gazların hacmi ve basıncı ters orantılıdır. Bu nedenle hiperbarik oksijen tedavisi uygulandığında vücuttaki gaz içeren boşluklarda hacim değişiklikleri olur (219,220).

II.B.2.d. Dansite

Barometrik basınç yükseldikçe solunan gazın yoğunluğunda bir yükselme olur. Genellikle hiperbarik oksijen tedavisinde kullanılan 2-2.5 ATA'da artmış dansitenin istirahat halindeki solunuma etkisi önemsizdir. Bununla birlikte solunum rezervleri azalmış veya respiratuar obstrüksiyonu olan hastalarda (ki bu hastalar eforlu solunum yaparlar) artmış dansite, gaz akış problemleri yaratabilir (219,220).

II.B.2.e. Sıcaklık

Charles kanuna göre gazların hacmi sabitse total basınç ve sıcaklık arasında doğru orantı vardır (87).

Solunum sürecinde, alveol havasının atmosfer havasıyla değişimini (pulmoner ventilasyon) takip eden süreç, oksijenin alveollerden kana; karbondioksitin de zıt yönde pulmoner kandan alveole difüzyonudur (221). Gazların diffüzyonu vücut sıvı ve dokularında erimiş olan gazlar için de geçerlidir. Bu hareketin enerji kaynağı ise moleküllerin kinetik enerjisidir. Solunum yolları ve alveollerin yüzeyindeki gazların total basıncı; gaz moleküllerinin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

II.B.3. Hiperbarik Oksijenin Fizyolojisi ve Etki Mekanizmaları

Hiperbarik oksijenin klinikte uygulanması ile insan vücudu üzerinde mekanik etki veya direkt basıncın etkisi ile vücuttaki tüm dokularda, kanda ve hücrelerde artmış parsiyel oksijen basıncının etkisi olmak üzere iki temel etkisi söz konusudur (84).

II.B.3.a. Basıncın Direkt Etkisi

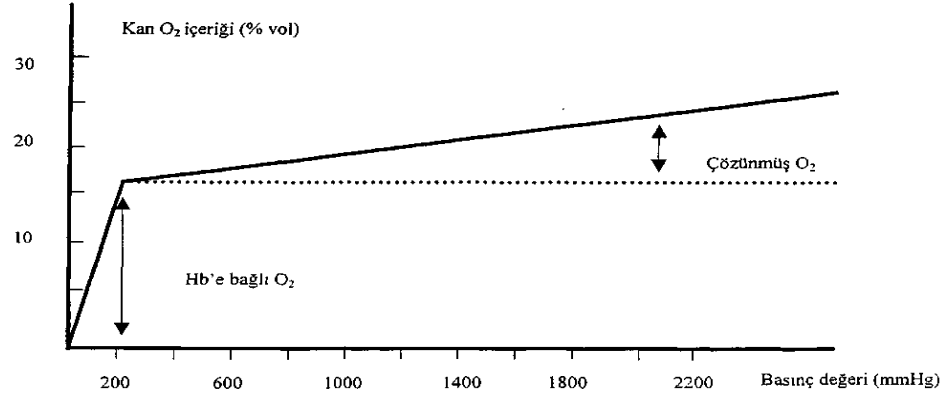
Temel gaz yasalarından olan Boyle-Mariotte Yasası'na göre, sabit sıcaklık altında, gazların basınçları ve hacimleri arasında ters bir orantı vardır. Basıncın artışıyla, dolaşımdaki ve dokulardaki gazların hacimleri ve gaz kabarcıklarının çapları küçülür. Kabarcıkların yüzey gerilimleri hacimleriyle ters orantılıdır. Dolayısıyla bir yere kadar küçülen kabarcık kollabe olur ve vücuttan elimine olması kolaylaşır. Bu etkidен dekompresyon hastalığı ve gaz embolisinde yararlanılır (222,223).

II.B.3.b. Artmış Oksijen Parsiyel Basıncının Etkisi

Hiperbarik ortamda % 100 oksijen solunduğunda Henry Gaz Kanunu gereğince plazmada çözünmüş olan oksijen miktarı artar (224).

Normalde 1 gram hemoglobin, 1.34 ml oksijeni bağlayabilir. Normalde 100 ml kanda ortalama 15 gram hemoglobin bulunur. Hemoglobin % 100 satüre olduğunda 100 ml kanda 20.1 ml (1,34 X 15) hemoglobine bağlı oksijen bulunur. Atmosfer basıncında hava solunduğunda % 97-98 satüre olan hemoglobini, % 100 oksijen solunduğunda % 100'den daha fazla satüre etmek mümkün olamayacağından kanda taşınan oksijen miktarı da artmayacaktır (225).

Normal şartlar altında oksijenin çok az bir kısmı kanda çözünür. Fakat hiperbarik şartlarda oksijen solularak vücudun rutin gereksinimlerini tek başına karşılayabilecek kadar oksijenin plazmada çözünmesini sağlamak mümkündür. Plazmada çözünmüş oksijen hücreler tarafından doğrudan kullanılabilir (225). O₂ miktarı ile PO₂ arasındaki ilişki Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17: PO₂ ile Kanın O₂ 'i Arasındaki İlişki (219).

Hiperbarik oksijen venöz kandaki oksijen saturasyonunu %100'e çıkardığında kandaki çözülmüş olan karbondioksit konsantrasyonu da artacaktır. Çünkü karbondioksit hemoglobine bağlanamayacak, karbonik asit ve bikarbonat halinde ve plazmada çözülmüş olarak taşınacaktır. Venöz hemoglobin, oksijen ile %100 doyduğunda serebral venlerdeki parsiyel karbondioksit basıncında 5-6 mmHg'lık bir artış olur. Karbondioksit kan akışı sabit kaldığı sürece kanda ve dokularda daha fazla artmaz ve hiçbir majör problem çıkarmaz.

II.B.3.c. Hiperbarik Oksijenin Etki Mekanizmaları

II.B.3.c.(1). Antihipoksik Etki

HBOT uygulaması sırasında plazmada çözünen oksijen, eritrositlerin geçemediği bölgelere, dokuların metabolik gereksinimini karşılayabilecek düzeyde ulaşarak, hipoksi nedeniyle bozulan fonksiyonların iyileşmesine yardımcı olur. Bu etki HBOT'nin antihipoksik etkisidir. Hiperoksinin ise uygulamayı izleyen 20-240 dakika boyunca devam ettiği ileri sürülmektedir (223).

II.B.3.c.(2). Antiödem Etki

Hiperbarik ortam, miyokard hücreleri üzerine doğrudan etki ederek, uyarılabilirlik düzeyini azaltır. Böylelikle kardiyak Output'ta % 10-20 oranında bir düşmeye neden olur. Bununla beraber hiperoksinin vazokonstriktif etkisinden dolayı, dokulara giden kan miktarı azalır, ancak plazmada artmış olan çözünmüş oksijenin parsiyel basıncı nedeniyle perfüzyon azaldığı halde dokulara yüksek düzeyde oksijen sağlanmış olur. Bu arada vazokonstriksiyon ve kan akımının azalması sonucunda ödem yaklaşık olarak % 20 oranında azalır. Ayrıca, hipoksiye bağlı doku ödeminde, hipoksi kaynaklı kapiller permeabilite artışının HBOT ile giderilmesi de ödemin gerilemesine katkıda bulunur (84,223,225,226).

II.B.3.c.(3). Antitoksik Etkiler

Bakteriyel ekzotoksin inhibisyonu ile Klostridyal miyonekrozda, karbonmonoksit ve siyanid detoksifikasyonu ile bu iki zehirlenme türünde HBOT başarılı biçimde kullanılmaktadır. Gazlı gangrende görülen lokal ve sistemik problemlerden Klostridyumların ürettikleri ekzotoksinler sorumludur. Alfa toksin üretimi doku oksijen düzeyi 250 mmHg ya ulaştığı zaman durur. 300 mmHg'nın üzerine çıkan doku oksijen düzeyleri ise Klostridyumlar ve diğer anaeroplara üzerine bakterisid veya bakteriyostatik etkilidir. 3 ATA'da uygulanan HBOT bu oksijen düzeylerine ulaşılmasını temin eder (223,227,228).

HBO başta karbonmonoksit olmak üzere siyanid, hidrojen sülfid ve karbon tetraklorid gibi diğer bazı zehirlerle meydana gelen intoksikasyonlarda da ana veya ek tedavi olarak kullanılır (84).

II.B.3.c.(4). Antibakteriyel Etkiler

HBOT, bakteriyostatik ve bakterisid etkisini serbest oksijen radikalleri ile gösterir. Serbest oksijen radikalleri proteinlerin ve membran lipidlerinin oksidasyonuna, DNA hasarlarına, bakteriyel metabolik fonksiyonların inhibisyonuna neden olurlar. Hiperbarik oksijen tedavisi özellikle anaeroplara karşı etkilidir ve lökositlerin oksijene bağımlı antimikrobiyal işlevleri üzerinden de antibakteriyel etki gösterir (84,223).

HBOT'nin bazı antibiyotik ve antifungal ajanların etkilerinin arttırdığı gösterilmiştir (229). Ayrıca, enfekte ve nekrotik dokulardaki doku onarımı ve rejenerasyonu düzenleyerek, enfeksiyonun ilerlemesini indirekt olarak önleyebilir (230).

II.B.3.c.(5). Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Yara boşluğundaki mikroortamın hipoksik ($PO_2=0-15$ mmHg) olduğu bilinmektedir (231). HBOT, yara iyileşme sürecinde yer alan ve hücrel hipoksi nedeniyle bozulan bir dizi fonksiyonun düzene girmesini sağlar. Fibroblast proliferasyonu ile kollajen sentezi, salınım ve fibrilleşmesi için uygun ortam yaratır. Ayrıca hiperbarik oksijen tedavisi sırasında yara ve çevre doku arasındaki artmış oksijen gradyanı anjiogenezi uyarır.

Yara iyileşmesi üzerindeki yukarıda sıralanan etkileri nedeniyle HBO problem haline gelmiş iyileşemeyen yaraların sağaltımında, osteoradyonekrozda ve diğer radyasyon hasarlarında, greft ve flep sağkalımının artırılmasında kullanır (84,223).

II.B.3.d. Hiperbarik Oksijen Tedavisinde Serbest Radikallerin Roller

Hiperoksi maruziyeti ile reaktif oksijen metabolitlerinin artmasının oksijen toksisitesinde anahtar bir rol oynadığı düşünülmüştür. Bununla birlikte reaktif oksijen metabolitlerinin hücrel fonksiyonlar üzerinde faydalı etkilerinin olduğu öne sürülmektedir (226).

II.B.3.d.(1). Vazokonstriksiyon ve Ödemin Azaltılması

HBOT'nin vazokonstriksiyon ve kan akımının azalmasına bağlı olarak ödemi azalttığı bilinmektedir (232). Kan akımının azalmasına neden olan mekanizmalar tam olarak anlaşılmamış olmasına rağmen bazı çalışmalar bu olayın $O_2^{\bullet}$ ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Hem hiperoksi hem de $O_2^{\bullet}$ endotel kaynaklı gevşeme faktörü (endothelium-derived relaxing factor), dolayısıyla büyük ihtimalle $NO^{\bullet}$ 'i inaktive ettiği ileri sürülmektedir (233). Ayrıca yakın zamanda yapılmış bir başka çalışmada nitrik oksitin vazodilatör etkisinin HBOT sırasında ortadan kalktığı bulunmuştur. Burada ileri sürülen hiperbarik oksijen mekanizması $NO^{\bullet}$ 'in, $O_2^{\bullet}$ ile reaksiyona girerek kan akımını azaltmasıdır (234). Yine $O_2^{\bullet}$ 'in siklooksigenazdan bağımsız şekilde araşidonik asidin oksidasyonuna neden olduğu ve vazokonstriktör prostoglandinlerin salınımına yol açtığı ileri sürülmüştür (235). Bu çalışmalar hiperbarik oksijenin ortaya çıkardığı $O_2^{\bullet}$ aracılı vazokonstriksiyonun kan akımında azalmaya neden olarak, antiödem etkinin meydana gelmesini sağladığını önermektedir.

Terapötik sınırların ötesindeki oksijen dozlarında (yani daha yüksek basınçta ve/veya daha uzun süreli maruziyette) hiperbarik oksijene bağlı vazokonstriksiyonun kaybolduğu veya tersine döndüğü hakkında yayınlar da mevcuttur (236). Bu durum vazodilatasyonu indüklediği gösterilen hem H_2O_2 'in, hem de $ONOO^{\bullet-}$ 'in üretiminin artmasıyla, ya da ET-1 sentezinin azalması yoluyla açıklanabilir (232).

II.B.3.d.(2). Lökosit Adhezyonunun Bozulması

Birkaç çalışmada hiperbarik oksijenin lökosit adezyonunu azalttığı gösterilmiş olmasına rağmen biyokimyasal mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (237,238).

II.B.3.d.(3). Lipid Peroksidasyonunun İnhibisyonu

İskemi-reperfüzyonu takiben artmış oksijen basıncının muhtemelen reaktif oksijen metabolitlerinin artan üretimi nedeniyle lipid peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Karbonmonoksit zehirlenmesinden sonra veya iskemi-reperfüzyon hasarından önce kısa süre içerisinde başlanan hiperbarik oksijen lökosit adhezyonunun inhibisyonu aracılığıyla lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (232).

II.B.3.d.(4). Antibakteriyel Mekanizmalar

Reaktif oksijen metabolitlerinin fagositik hücrelerin antibakteriyel aktivitelerinde anahtar bir rol oynadığı çok iyi bilinmektedir. Hiperbarik oksijenin oksidatif burst için en uygun oksijen basıncını sağlayarak bazı infeksiyonlarda nötrofil fonksiyonlarını artırdığına inanılmaktadır (239). Üstelik hiperbarik oksijenin bakteri hücrelerinin bizzat içlerindeki hidrojen peroksit ve süperoksit yapılanmasını artırarak belirli anaeroplarda üzerinde antibakteriyel etkileri olmaktadır. Hiperbarik oksijen artan $O_2^{\cdot -}$ üretimiyle bazı antimikrobiyal ajanların birtakım oksidasyon redüksiyon döngülerinin aktivitesini kuvvetlendirebilir (232).

II.B.3.d.(5). Fibroblast Proliferasyonu ve Neovaskülarizasyon

Hiperbarik oksijenin flepler, yaralar, ışınlanmış dokularda ve greftlerde yeniden damar gelişimini (neovaskülarizasyon) stimüle ettiği gösterilmiştir (240). Yine yapılan çalışmalar sonucu hiperbarik oksijenin fibroblast proliferasyonunu aktive ettiği ileri sürölmüştür (241,242).

II.B.4. Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Komplikasyonları ve Kontrendikasyonları

Hiperbarik oksijen tedavisi göreceli olarak güvenli olmasına rağmen artmış basınç ve hiperoksiye bağlı bazı riskler taşır (243).

II.B.4.a. Hiperbarik Ortama Bağlı Yan Etkiler

Orta kulak barotravması HBOT sırasında en sık rastlanan yan etkidir. Tedavinin kompresyon (dalış) fazında orta kulak basıncı ile çevre basıncının eşitlenememesi sonucu gelişir. Sinüs barotravması orta kulak barotravmasında geçerli olan nedenlerle, ancak daha ender olarak görülür. Orta kulak barotravmasında nadiren de olsa timpanik membran ruptürü görölebilir. Bazen son derece nadir görölmekle birlikte iç kulak barotravması da söz konusu olabilir. Bu durum kalıcı işitme kaybı, tinnitus ve vertigo ile sonuçlanabilir. Özellikle daha önceden geçirilmiş bir akciğer hastalığı yoksa pulmoner barotravma ve pnömotoraks son derece nadirdir. Diş barotravması nadiren bir diş dolgusu ya da kaplaması altında kalan havaya bağlı olarak oluşabilir ve ağrıya neden olabilir (243-245).

Multiplace basınç odalarında bile % 2 sıklıkta klostrofobi görülmekle birlikte ender olarak sedasyon gerekir. Basınç odasında yardımcı personelin bulunuşu önleyici bir faktördür.

II.B.4.b. Oksijenin Toksik Etkileri

Oksijenin toksik etkileri parsiyel basıncına ve maruz kalınma sürecine bağlıdır. Bugünkü bilgilerimiz, oksijen toksisitesinin serbest oksijen radikalleri ile hücrel komponentler arasındaki reaksiyonlara bağlı olduğunu göstermektedir.

Bireysel farklılıklar da oksijen toksisitesinde önemlidir (246). Özellikle MSS toksisitesinde bireysel oksijen toleransı belirleyici olabilmektedir.

Aslında oksijen toksisitesi hem normobarik hem de hiperbarik ortamlarda iyi tanınmaktadır. Klinik uygulamalar açısından hiperbarik oksijenin üç sistem üzerindeki toksisitesi önemlidir. Bunlar; MSS, solunum sistemi ve vizüel değişikliklerdir (247).

II.B.4.b.(1). MSS Oksijen Zehirlenmesi (Paul Bert Etkisi)

HBOT tedavileri sırasında konfüzyon görülme oranının 1,3/10.000 olduğu bildirilmektedir (248). GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi ve İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Merkezleri'ndeki 1990 ile 2003 arasındaki uygulanan hiperbarik oksijen tedavisi seansları sırasında tutulan kayıtlar incelenmiştir. Bu çalışmada konvülsiyon görülme oranı 2,4/100.000 tedavi seansı olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmadaki nöbet insidansı literatürde yapılmış diğer çalışmalara göre düşüktür (249). Oluşum mekanizması tam olarak bilinmeyen MSS toksisitesi, kural olarak 2 ATA' nın üzerindeki parsiyel oksijen basınçlarında görülmektedir (87). Hiperbarik oksijen sırasında artan ROS membranlarda lipid peroksidasyonu, enzim inhibisyonu veya modülasyonlarına neden olarak serebral

enerji metabolizması ve elektrik aktivitesinde değişikliklere yol açmasına bağlı olduğu ileri sürülmektedir (250). Son zamanlarda, HBOT sırasında beyinde artan nitrik oksidin (NO) sorumlu olduğu da ileri sürülmektedir (251). Nadiren konvülsiyon şeklinde ve birdenbire başlamaktadır. Genelde yüzde solukluk, terleme, bradikardi, ekstrasistoller, bulantı, kusma, mimik kaslarında, özellikle perioral kaslarda seğirmeler, hıçkırık, öfori, anksiyete, davranış değişiklikleri, vizüel (göme alanında daralma) ve akustik (tinnitus) değişiklikler, vertigo, pareteziler, midriyazis, illüzyon ve halüsinasyonlar, konfüzyon ve hatta senkop gibi ön belirtilerle başlamaktadır. Bu belirtiler tek başına veya birlikte olabilir (216,226,247).

II.B.4.b.(2). Pulmoner Oksijen Zehirlenmesi (Lorrain Smith Etkisi)

Tıpkı MSS toksisitesinde olduğu gibi pulmoner hasarın oluşmasında da şiddet ve süre belirleyicidir. Pulmoner oksijen toksisitesi, parsiyel basıncı 0.5 ATA'dan daha yüksek olan oksijene uzun süre maruz kalınması sonucunda gelişmektedir. Normalde 1 atmosferde oksijen solunması yaklaşık 10 saatlik bir süre sonunda ilk trakeobronşiyal irritasyon belirtilerine sebep olmaktadır. İlk belirtiler trakeal irritasyon hissi şeklindedir. Olayın ilerleyişi ile birlikte, retrosternal ağrı, kontrol edilemeyen öksürük, dispne ortaya çıkabilir. (247,252).

II.B.4.b.(3). Oksijen Toksisitesinin Vizüel Etkileri

Vizüel fonksiyonlar açısından önemli olan, oksijenin retina üzerindeki vazokonstriktif etkisidir (253). Normobarik hiperoksinin bu olumsuz etkisine karşın, hiperbarik oksijenin retinada hipoksi yarattığına dair bilgi yoktur.

Miyopi, HBO tedavisinin en sık görülen yan etkilerinden biridir (252). Oksijen toksisitesinin vizüel manifestasyonları, oksijenin dozu ve uygulama

süresinin yanı sıra, tedaviye alınan bireyin yaşına ve bireyde duyarlılığı etkileyen faktörlerin önceden var olup olmadığına bağlı olarak değişir (253). Miyopi çok ender olarak kalıcı olabilmektedir.

HBO tedavisi ile lens metabolizmasında değişiklik olabileceği ihtimali, özellikle 50 yaş üzerindeki ve erken evre kataraktı bulunan hastalarda katarakt gelişimine karşı dikkatli olmayı gerektirir.

II.B.4.c. HBOT'nin Kontrendikasyonları

HBO için kesin Kontrendikasyonları, tedavi edilmemiş pnömotoraks, Doxorubisin, Bleomisin, Disulfiram ve Sisplatin kullanımı ve tedavi edilmemiş malignite iken göreceli kontrendikasyonları; sınırda kalp yetmezliği, gebelik, pacemaker, implantlar, üst solunum yolu enfeksiyonları, kronik sinüzit, epilepsi, yüksek ateş, spontan pnömotoraks, torasik cerrahi, otoskleroz cerrahisi, optik nörit öyküsü, viral enfeksiyonlar, konjenital sferositoz gibi durumlardır (242,243,253).

II.B.4.c.(1). HBOT ve Gebelik

Gebelik hiperbarik oksijenin fetüs üzerindeki olası zararlı etkileri nedeniyle uzun yıllar HBOT için kontrendikasyon olarak düşünülmüş, hiperbarik oksijenin retina üzerindeki etkisiyle yenidoğanda retrolental fibroplazi oluşturması ve ductus arteriosusun yüksek O₂ basıncının etkisiyle intrauterin dönemde erken kapanmasından korkulmuştur. Ancak Rusya'da çeşitli nedenlerle ve farklı gestasyon dönemlerinde HBOT uygulanan gebelerde anne ve fetüse ait hiçbir patolojinin görülmediğinin bildirilmesi ardından (254,255) karbonmonoksit zehirlenmesi,

duman inhalasyonu, gaz embolisi gibi acil tedavi gerektiren durumlarda hastanın gebe olması kontrendikasyon olmaktan çıkmıştır (242).

II.B.4.c.(2). HBOT ve Malignite

HBOT'nin tümörün oksijenlenmesini artırarak malign büyümeyi stimüle ettiğine dair bir takım endişeler vardır. Bu Feldmeier'in 1994 yılındaki yayınında veya 2003 yılındaki yeniden değerlendirme makalesinde desteklenmemektedir. Bu araştırmacı malignite hikâyesinin hiperbarik oksijen tedavisi için kontrendikasyon teşkil etmemesi gerektiği sonucuna varmıştır (256,257). Bununla beraber, hiperbarik oksijen vaskülarizasyonu arttırdığı ve serbest oksijen radikalleri oluşturduğu için, yaygın metastazı olan aktif kanserli hastalarda HBOT önerilmez (242).

II.B.5. HBOT'nin Endikasyonları

HBOT'nin klinikte uygulama alanları giderek artmaktadır. “Undersea & Hyperbaric Medical Society” (UHMS) tarafından 2003 yılında belirlenen kesinleşmiş HBOT endikasyon listesi Tablo 15’de görülmektedir.

European Committee for Hyperbaric Medicine (ECHM) tarafında 2004 yılında yayınlanan ECHM Konsensüs Raporundaki (258) HBOT indikasyonları ve bu endikasyonlara ait bilimsel kanıt düzeyleri ise Tablo 16’da görülmektedir. Günümüzde kanıta dayalı tıp ilkesine ve kanıt düzeyine göre yapılan ECHM bildirimlerinde HBOT endikasyonları “Kuvvetle önerilen”, “Önerilen”, “Opsiyonel” olmak üzere 3 ana grupta toplanmıştır. Bu üç gruptaki endikasyonlarda “kanıta dayalı tıp” kurallarına göre B ve C düzeylerinde bilimsel kanıtlar mevcuttur. 1. derece kanıtlar A, 2. derece kanıtlar B, 3. derece kanıtlar C olarak kabul edilmiştir.

Kararları daha berrak bir hale getirmek için HBOT endikasyonu olarak kabul edilmeyen durumlar da incelenmiştir. Sadece kontrolsüz çalışmalarla desteklenmiş ve üzerinde konsensüse varılmamış durumlar D, fayda sağlanacağına dair kanıt

bulunmayan ya da yanlış yorum veya metodolojinin sonuca varmayı engellediği durumlar E, HBOT kullanılmaması yönünde kanıtların bulunduğu durumlar F olarak verilmiştir

Tablo 15: UHMS Tarafından 2003 Yılında Belirlenen Kesinleşmiş HBOT Endikasyon Listesi (224)

1. Hava ve gaz embolisi
 2. Karbondioksit intoksikasyonu / Siyanür intoksikasyonu
 3. Gazlı gangren
 4. Akut travmatik iskemiler (Crush yaralanması / Kompartman sendromu)
 5. Dekompresyon hastalığı
 6. Seçilmiş problemli yaralarda yara iyileşmesine destek
 7. Aşırı kan kaybı (Anemi)
 8. İntrakranial apse
 9. Nekrotizan yumuşak doku infeksiyonları
 10. Osteomyelit (Dirençli)
 11. Geç radyasyon hasarı (Yumuşak doku ve kemik nekrozu)
 12. Tutması şüpheli greft ve flepler
 13. Termal yanıklar
-

Tablo 16: ECHM Tarafından Oluşturulan Konsensus Raporu'na Göre Hiperbarik Oksijen Tedavisi İndikasyonları ve Bilimsel Kanıt Düzeyleri (258)						
Hastalık	Onaylanan İndikasyonlar			Opsiyonel ve/veya Onaylanmayan İndikasyonlar		
	Kanıt Düzeyi			Kanıt Düzeyi		
	A	B	C	D	E	F
Tip I						
Karbonmonoksit zehirlenmesi		X				
Crush sendromu		X				
Diş çekimi öncesinde osteoradyonekroz prevansiyonu		X				
Osteoradyonekroz (mandibula)		X				
Yumuşak doku radyonekrozu (sistit)		X				
Dekompresyon hastalığı			X			
Gaz embolisi			X			
Anaerobik veya miks infeksiyonlar			X			
Tip II						
Diyabetik ayak lezyonu		X				
Riskli greft ve flepler			X			
Osteoradyonekroz (diğer kemikler)			X			
Radyoterapiye bağlı proktit/enterit			X			
Yumuşak doku radyonekrozu			X			
Radyasyon almış dokularda cerrahi veya implant öncesinde prevansiyon			X			
Ani işitme kaybı			X			
İskemik ülserler			X			
Refrakter kronik osteomyelit			X			
Nöroblastoma Evre IV			X			
Tip III						
Post anoksik ansefalopati			X			
Larinks radyonekrozu			X			
Radyasyona bağlı santral sinir sistemi lezyonları			X			
Damar girişimi sonrası reperfüzyon sendromu			X			
Ekstremité replantasyonu			X			
Yanıklar (>%20 veya >2.derece)			X			
Akut iskemik oftalmolojik olaylar			X			
İnflamasyon nedeniyle iyileşmeyen yaralar			X			
Pnömotosis sistoides intestinalis			X			
Diğer indikasyonlar						
Post sternotomi mediastiniti				X		
İnme (Stroke)				X		
Orak hücre anemisi krizi				X		
Malign otitis eksterna				X		
Akut miyokard infarktüsü				X		
Femur başı nekrozu				X		
Retinitis pigmentosa					X	
Tinnitus					X	
İnterstisyel sistit					X	
Yüz (Bell's) felci					X	
Serebral palsy						X
Multipl skleroz						X
Fetoplasental yetmezlik						X

Ülkemizde HBOT endikasyonları İstanbul Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı ve uzmanlık derneği olan Sualtı ve Hiperbarik Tıp Derneği'nin ortak çalışmaları ile UHMS ve ECHM endikasyon listeleri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Tablo 17'de görülen bu liste Sağlık bakanlığı tarafından 2001 yılında yürürlüğe konulan "Hiperbarik Oksijen Tedavisi Uygulanan Özel Sağlık Kuruluşları Hakkında Yönetmelikte de yer almaktadır (259).

Tablo 17: Türkiye’de HBOT Endikasyonları (259)

1. Dekompresyon hastalığı.
2. Hava ve gaz embolisi.
3. Karbonmonoksit, siyanid zehirlenmesi, duman inhalasyonu.
4. Gazlı gangren.
5. Yumuşak dokunun nekrotizan enfeksiyonları (deri altı, kas, fasya).
6. Crush yaralanması, kompartman sendromu, akut travmatik periferik iskemiler (donma vb.).
7. Yara iyileşmesinin geciktiği durumlar (diyabetik, arteriyel ve venöz yetmezlik yaraları)
8. Kronik refrakter osteomyelit (diffüz sklerozan osteomyelit hariç).
9. Aşırı, istisnai kan kaybı (kan transfüzyonu yapılamıyor ise).
10. Radyonekroz (kemik, barsaklar, mesane, yumuşak doku).
11. Riskli deri greft ve flepleri (operasyon öncesinde ve sonrasında).
12. Termal yanıklar (ikinci derece ve özellikle yüz, el ve ayaklardaki yanıklarda).
13. Beyin apsesi.
14. Anoksik ansefalopati.
15. Ani işitme kaybı.
16. Ani görme kaybı.
17. Kafa kemikleri, sternum ve vertebra ların akut osteomyelitleri.

II.B.6. Beyin ve MS Travmasında HBOT’nin Etkinliği

MS travmasında ortaya çıkan iskemi-reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik olarak birçok madde hayvan modellerinde incelenmiş ve bunların hepsinde de kayda değer etkiler gözlenmiştir. Ancak bu maddeler sadece iskemiden önce uygulandığında faydalı olmuşlardır. HBOT’nin iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisi MS’deki iskemi-reperfüzyon hasarı için de geçerli gibi gözükmektedir (260).

II.B.6.a. Deneysel Kanıtlar

II.B.6.a.(1). MS Hasarı

2007 yılında Kahraman ve arkadaşlarının yürüttükleri çalışmada deneysel MS hasarında metilprednizolonun ve hiperbarik oksijen tedavisinin etkileri değerlendirilmiş, hasardan sonra 5. günde elde edilen sonuçlara göre metilprednizolonla elde edilen sonuçların aksine hiperbarik oksijen tedavisiyle oksidatif MS hasarına karşı koruma sağlandığı gösterilmiştir (261). HBOT'nin vazokonstriksiyonu arttırarak vazojenik ödemi azalttığı ve kanamanın yayılmasını önlediği, omurilik yaralanmasının erken döneminde (ilk 6 saat) uygulandığında iskemiyi önleyerek akson ve miyelin hasarını azaltıp nöronal rejenerasyonu sağladığı ve nörolojik iyileşme üzerine olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir (192).

Higgins ve arkadaşları (1981) hiperbarik oksijenin MS yaralanmasını takiben nörolojik fonksiyonlar üzerindeki akut etkilerini incelemişler ve çalışmalarının sonucunda, travmatik MS hasarının erken fazında uygulanan hiperbarik oksijenin hasarlı nöronal elementlerinin korunmasına aracılık ettiği sonucunu çıkarmışlardır (262).

Erken dönemde hiperbarik oksijen uygulaması, travmatik MS hasarından bir gün sonra apoptotik hücrelerin sayısını düşürmüştür (146). Bu etkinin iNOS geninin hiperbarik oksijen ile down regülasyonuna bağlı meydana geldiği düşünülmüştür. Bir tavşan modelinde iskemiden 30 dakika sonra 60 dakika süreyle uygulanan HBOT, kayda değer sayıdaki motor nöronun geç dönemdeki ölümünü engelleyebilmiştir. Çalışmada nörolojik değerlendirmede de iyileşme gözlenmiştir. Ancak HBOT iskemiden 6 saat sonra uygulandığı zaman herhangi bir etkisi olmamıştır (263).

II.B.6.a.(2). Beyin Hasarı

Li ve arkadaşları (264) beyinde global iskemi ve hipotansiyon oluşturdıkları sıçan modelinde hipokampus bölgesinde masif hücre nekrozuyla birlikte artmış bir apoptozis olduğunu ve uygulanan hiperbarik oksijenin apoptozisi azalttığını göstermiştir.

Başka bir fokal iskemi modelinde Yin ve arkadaşları (67) erken dönemde uygulanan hiperbarik oksijenin serebral iskemik hücrelerin apoptotik DNA hasarını yok ettiğini göstermişlerdir. Bu etki ile infarkt bölgesinin daha küçük olması ve nörolojik iyileşmesi arasında bir korelasyon tespit edilmiştir.

Rosenthal bir av köpeği kardiyak arrest modelinde arrest sonrası bir saat içinde hiperbarik oksijen uygulayarak serebral nekrozda bir iyileşme olduğunu ve bunun nörolojik sonuçla iyi bir korelasyon gösterdiğini bulmuştur (265).

Niklas ve arkadaşları standardize edilmiş şiddetli soğuk travmasının indüklediği bir beyin hasarı modelinde 48 saat içinde 3 seans HBOT ile beyin nekrozu ve beyin ödemi ($p<0.05$) sahalarının küçüldüğünü ve mortalitenin düştüğünü bulmuşlardır (266). Doku içi pO_2 seans sayısı ile birlikte yükselmiştir. Bir başka deneyde beyin hasarından 4 saat sonra uygulanan tek seans hiperbarik oksijenin zarar görmüş mitokondrial REDOX potansiyelini iyileştirdiği gösterilmiştir (267).

Benzer şekilde HBOT bir hayvan modelinde motor nöron hastalığının başlamasını geciktirmiş, hem motor korteks hem de MSteki mitokondriyal fonksiyonları iyileştirmiştir (268).

Palzur ve arkadaşları (269) vakumla oluşturdıkları beyin hasarı modelinde HBOT'nin apoptotik kortikal nöronların sayısını düşürerek sekonder beyin hasarının boyutunu kayda değer biçimde azalttığını göstermişlerdir.

II.B.6.b. Klinik Kanıtlar

II.B.6.b.(1). MS Hasarı

Yardımcı Tedavi Olarak HBOT

MS hasarı tedavisi hakkında yapılmış sadece birkaç prospektif çalışma vardır. Bunlardan bir tanesinde yüksek doz metilprednizolon uygulanmasıyla iyi sonuç alındığı gösterilmiştir (53). Günümüze kadar hiperbarik oksijen tedavisini içeren herhangi bir prospektif çalışma yapılmamıştır.

Gamache (24) MS hasarı nedeniyle HBOT alan (travmadan sonraki ilk 7.5 saat içinde) 25 hastayla HBOT almayan hastaların sonuçlarını karşılaştırmıştır. Hiperbarik oksijen tedavisiyle daha kısa sürede iyileşme sağlandığı, ancak bir yılın sonunda iki grubun klinik durumları arasında bir fark görülmemiştir. Jain'in (225) alıntı yaptığı çalışmasında Sukoff 15 hastaya günde 4 ila 5 seans olmak üzere yoğun bir HBOT uygulamış, hasardan sonraki ilk 6 saat içinde tedavi alan hastaların motor fonksiyonlarında daha iyi sonuçlar elde etmiştir. Yakın zamanda Asamoto ve arkadaşları (23) kemik kırığı görülmezsizin akut hiperekstansiyona bağlı servikal MS hasarı olan hastalarda HBOT'nin etkinliğini yayınlamışlardır. HBOT alan 13 hastanın dörtte üçünde iyileşme görülürken (%75.2), HBOT almayan 21 hastanın % 65.1'inde iyileşme görülmüştür. Sonucu anlamlı bulunan bu çalışmada HBOT 2 ATA'da toplam 85 dakika (10 dakika kompresyon, 15 dakika dekompresyon süresi dahil) süren seanslarla günde bir defa olmak üzere 10 gün süreyle uygulanmıştır.

MS Hasarında HBOT Etkilerinin Prognostik Kullanımı

Hiperbarik oksijenin MS hasarında prognozu tahmin etmeye yönelik olarak kullanılması önerilmiştir. Ishihara ve arkadaşları (26) MS hasarından sonra değişik

derecelerde nörolojik ve fonksiyonel bozukluğu bulunan 22 hastaya hiperbarik oksijen tedavisi uygulamışlardır. Araştırmacılar hasardan sonraki ilk 10 gün içinde uygulanan bir seans HBOT ile elde edilen sübjektif düzelmeyi mükemmel (düzelme 24 saatten fazla sürmüştür), iyi (düzelme 24 saatte sürmüştür), zayıf (düzelme sadece basınç odası içindeyken görülmüş), veya kötü (düzelme yok) olarak sınıflamışlar ve Frankel derecelendirmeleri ve ASIA skorlarıyla karşılaştırmışlardır. HBOT'ne cevabı mükemmel olarak sınıflandırılan hastaların geç dönem sonuçlarının, kötü yanıt gösteren hastalara göre daha iyi olduğu görülmüştür. 6. yılda (2 ila 9 yıl aralığında) yapılan değerlendirmede HBOT verilen yanıtın sınıflaması, ilk baştaki ASIA veya Frankel skalalarıyla karşılaştırıldığında prognoz konusunda daha güvenilir sonuç vermiştir.

II.B.6.b.(2). Beyin Hasarı

Yardımcı Tedavi Olarak HBOT

Artu ve arkadaşları (270) kafa travması nedeniyle komadaki 60 hastada hiperbarik oksijenin etkisini incelemişlerdir. Hiperbarik oksijen birinci yılda beyin sapı lezyonları bulunan genç hasta grubu dışında, ne mortaliteyi düşürmüş, ne de klinik sonuçları iyileştirmiştir.

Rockswold (271) ve arkadaşları hiperbarik oksijenin şiddetli kapalı kafa travmasının sonuçlarına etkisini değerlendirmek için 186 hasta üzerinde randomize kontrollü klinik çalışma yürütmüşlerdir. Araştırmacılar hiperbarik oksijenle sağ kalımın arttığını ancak geç dönemdeki klinik değerlendirmede bir fark görülmediğini belirtmişlerdir. Optimal bir tedavi dozunu belirlemeye yönelik denemeler sonucunda bu araştırmacılar kısa süreli, ancak çok sayıda günlük tedavilerin HBOT'nin etkinliğini arttırabileceğini ileri sürmüşlerdir (25,272,273).

Shi ve arkadaşları (272) travma sonrası beyin hasarlı 320 hastayı kapsayan randomize kontrollü bir klinik çalışmada 2 ila 4 hiperbarik oksijen seansının

etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu araştırmacılar HBOT'nin klinik sonuçları anlamlı şekilde iyileştirdiğini, epileptik sekellerin daha iyi kontrol edilebildiğini ve daha az hidrosefalus gerçekleştiğini bulmuşlardır. Ayrıca birkaç retrospektif çalışmada da (274-276) HBOT'nin sonuçları iyileştirdiği bildirilmiştir.

Hiperbarik oksijenin MS hasarı ve beyin hasarı tedavilerinde uygulanması hakkında kanıta dayalı birkaç gözden geçirme makalesi vardır (277,278). Bunların hepsinde hiperbarik oksijenin MS hasarı ve beyin hasarının tedavisinde etkili olduğunu gösteren iyi deneysel kanıtlar olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak ne yazık ki sadece birkaç tane kalitesi düşük, farklı tedavi rejimlerini kullanan ve çelişkili sonuçlar bildiren randomize, kontrollü klinik çalışma mevcuttur (33,279).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) hayvan laboratuvarı ve Sualtı ve Hiperbarik Tıp Derneği deney basınç odası kullanılarak gerçekleştirildi. Deneysel protokol İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve onaylanmıştır. Çalışmada DETAE’de üretilmiş 60 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Kullanılan sıçanların ağırlıkları 200-260 gr. arasında değişmekte olup ortalama ağırlıkları 230 gramdır. Sıçanlar cerrahi öncesi 7 gün süreyle uyku uyanıklık siklusunda tutulmuştur. Sıçanların çalışma öncesinde biyolojik ve beslenme koşullarının eşit ve sağlıklı olmalarına özen gösterilmiştir. Sıçanların sıcaklığı kontrol edilen bir odada barınmaları sağlanmıştır (22-25°C). Su ve yiyecek *ad libitum* olarak verildi. Cerrahiden önce tüm sıçanlar muayene edilerek motor fonksiyonlarının normal olduğu tespit edilmiştir. Cerrahi işlem sırasında mikroşirurji aletleri, normal cerrahi aletler, cerrahi mikroskop (OpMi 99 Zeiss Inc., Oberkochen, Germany) kullanılmıştır. Cerrahiden sonra birbirlerini yaralamalarını engellemek amacıyla sıçanların her biri tek sıçanlık kafeslere konulmuştur. Besin ve su gereksinimleri karşılanabilmesi amacıyla sıçanlara uygun ortam yaratılmıştır. MS yaralanmasından ötürü kendi kendine beslenemeyen sıçanlara ilk üç gün sıvı ve besin almasına yardımcı olunmuştur. Sıçanlara idrar yolu enfeksiyonundan korunmak amacıyla ilk üç gün 2. kuşak sefalosporin verilerek, mesaneleri manuel olarak boşaltılmıştır. Kafeslerin tabanındaki talaş hergün değiştirildi. Ortamın ısıtlandırılması 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık olmak üzere ayarlanmıştır. Sıçanlar cerrahi girişimden sonra genel durumları ve yaranın görünümüne bakılarak takip edildi.

Çalışma üçlü kör olarak gerçekleştirilmiştir. Cerrahi işlemleri yapan araştırmacılar rasgele ayrılan 20 hayvana sadece laminektomi yapmış, geri kalan 40 sıçanate ise laminektomiden sonra MS hasarı meydana getirmiştir. Tedavileri düzenleyen araştırmacılar sadece laminektomi yapılan 20 hayvanın içinden rasgele ayrılan 10 sıçana hiperbarik oksijen tedavisi vermiş ve diğer 10 sıçana hiçbir tedavi

vermemiştir. Bu araştırmacılar MS hasarı gerçekleştirilen 40 sıçan içerisinde rasgele şekilde 10 sıçana sadece metilprednizolon tedavisi, 10 sıçana sadece hiperbarik oksijen tedavisi, 10 sıçana ise hem metilprednizolon hem de hiperbarik oksijen tedavilerini uygulamıştır. Kalan 10 sıçana ise herhangi bir medikal tedavi verilmemiştir. Böylece toplam 60 sıçan rasgele şekilde onarlı 6 eşit gruba ayrılmıştır (n=10). Herhangi bir grupta mortalite geliştiği takdirde her grupta minimum onar sıçan olması sağlanacak şekilde ilave sıçanlar gruba sokulmuştur. Gerek sıçanların fonksiyonel iyileşmelerini değerlendiren gerekse de ötenazi sonrası histopatolojik ve biyokimyasal parametreleri inceleyen araştırmacıların çalışmanın bitimine kadar bu gruplardan habersiz kalmaları sağlanmıştır.

Grup A'ya laminektomi, Grup B'ye laminektomi ve HBOT, Grup C'ye travma, Grup D'ye travma ve HBOT, Grup E'ye travma ve metilprednizolon, Grup F'ye ise travma, HBOT ve metilprednizolon uygulanmıştır. Onuncu günün sonunda sıçanlara ötenazi yapılmıştır.

III.A. ANESTEZİ

Her gruba aynı anestezi ajanları intraperitoneal olarak uygulanmıştır. 8 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer. İstanbul) ve 50 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar, Parke-Davis. Eczacıbaşı, İstanbul) ile anestezi sağlanmıştır. Cerrahi işlemler planlanan sürede bitirilmiş ve hiçbir sıçanda ek anestezi uygulanmasına gerek kalmamıştır. Tüm sıçanlar anesteziden sonraki ilk 2 saat içinde uyanmışlardır. Anestezi nedeniyle hiç sıçan kaybedilmemiştir.

III.B. LAMİNEKTOMİ

Deney hayvanlarına anestezi ajanlarının uygulanması ardından ameliyat masasına prone pozisyonunda yatırılarak el ve ayakları sabitlenip, sırt bölgeleri tıraş edilerek polyvidon iyot (Battikon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi uygulanmıştır.

İnterskapuler bölge referans alınarak T5-T12 seviyesinden orta hat insizyonu ile cilt, cilt altı dokular geçilmiştir. Paravertebral kas fasyası geçilerek kaslar laterale doğru küt diseksiyon ile ayrılmıştır. Torakal 7-10 laminaları görülecek şekilde spinöz prosesler ve laminar arkları cerrahi bir mikroskop yardımıyla çıkartılarak total laminektomi yapılmıştır. Bu işlem yapılırken sıçanların duramaterlerinin zedelenmemesine dikkat edilmiş, travma şüphesi halinde sıçan çalışma dışı bırakılmıştır. Sıçanların hiçbirinde kanama için ek girişime gerek duyulmamıştır. A ve B gruplarındaki sıçanlar laminektomiden sonra C, D, E ve F gruplarındakilere ise laminektomiden sonra MS hasarı da oluşturularak kapatma gerçekleştirilmiştir.

III.C. OMURİLİK HASARI

Rivliv ve Tator'un klip yöntemi (59) ile MS travması gerçekleştirilmiştir. Standart travma aracılığı ile 1,43 N kuvvet uygulayan FE 740 KA kodlu “Yaşargil Anevrizma Klibi” kullanılmıştır. Klip epidural olarak 60 saniye süre ile uygulandı. Kliplemeyi takiben klibin uygulandığı yerde hemoraji kontüzyon olduğu görülmüştür. Travma gruplarındaki tüm sıçanlarda parapleji oluşturulmuştur. Kliplemenin ardından MS kapatıldıktan sonra gruplara göre planlanan tedavi hemen başlanmıştır.

Sıçanlar uyandığında motor fonksiyon muayeneleri yapılmıştır. MS travması oluşturulan tüm sıçanların paraplejik olduğu, sadece laminektomi yapılan, kontrol grubundaki tüm sıçanların ise motor fonksiyonlarının tam olduğu gözlenmiştir. Sıçanlar mesane fonksiyonları, idrar çıkışı takibi ve motor fonksiyonları değerlendirilmek amacı ile her biri ayrı olacak şekilde kafeslerine koyulmuştur.

III.D. METİLPREDNİZOLON TEDAVİ PROTOKOLÜ

Metilprednizolon, E ve F gruplarındaki sıçanlara kliplemeden sonraki ilk bir saat içinde 30 mg/kg başlangıç dozu intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Daha

sonraki 23 saatte 5,4 mg/kg/saat olacak şekilde toplam doz dört eşit doza bölünerek intraperitoneal uygulanmıştır (280). E grubu birinci günden sonra ötenazinin yapılacağı onuncu günün sonuna kadar başka herhangi bir tedavi uygulamadan sadece takip edilmiş, F grubundaki sıçanlara ise ek olarak HBOT uygulanmıştır.

III.E. HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİ PROTOKOLÜ

HBOT'leri Sualtı ve Hiperbarik Tıp Derneği'ne ait 0.28 m³ hacimli, tek bölmeli deney basınç odasında gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta basınç odasının içindeki havayı dışarı atmak ve içeri % 100 oksijenle dolması için 10 dakika ventilasyon yapılmıştır. Ardından oda içi basıncı 10 dakika içinde oksijenle 2.4 ATA'ya çıkartılmıştır. Bu basınçta sıçanlara 90 dakika süreyle % 100 oksijen solutulmuştur. Tedavi oda iç basıncının 10 dakikada 2.4 ATA'dan 1 ATA'ya düşürülmesi ile sonlandırılmıştır. Böylece tek seans HBOT'nin toplam süresi 120 dakika olarak gerçekleşmiştir. HBOT'nin ilk seansı B, D ve F gruplarındaki sıçanlara cerrahi işlemden sonraki 2. ve 4. saat arasında uygulanarak günde bir seans olmak üzere 9 seansa tamamlanmıştır. Son tedavi seansından 24 saat sonra ötenazi işlemi gerçekleştirilmiştir.

III.F. FONKSİYONEL İYİLEŞMENİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Klinik motor muayenede Tarlov'un tarif ettiği skala kullanılmıştır (281). Bu skalaya göre:

Grade I: Flask paralizi

Grade II: Arka bacaklarda minimal istemli hareket mevcut.

Grade III: Ayakta durabiliyor, gövdeye aktif destek var ancak yürüyemiyor.

Grade IV: Yürüme mevcut ancak inkoordinasyon ve spastite var.

Grade V: Normal yürüyüş olarak değerlendirilmektedir.

Hayvanların açık bir alanda (0.7 m. x 0.9 m.) serbestçe hareket etmelerine imkân tanınmış ve her hayvan en az bir dakika boyunca gözlemlenmiştir. Gruplandırma açısından hiç bilgisi olmayan bir gözlemci tarafından kalça, diz ve ayak bileği hareketleri gözlemlenerek kaydedilmiştir.

III.G. SIÇANLARIN ÖTENAZİSİ

Deneyin sonunda cerrahi sonrası 10. günde HBOT verilen grupların son seanslarından 24 saat geçtikten sonra tüm sıçanların ötenazisi (282) yüksek doz intraperitoneal sodyum pentobarbital ile derin anestezi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemi seçmemizin gerekçeleri şunlardır:

- a) Fiziksel metotların deney sonucunu etkileyeceği düşünülmüştür.
- b) Bu konuda yapılan daha önceki deney modellerine sadık kalınmıştır.
- c) Bu yöntemin deney hayvanlarına en az acı vereceği düşünülmüştür.

Tüm sıçanlar pron pozisyonunda sabitlenerek daha önce kapatılmış olan cerrahi insizyon yeri tekrar açılarak hayvanların MS kordları incelenmiştir. Çevre dokuda enfeksiyon gelişen bir sıçan araştırmanın dışında tutulmuştur. Tüm sıçanların MS kordları epicenterin 0.5 cm. rostral ve 1 cm. kaudal kısmından kesilerek çıkartılmıştır. Histopatolojik inceleme için her gruptan bir sıçan rasgele alınmıştır. Alınan bu sıçanların MS kordları % 10'luk formaldehit içine konularak histopatolojik incelemelerin başlanacağı güne kadar buzdolabında +4° C'de saklanmıştır. Her gruptan dokuzar sıçan olmak üzere geriye kalan toplam 54 sıçanın çıkartılan MS örnekleri sıvı nitrojende dondurularak biyokimyasal incelemelerin yapılacağı güne kadar -80°C'de saklanmıştır.

III.H. HISTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik incelemeler İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda her grup aynı gün ve aynı koşullarda olmak üzere yapıldı.

Her gruptan rasgele alınan 1 sıçanın MS'inin hasar odağının 0.5 cm distal ve 1 cm. proksimal kısmını kapsayacak biçimde bölüm alınarak % 10 formaldehit içine bir hafta bekletilmiştir. Kontüzyonlu epicenterleri içeren MS kısımları bir hafta sonra %70, % 80, % 90'lık absölü (absolute) alkol ve ksilolden birer saat süreler ile geçirildikten sonra parafinde iki saat bekletilmiştir. Her blok horizontal olarak 4 µm.'lik kesitler halinde kesilmiştir. Deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemi için kesitler etüvde 60°C de 60 dakika bekletildikten sonra sırasıyla onar dakika süre ile üç kez taze ksilolden birer dakika süre ile ikişer kez absölü ve % 96'lık alkoller ile distile sudan geçirilerek kesitler hematoksilin eozinle boyanmışlardır.

Boyama yöntemi aşağıdaki işlem sırasıyla gerçekleştirilmiştir;

1) Deparafinize ve rehidrate edilen kesitler ilk olarak iki dakika süre ile hematoksilin boyasında bekletilmiştir.

2) Çeşme suyunda bir dakika yıkanmıştır.

3) % 1'lik asit alkol solusyonuna bir dakika batırılıp çıkarılmıştır.

4) Çeşme suyunda bir dakika yıkanmıştır.

5) % 1'lik amonyaklı suya bir kez batırılıp çıkarılmıştır.

6) Çeşme suyunda bir dakika yıkanmıştır.

7) % 96'lık alkolde 30 saniye bekletilmiştir.

8) Eozin boyasında bir dakika bekletilmiştir.

Dehidratasyon işlemi:

Boyanan kesitler sırasıyla onar saniye süre ile % 96'lık alkolden 30 saniye süre ile ikişer kez, absölü alkol ile 30 saniye süre ile bir kez, bir dakika süre ile iki kez ksilolden geçirilerek üzerlerine iki damla entellen damlatılıp lamelle kapatılmıştır.

Tüm kesitler aynı patoloji uzmanı tarafından, preparatın hangi sıçana ait olduğu bilinmeden bir ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Örnekleri mikroskop altında fotoğraflanmıştır.

III.1. BİYOKİMYASAL İNCELEME

Her gruptan rasgele alınan dokuzar sıçanın tüm biyokimyasal incelemeleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda her grup aynı gün ve aynı koşullarda olmak üzere yapılmıştır.

III.1.1. Doku Homojenizasyonu

Kontrol ve deney gruplarına ait beyin doku örnekleri tartıldıktan sonra, fosfat tamponu içerisinde (pH: 7.4) homojenize edilip, % 20'lik (w/v) homojenatlar hazırlanmıştır. Elde edilen doku homojenatları 30 saniye süreyle, orta şiddette iki kez sonike edilmiştir. Homojenizasyon ve sonikasyon işlemleri yaklaşık olarak 4 °C de yapılmıştır. Sonikasyon işleminden sonra nitrotirozin ve nitrit/nitrat tayinleri için ise soğutmalı eppendorf santrifüjü ile 15000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Çalışmalar supernatantlardan alınan örneklerle yapılmıştır.

III.1.2. 3-NTyr Miktar Tayini

Çalışmada sandviç prensibine dayalı solid faz enzim bağlı immunosorbent bir ölçüm olan HyCult Hbt Nitrotirozin ELISA test kiti kullanılmıştır.

III.1.2.a. Prensip

Örnek ve standartlar 3-NTyr'i tanıyan antikor kaplı kuyucuklarda inkübe edilir. Bu inkübasyon sırasında 3-NTyr solid faza bağlı antikorlar tarafından yakalanır. Örnekteki bağlı olmayan materyal yıkama ile uzaklaştırılır. Biotinlenmiş ikinci antikor (tracer) kuyucuklara eklenir. İşaretli antikorlar yakalanmış 3-NTyr'e

bağlanır. İşaretin fazlası yıkama ile uzaklaştırılır. Streptavidin-peroksidaz konjugatı kuyucuklara uygulanır. Bu konjugat, spesifik olarak yakalanmış 3-NTyr üzerine bağlı biotinle işaretli antikor ile reaksiyona girer. Fazla streptavidin-peroksidaz konjugatı yıkama ile uzaklaştırılır ve substrat, tetrametil benzidin (TMB), kuyucuklara eklenir. Örnekteki mevcut 3-NTyr miktarı ile orantılı olarak renk oluşur. Reaksiyon sitrik asit (stop solüsyonu) ile durdurulur ve 450 nm de absorbans ölçülür. Standart konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri belirlenerek standart eğrisi çizilir. Nitrotirozin konsantrasyonu bilinmeyen örnekler, standart gibi çalışılır ve sonuçlar standart eğrisinden hesaplanır.

III.1.2.b. Kullanılan Çözeltiler

Tween 20 içeren konsantre yıkama tamponu 40 kat sulandırılmış olarak,
Fosfat tamponu içeren konsantre seyreltme tamponu 10 kat sulandırılmış olarak,

Liyofilize nitrotirozin (7.3 μ M),

Liyofilize tracer,

Liyofilize streptavidin peroksidaz konjugatı,

Standart, tracer ve streptavidin peroksidaz konjugatı 1 ml distile su ile deriştirilerek 11 ml seyreltme tamponu, streptavidin peroksidaz konjugata da 23 ml seyreltme tamponu eklenerek hazırlanan çözelti,

TMB substratı,

Substrat tamponu,

Substrat seyreltme tamponu,

TMB substrat solüsyonu: 6 ml TMB, 6 ml substrat tamponu ve 12 ml substrat seyreltme tamponu karıştırılarak hazırlanmıştır.

Stop solüsyonu; 2 M sitrik asit içermektedir.

III.I.3. Nitrotirozin Standart Serilerinin Hazırlanması

Yaklaşık 2 ila 1500 nM arasında standart grafiği çizebilmek için standart hazırlanmıştır. Standart seri seyreltme tamponu ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Stok solüsyon konsantrasyonu 7.3 µM dır. İşlemler;

- I. Tüp 1'e 480 µl seyreltme tamponu konulmuştur,
- II. 2. tüpten 7. tüpe kadar 250 µl seyreltme tamponu konulmuştur,
- III. Tüp 1'e 125 µl hazırlanan stok standarttan ilave edilmiştir,
- IV. 125 µl 1. tüpten alınıp 2. tüpe konularak karıştırılmıştır,
- V. 125 µl 2. tüpten alınıp 3. tüpe konularak karıştırılmıştır,
- VI. 3. tüpten 7. tüpe kadar aynı transfer işlemi tekrarlanmıştır,
- VII. 0 µM lık standart olarak hazırlanan 8. tüpe 500 µl seyreltme tamponu ilave edilmiştir.

Tüp no	1	2	3	4	5	6	7	8
Konsantrasyon nM NT	1500	500	166	55.6	18.5	6.2	2.1	0

Uygulama

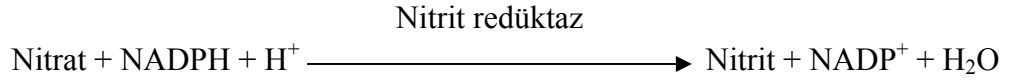
Önceden belirlenmiş kuyucuklara her bir standarttan ve numuneden ikişer kere 100'er µl koyulmuştur. ELISA tablası yapışkan bir kaplamayla kapatılarak oda ısısında 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra her kuyucuk 200 µl seyreltik yıkama tamponu ile üç kez yıkanarak geride kalan yıkama tamponu uzaklaştırılmıştır. Her kuyucuğa 100 µl seyreltik tracer konularak tekrar oda ısısında 1 saat inkübe edilmiştir. Yıkama işlemi önceki gibi üç kez tekrarlamayı takiben her kuyucuğa 100 µl seyreltik streptavidin-peroksidaz bileşiği eklenerek oda ısısında tekrar 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yıkama işlemi üç kere tekrarlanarak konjugat ile inkübasyon periyodu bitmeden hemen önce hazırlanan TMB substrat solüsyonundan her kuyucuğa 100 µl konularak oda ısısında ve karanlıkta 30 dakika

inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kuyucuklara 100'er µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durdurulmuş ve 450 nm de absorbans ölçülmüştür. Sonuçlar standart eğri grafiğine göre değerlendirilmiştir.

III.1.4. Nitrit / Nitrat Tayini

III.1.4.a. Prensip

Nitrik oksid kısa yarı ömrü ve kararsız yapısından dolayı biyolojik sistemlerde oksijenle reaksiyona girerek hızlıca nitrit (NO_2^-) ve nitrate (NO_3^-) okside olmaktadır. Bu nedenle NO düzeyleri kararlı son ürünleri olan nitrit ve nitrat düzeylerinin ölçümü ile dolaylı olarak ölçülür. Yöntemin prensibi nitrat redüktaz enzimiyle nitratın nitrite indirgenerek, oluşan nitritin Griess reaksiyonu sonucu oluşturduğu mor renkli azo boya ürününün vereceği absorbansın 540 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır (6). Bu çalışmada toplam nitrit ve nitrat düzeyleri doku ve plazma örneklerinde tayin edilmiştir.



Diazo bileşiğinin 540 nm dalga boyunda absorbansı ölçülerek toplam nitrit ve nitrat ölçülmektedir.

III.1.4.b. Kullanılan Çözeltiler

Potasyum fosfat tamponu (pH 7.5),
NADPH tableti (Bir tablet 0.5 mg NADPH içerir),
Liyofilize nitrat redüktaz (4 Ü),

Sülfanilamid içeren renk ayırıcı I (Griess Reaktifi I),

N-(1- naftil)- etilendiamin dihidroklorür içeren renk ayırıcı II (Griess Reaktifi II),

Stok potasyum nitrat standardı (50 mg/dl),

Reaksiyon karışımı I: Bir NADPH tableti 3 ml fosfat tamponunda çözülerek hazırlanmıştır.

Reaksiyon karışımı II: Bir şişe liyofilize nitrat redüktaz enzimi 0.7 ml distile su ile çözülerek hazırlanmıştır.

Nitrat standardı hazırlanması: 81.5 mg potasyum nitrat (KNO_3) 100 ml distile suda çözülerek 500 mg /L (8064 μmol /L) nitrat içeren stok standart hazırlanmıştır (KNO_3 ’ ten nitrata çevirme faktörü: 0.613). Hazırlanan stoktan seyreltilerek 80, 40, 20, 8, 4, 0.08 μmol /L konsantrasyonlarda nitrat standart çözeltileri hazırlanmıştır.

III.I.4.c. Yöntem ve Hesaplama

Roche Nitrite / Nitrate (NO_2^- / NO_3^-) colorimetric method kiti kullanılmıştır (5,41). Hesaplamalar standart eğri kullanılarak absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar bulunarak yapılmıştır.

III.J. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U testi, grup içi karşılaştırmalarında ise Friedman test ve Wilcoxon işaret testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı kabul edilmiştir.

IV. BULGULAR

IV.A. MOTOR FONKSİYON SKORLARI

Tablo 18: Gruplara Göre Değerlendirmeler

	Grup A	Grup B	Grup C	Grup D	Grup E	Grup F	
Gün	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	<i>p</i>
	(%25-75 perc)	(%25-75 perc)	(%25-75 perc)	(%25-75 perc)	(%25-75 perc)	(%25-75 perc)	
1.	5 (5-5)	5 (5-5)	5 (5-5)	5 (5-5)	5 (5-5)	5 (5-5)	
2.	5 (5-5)	5 (4-5)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	2 (1-2)	0,001**
3.	5 (5-5)	5 (4-5)	1 (1-1)	1 (1-1,25)	1 (1-2)	2 (2-3)	0,001**
4.	5 (5-5)	5 (4,75-5)	1 (1-1)	1,5 (1-2)	2 (1-2)	3 (2-3)	0,001**
5.	5 (5-5)	5 (4,75-5)	1 (1-1)	2 (2-2)	2 (1,75-2,25)	3 (3-4)	0,001**
6.	5 (5-5)	5 (4,75-5)	1 (1-1)	2,5 (2-3)	2 (1,75-3)	3,5 (3-4)	0,001**
7.	5 (5-5)	5 (5-5)	1 (1-1)	3- (2-3)	3 (2,5-3)	4 (3-4)	0,001**
8.	5 (5-5)	5 (5-5)	1 (1-1,25)	4 (2,75-4)	3 (2,5-3)	4 (4-4)	0,001**
9.	5 (5-5)	5 (5-5)	1 (1-1,25)	4 (3-4)	4 (3,5-4)	4 (4-4)	0,001**
10.	5 (5-5)	5 (5-5)	1 (1-2)	4 (3-4)	4 (3,5-4)	4 84-4)	0,001**
⁺ <i>p</i>	0,098	0,011**	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**	
Kruskal-Wallis test **<i>p</i><0,01 ⁺Friedman test <i>p</i><0,05 Wilcoxon signed ranks test							

1. gün yapılan değerlendirmede grupların Tarlov skalası düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Onuncu güne kadar her gün yapılan değerlendirmede ise Tarlov skalası düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. ($p<0,01$). Farkın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan ikili karşılaştırmalar (Post-HOC) tablo 19’da gösterilmiştir.

Tablo 19: Takip Günlerinde Gruplara Göre Post Hoc Değerlendirme Sonuçları

Günler	⁺⁺ Post Hoc Değerlendirmeler
1. gün	A.D.
2. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB>GC,GD,GE,GF**
3. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF**
4. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF** GC<GD,GE,GF**
5. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF** GC<GD,GE,GF**
6. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF**

	GC<GD,GE,GF**
7. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF** GC<GD,GE,GF**
8. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF** GC<GD,GE,GF** GE>GF**
9. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF** GC<GD,GE,GF**
10. gün	GA>GC,GD,GE,GF** GB> GC,GD,GE,GF** GC<GD,GE,GF**
<i>GA: Grup A GB: Grup B GC: Grup C GD: Grup D GE: Grup E GF: Grup F</i> <i>A.D. anlamlı değil ++Mann-Whitney U test **p<0,01</i>	

Tablo 20: Gruplarda Günlere Göre Grup İçi Değerlendirmeler

Grup A	Grup B	Grup C	Grup D	Grup E	Grup F
Gru p içi Doğ. AD Post hoc	1.gün>2,3 gün*	1.gün>2,3,4, 5, 6,7,8,9,10 gün**	1.gün>2,3,4, 5, 6,7,8,9,10 gün**	1.gün>2,3,4, 5, 6,7,8,9,10 gün**	1.gün>2,3,4, 5, 6,7,8,9,10 gün**
	2.gün<7,8, 9, 10 gün**		2.gün<3,4,5, 6, 7,8,9,10 gün**	2.gün<4,5,6, 7, 8,9,10 gün**	2.gün<3,4,5, 6, 7,8 9,10 gün**
	3.gün<7,8, 9, 10 gün**		3.gün<5,6,7, 8, 9,10 gün**	3.gün< 5,6, 7,8,9,10 gün**	3.gün<5,6,7, 8, 9,10 gün**
			4.gün<5,6,7, 8, 9,10 gün**	4.gün< 5,6,7,8, 9,10 gün**	4.gün<6,7,8, 9,10 gün**
			5.gün<6,7,8, 9,10 gün**	5.gün<7,8, 9,10 gün**	5.gün<7,8,9, 10 gün*
			6.gün<8,9,10 gün**	6.gün<7*, 8*, 9*,10** gün	6.gün<8,9,10 gün*
			7.gün < 8,9,10 gün**	7.gün<9, 10 gün**; 8.gün<9,10 gün**	
Wilcoxon signed ranks test		**p<0,01		*p<0,05	
AD: anlamlı değil					

Grup A'da; Tarlov skalası ölçümleri günlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir.

Grup B'de; Tarlov skalası ölçümlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 1. güne göre 2. ve 3. günlerde görülen artış, 2. güne göre 7., 8., 9. ve 10. günlerde görülen artış, 3. güne göre de 7., 8., 9. ve 10. günlerde görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Grup C'de; Tarlov skalası ölçümlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 1. güne göre 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 9. ve 10. günlerde görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Grup D'de; Tarlov skalası ölçümlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 1. güne göre 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 2. güne göre 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 3. güne göre 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 4. güne göre 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 5. güne göre 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 6. güne göre 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış ve 7. güne göre de 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Grup E'de; Tarlov skalası ölçümlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 1. güne göre 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 2. güne göre 4. 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 3. güne göre 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 4. güne göre 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 5. güne göre 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 6. güne göre 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 7. güne göre 9. ve 10. günlerde görülen artış, 8. güne göre 9. ve 10. günlerde görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Grup F'de; Tarlov skalası ölçümlerindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 1. güne göre 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 2. güne göre 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 3. güne göre 5. 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen

artış, 4. güne göre 6. 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 5. güne göre 7. 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış, 6. güne göre 8. 9. ve 10. günlerde görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$; $p<0,01$) (Tablo 20).

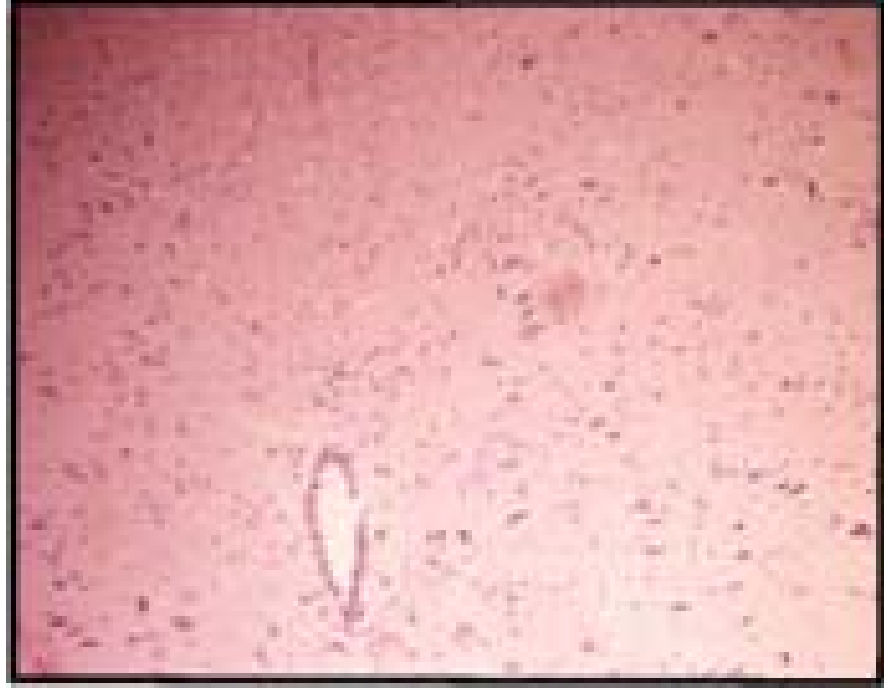
IV. B. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Grup A'dan alınan örnek normal histolojik yapıdaydı. Bir preparatta piamaterde damarlar dolgun durumda ve substansia griseada sınırlı kanama alanları görüldü. (Şekil 18)



Şekil 18: Grup A'dan Alınan Sıçanın MS Örneği

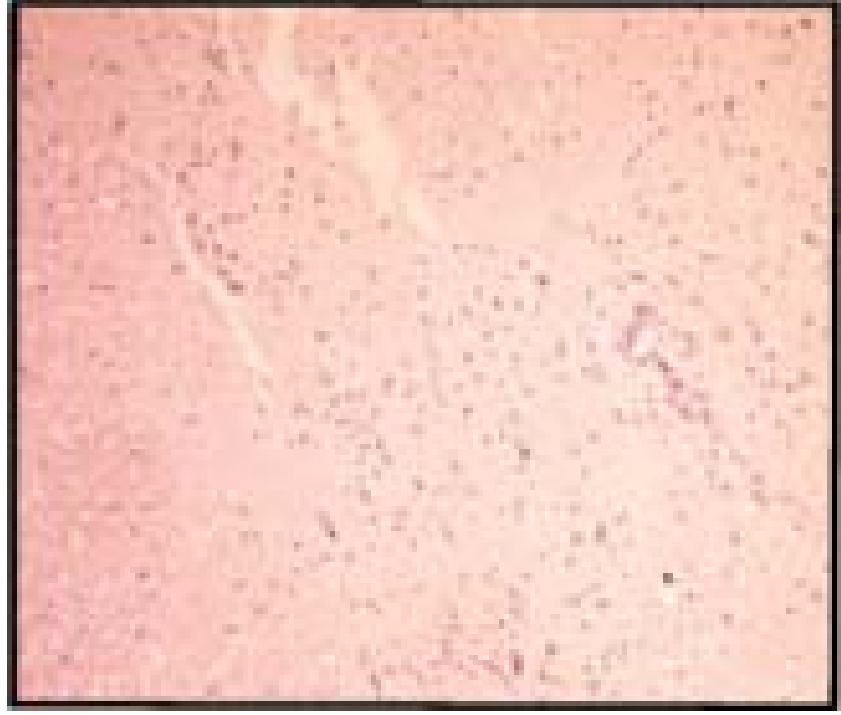
Grup B'dan alınan örnek normal histolojik yapıdaydı. Bir preperatta piamater damarlarında dolgunluk ve substansia grisea tabakasında küçük kanama odakları görüldü (Şekil 19).



Şekil 19: Grup B'den Alınan Sıçanın MS Örneği

Grup C'den alınan örnekte hem piamater hem de beyaz ve gri cevherde kanama alanları, yaygın olarak tamamında erime nekrozu ve kistik odaklar görülmüştür. Ayrıca bu alanlarda fazla sayıda sitoplazması vakuollü makrofaj ve nötrofil lökositlerden oluşan yangısal hücre infiltrasyonları mevcut olup gri cevher ve beyaz cevher arası ayrım kaybolmuş durumdaydı. Yaygın olarak demyelinizasyon ve MS'in özellikle posteromedial bölgelerinde beyaz cevherin kavitasyonları gözlemlenmiştir (Şekil 20).

Grup D'den alınan örnekte hem piamaterde, hemde beyaz cevherde kanama odakları ve vakuolizasyonlar saptanmıştır. Gri cevherde fokal olarak tespit edilen yer yer erime nekrozu ve kistik alanlarda dağınık durumda az sayıda makrofaj ve nadir nötrofiller görüldü (Şekil 21).

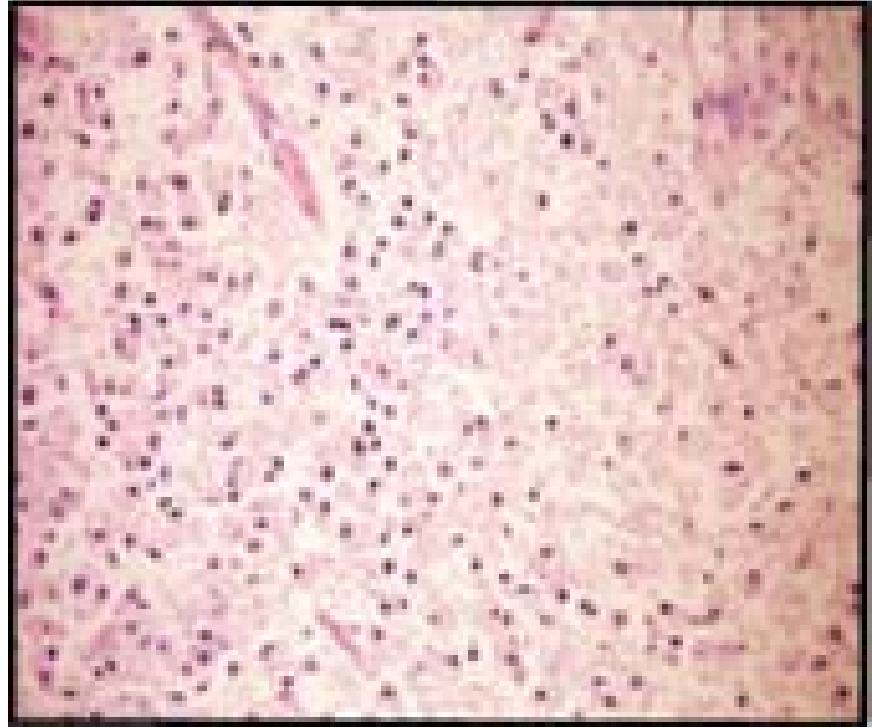


Şekil 20: Grup C'den Alınan Sıçanın MS Örneği



Şekil 21: Grup D'den Alınan Sıçanın MS Örneği

Grup E'den alınan örnekte beyaz ve gri cevher sınırı kaybolmuş durumdadır. Her iki bölümünde kapsayan yayılımda geniş erime nekrozu alanları, yoğun makrofaj ve daha az sayıda nötrofil lökositten oluşan yangısal hücre infiltrasyonları saptanmıştır. Değişik alanlarda kanama odakları görülmüştür (Şekil22).



Şekil 22: Grup E'den Alınan Sıçanın MS Örneği

Grup F'den alınan örnekte beyaz ve gri cevherde yer yer vakuolize ve erime nekrozu alanları ve kistler görülmüştü. Bu alanlarda ayrıca dağınık durumda ve az sayıda vakuollü makrofaj hücresi, tek tük nötrofil lökosit ve glia hücrelerinden oluşan hücresel infiltrasyonlar saptanmıştır. Yer yer kanama odakları görülmüştür (Şekil 23).



Şekil 23: Grup F'den Alınan Sığanın MS Örneği

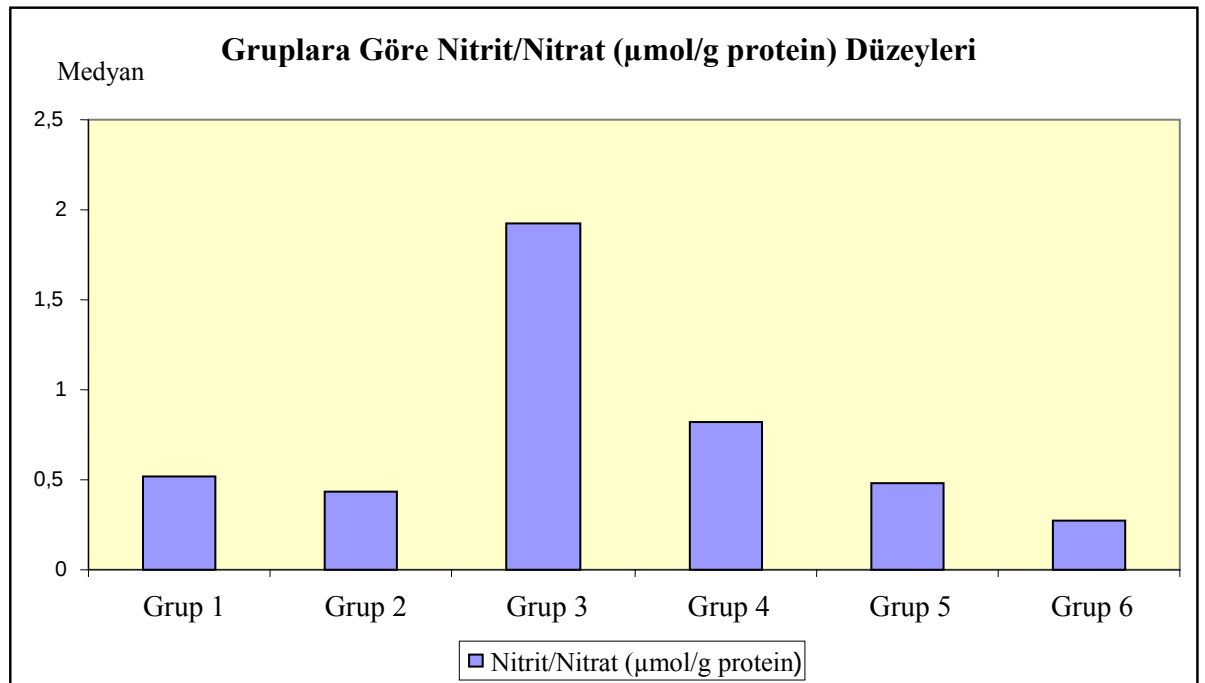
IV. C. BİYOKİMYASAL İNCELEME

Grupların karşılaştırılması sonucunda nitrit/nitrat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan karşılaştırma sonuçları aşağıdadır.

- Grup A'daki nitrit/nitrat düzeyleri Grup B, ve Grup F'den istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur ($p:0,038$ $p < 0,05$; $p:0,027$ $p < 0,05$);
- Grup C'deki nitrit/nitrat düzeyleri Grup D, Grup E ve Grup F'den anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur ($p:0,001$; $p:0,001$; $p:0,01$; $p < 0,01$);
- Grup D'deki nitrit/nitrat düzeyleri de Grup F'den anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur ($p:0,007$; $p < 0,01$) (Şekil 24).

Tablo 21: Gruplara Göre Nitrit ve 3-NTyr Ölçümlerinin Değerlendirmesi

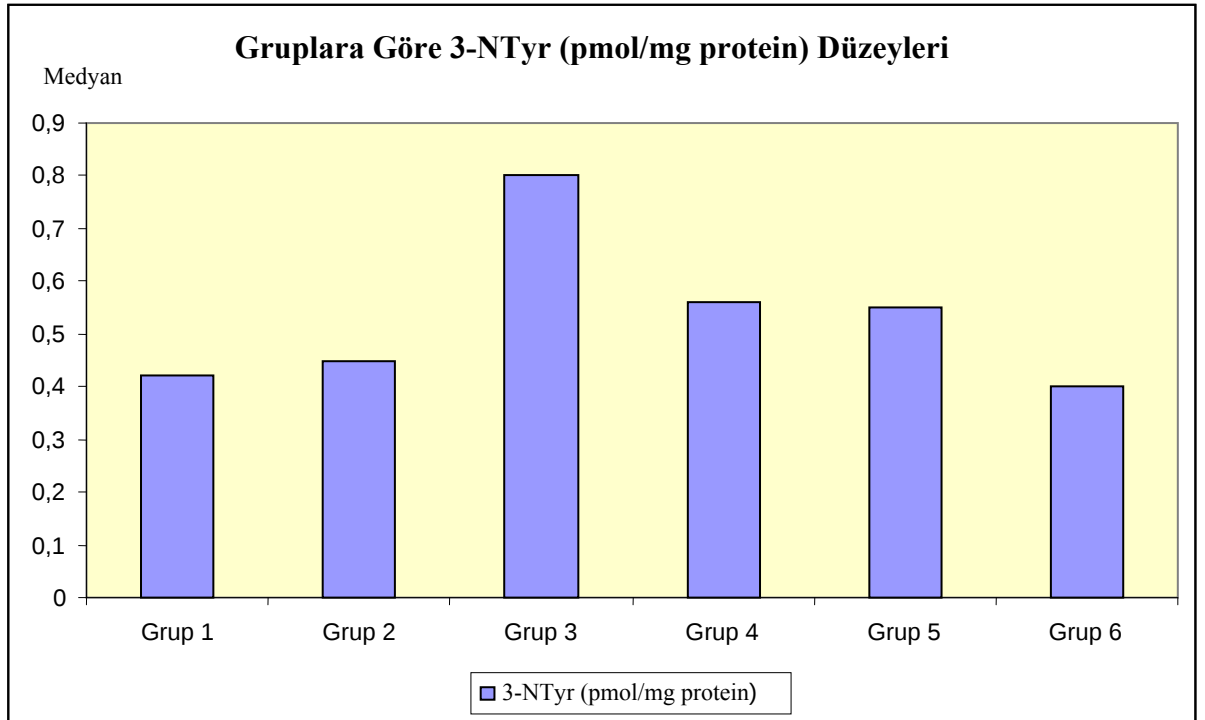
	Nitrit/Nitrat ($\mu\text{mol/g protein}$)	3-NTyr ($\mu\text{mol/mg protein}$)
	Ort $\pm$ SD (Medyan)	Ort $\pm$ SD (Medyan)
Grup A	0,57 $\pm$ 0,18 (0,52)	0,42 $\pm$ 0,15 (0,42)
Grup B	0,43 $\pm$ 0,11 (0,43)	0,44 $\pm$ 0,10 (0,45)
Grup C	1,75 $\pm$ 0,38 (1,92)	0,78 $\pm$ 0,31 (0,80)
Grup D	0,85 $\pm$ 0,36 (0,82)	0,54 $\pm$ 0,05 (0,56)
Grup E	0,66 $\pm$ 0,47 (0,48)	0,56 $\pm$ 0,11 (0,55)
Grup F	0,35 $\pm$ 0,25 (0,27)	0,40 $\pm$ 0,09 (0,40)
p	0,001**	0,001**
<i>Kruskal-Wallis test kullanıldı **p<0,01</i>		



Şekil 24: Gruplara Göre Nitrit/Nitrat ($\mu\text{mol/g protein}$) Düzeyleri Dağılımı

Grupların karşılaştırılması sonucunda 3-NTyr düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0,01$). Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla yapılan karşılaştırma sonucu aşağıdadır.

- Grup A'daki 3-NTyr düzeyleri Grup C ve Grup D'den anlamlı biçimde düşük bulunmuştur ($p:0,008$ $p<0,01$; $p:0,030$ $p<0,05$);
- Grup B'deki 3-NTyr düzeyleri Grup C, Grup D ve Grup E'den anlamlı biçimde düşük bulunmuştur ($p:0,005$ $p<0,01$; $p:0,027$ $p:0,042$; $p<0,05$);
- Grup C'deki 3-NTyr düzeyleri Grup D, Grup E ve Grup F'den anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur ($p:0,005$ $p<0,01$; $p:0,013$ $p<0,05$; $p:0,005$);
- Grup D ve Grup E'nin deki 3-NTyr düzeyleri her ikisi de Grup F'den anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur ($p:0,002$; $p:0,007$; $p<0,01$) (Şekil 25).



Şekil 25: Gruplara Göre 3-NTyr (pmol/mg protein) Düzeyleri Dağılımı

V.TARTIŞMA

Günümüzde gelişen cerrahi tekniklere karşın omurilik hasarı, elli yaş altındaki ölüm ve sakat kalmanın en önemli nedenlerinden biri olarak, ekonomik açıdan malitenin yüksek olması ve standart bir tedavisi olmaması nedeni ile halen ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (1). Toplum üzerindeki fiziksel, emosyonel ve sosyoekonomik etkileri ile birlikte travmaya uğramış kişinin yaşam kalitesindeki bozulma, çok ciddi problemler olarak karşımıza çıkmaktadır (2).

Yapılan deneysel çalışmalar, travma sonrası oluşan omurilik hasarının karmaşık olduğunu; birincil ve ikincil hasar olarak iki aşamada geliştiğini ortaya koymuştur. Birincil hasar travma anında gerçekleşir, doku hasarı ve hücre ölümü sonucu meydana gelir. İkincil hasar ise birincil yaralanma ile başlatılmış birçok mekanizmayla oluşan hücre ölüm kaskadı sonucunda meydana gelen nörolojik hasardır. Deneysel çalışmalar ve klinik gözlemler MS lezyonlarının büyük oranda ikincil hasar mekanizmasıyla genişlediğini göstermektedir (4). Travmaya bağlı omurilik yaralanmalarında özellikle ikincil hasarı önlemeye yönelik olarak denenilen tedavilerden yüksek doz metilprednizolon tedavisi hariç hiçbir rutin tedavi yöntemleri arasına girememiştir. Young tarafından 1998 yılında, tüm deneysel MS hasarı çalışmalarının metilprednizolon agonist tedavisiyle karşılaştırılması tavsiye edilmiştir (42).

Hiperbarik oksijen tedavisi inmeyi de içeren birtakım hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bu tedavi ile motor defisit hafiflediği, sekel riskin azaldığı, böylece iyileşmesine ve sağ kalımın artmasına neden olduğu görülmüştür (48). HBOT'nin antihipoksik, antiödem ve özellikle lipid peroksidasyonunun inhibisyonu etkileri nedeniyle travmaya bağlı omurilik yaralanmalarının tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada sıçanlarda klip kompresyon metoduyla gerçekleştirilen deneysel MS yaralanması modelinde HBOT ve yüksek doz metilprednizolon tedavilerinin ayrı ayrı ve bir arada etkinliklerinin incelenmesi ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Deney hayvanı olarak sıçanların tercih edilmesinin sebebi kolay bulunabilir olmaları; uzun süreli anesteziye dirençli olmaları ve vasküler işlevlerinin insanlardakiyle benzer olmasıdır (15,16).

V.A. NÖROLOJİK FONKSİYONLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Klinik motor muayenede Tarlov'un tarif ettiği skala kullanılmıştır (281). Bu skalaya göre grade I flask paralizi, grade II arka bacaklarda minimal istemli hareket mevcut, grade III ayakta durabiliyor, gövdeye aktif destek var ancak yürüyemiyor, grade IV yürüme mevcut ancak inkoordinasyon ve spastisite var, grade V normal yürüyüş olarak değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada sıçanların açık bir alanda serbestçe hareket etmelerine imkan tanınmış ve her hayvan en az bir dakika boyunca gözlemlenmiştir. Gruplandırma açısından hiç bilgisi olmayan bir gözlemci kalça, diz ve ayak bileği hareketlerini gözlemleyerek kaydetmiştir. Tüm sıçanların preoperatif değerlendirilmesi sonucunda tamamının normal yürüdüğü görülmüştür.

Travma almamış sadece laminektomi operasyonu geçirmiş sıçanlardan birinde postoperatif ikinci günde yürüme inkoordinasyonu ve spastisite olduğu ancak bu bulgunun postoperatif üçüncü günde tamamen ortadan kaybolduğu görülmüştür. Diğer sıçanların motor muayeneleri çalışmanın sonuna kadar normal olarak devam etmiştir. Bu bulgunun sadece laminektomi de olsa operasyon sırasında MS'e verilmiş olan travmadan kaynaklandığı düşünülmüştür. Klinik olarak tespit edilen bu hasarın biyokimyasal sonuçlara da yansıdığı görülmüştür. Daha önceki deneysel MS çalışmalarında da buna benzer sonuçlar tespit edilmiştir (10,262).

Laminektomi sonrası HBOT alan gruptaki üç sıçandan birinde üçüncü; iki sıçanda altıncı güne kadar yürüme inkoordinasyonu ve spastisite olduğu ancak daha sonra bu bulgunun tamamen düzeldiği görülmüştür. Diğer yedi sıçanın motor muayeneleri çalışmanın sonuna kadar normal olarak devam etmiştir. Sadece laminektomi yapılan gruptaki sıçanlar ile (grup A), laminektomi sonrası HBOT alan

grupdaki sıçanlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında HBO tedavisinin hayvanların motor fonksiyonları üzerine etkisi olmadığı görülmüştür.

Travma grubundaki (grup C) sıçanların nörolojik fonksiyonların değerlendirilmesi sonucunda yedi sıçanın, çalışmanın sonuna kadar flask paralizi olarak kaldığı; bir sıçanın postoperatif 10. günde; bir sıçanın sekizinci gün ve sonrasında; diğer bir sıçanın ise beşinci gün ve sonrasında arka bacaklarında minimal istemli hareket mevcut olduğu görülmüştür. Ancak bu bulgular diğer gruplarla arasındaki farkı ortadan kaldıracak derecede değildir. Grup C'deki tüm sıçanlar çalışmanın sonuna kadar diğer grupların tümünden anlamlı derecede kötü nörolojik muayene skoru sergilemiştir ($p<0,01$)

Travma sonrasında HBOT alan gruptaki (grup D) sıçanların nörolojik fonksiyonların değerlendirilmesi sonucunda, 10. günde üç sıçanın ayakta durabildiği, gövdeye aktif destek verebildiği ancak yürüyemediği; kalan yedi sıçanın ise yürümelerinin mevcut olduğu ancak inkoordinasyon ve spastisitelerinin olduğu görülmüştür. D grubundaki sıçanların grup E ve grup F ile karşılaştırmalarında 10. gün sonunda iyileşme dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İyileşme süreleri açısından karşılaştırıldığında her üç grubun da (grup D,E,F) dördüncü günden sonra grup C'ye göre anlamlı iyileşme gösterdiği görülmüştür.

Travma sonrasında metilprednizolon tedavisi alan gruptaki (grup E) sıçanların nörolojik fonksiyonların değerlendirilmesi sonucunda, 10. günde iki sıçanın sadece arka bacaklarında minimal istemli hareket olduğu; kalan sekiz sıçanın ise yürümelerinin mevcut olduğu ancak inkoordinasyon ve spastisitelerinin olduğu görülmüştür. E grubundaki sıçanların grup D ve grup F ile karşılaştırmalarında 10. gün sonunda iyileşme dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İyileşme süreleri açısından karşılaştırıldığında her üç grubun da (grup D,E,F) dördüncü günden sonra grup C'ye göre anlamlı iyileşme gösterdiği görülmüştür.

E grubundaki sıçanların grup D ve grup F ile karşılaştırmalarında 10. gün sonunda iyileşme dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. İyileşme süreleri açısından karşılaştırıldığında ise grup E'deki sıçanların 10. gün

sonunda ulaştığı nörolojik skora grup D ve F'ye göre daha geç ulaştığı görülmüştür. Bu bulgu HBOT'nin gerek tek başına gerekse metilprednizolon ile beraber kullanıldığında iyileşmeyi hızlandırdığı şeklinde yorumlanmıştır.

Travma sonrasında HBOT ve metilprednizolon tedavisinin beraber alan gruptaki (grup F) sıçanların nörolojik fonksiyonların değerlendirilmesi sonucunda, sekizinci günde tüm sıçanların yürümelerinin mevcut olduğu ancak inkoordinasyon ve spastisitelerinin olduğu görülmüştür. Bu skor (grade 4) bu grupta bir sıçanda     nc  günde, üç sıçanda beşinci günde elde edilmiştir. Aynı skor D grubunda en erken sekizinci günde, E grubunda ise dokuzuncu günde edilebilmiştir. Ancak bu bulgu istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ortaya anlamlı bir fark çıkmamıştır. Bu durumun sıçan sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Narayana ve arkadaşlarının MS hasarı olan ratlarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada hiperbarik oksijen tedavisi ardından 72 saatlik bir sürede, Tarlov skalasına göre nörolojik iyileşmede artış gözlemlenmiştir (38). Çalışmada kullanılan magnetik rezonans görüntülemelerine göre hiperbarik oksijen tedavisi hemorajinin yayılımını engellemiş ve ödemi çözmüştür (22).

Higgins ve arkadaşları hiperbarik oksijenizasyonun MS yaralanmasını takiben nörolojik fonksiyonlar üzerindeki akut etkilerini incelemişler ve çalışmalarının sonucunda, travmatik MS hasarının erken fazında uygulanan HBOT'nin hasarlı nöronal elementlerinin korunmasına aracılık ettiği sonucunu çıkar mışlardır (262). Ancak bu iki çalışmada metilprednizolon tedavisi kullanılmamış, HBOT grubu sadece kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

Murakami ve arkadaşlarının yaptığı bir motor nöron hasarı tavşan modeli çalışmasında iskemiden 30 dakika sonra bir saat süren tek bir seans HBOT kayda değer sayıdaki motor nöronu geç dönemdeki hücre ölümünden kurtarabilmiştir. Nörolojik değerlendirme de de iyileşme görülmüştür. Hiperbarik oksijen iskemiden altı saat sonra uygulandığı zaman ise herhangi bir etki göstermemiştir (263). Bu, hiperbarik oksijen tedavisinin spinal motor nöronların gecikmiş nöronal hücre ölümü üzerine olan etkilerini gösteren ilk çalışmadır.

Daha sonra Huang ve arkadaşlarının MS hasarı olan ratlarda yaptıkları çalışmada hasar sonrası ilk 6 saate kadar multiple hiperbarik oksijen tedavisi ve daha sonrasında da bir seri hiperbarik oksijen tedavi uygulamasının tek bir sefer hiperbarik oksijen tedavisi verilmesine göre daha üstün olduğunu bildirilmiştir (48). Bizim çalışmamızda hayvanlar hasardan hemen sonra ve sonrasındaki ilk 10 günde tedaviye alınmış böylelikle doku koruyucu etki için şu ana kadar tanımlanmış en başarılı hiperbarik oksijen tedavi rejimi sağlanmıştır (48).

Gamache HBOT alan (travmadan sonraki ilk 7.5 saat içinde) 25 MS hasarlı hastayla HBOT almayan hastaların son durumlarını karşılaştırmıştır. Hiperbarik oksijen tedavisiyle daha çabuk bir iyileşme sağlanmış ancak hastaların bir yıl sonundaki klinik durumları arasında bir fark görülmemiştir (24).

Yakın zamanda Asamoto ve arkadaşları (23) kemik kırığı olmadan akut hiperekstansiyona bağlı servikal MS hasarı olan hastalarda hiperbarik oksijen tedavisinin etkinliğini yayınlamışlardır. Hiperbarik oksijen tedavisi alan hastalardaki iyileşme oranı almayanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışma HBOT'nin insanlardaki MS hasarında iyileşmeye katkıda bulunduğunu gösteren retrospektif bir çalışmadır.

MS hasarı tedavisi hakkında yapılmış sadece birkaç prospektif çalışma vardır. Bunlardan bir tanesinde yüksek doz metilprednizolon uygulanmasıyla son durumun daha iyi olduğu gösterilmiştir (53). Günümüze kadar hiperbarik oksijen tedavisini içeren herhangi bir klinik prospektif çalışma yapılmamıştır.

V.B. NİTRİT/NİTRAT VE NİTROTİROZİN PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ

Sekonder hasarın ilerlemesinde önemli diğer bir mekanizma travma sonrası meydana gelen aşırı nitrik oksit sentezidir. NO• düşük derişimlerde düzenleyici ve koruyucu etkiler gösterir. Yüksek konsantrasyonlarda ise, süperoksid radikali veya moleküler oksijen ile reaksiyona girerek RNOS oluşumu aracılığı ile oksidatif ve nitroztatif stres oluşturarak toksik sonuçlara neden olur; inflamasyon, dolaşımsal şok

ve iskemi-reperfüzyon fizyopatolojisinde nitrik oksitin yol açtığı sitotoksisitenin temelini oluşturur. NO• kısa yarı ömrü ve kararsız yapısından dolayı kararlı ürünleri olan nitrit ve nitrat ve stabil son ürünü olan nitrotirozin düzeylerinin ölçümü ile dolaylı olarak ölçülür. Nitrotirozin genellikle nitrozatif stresin bir göstergesi ve nitrik oksit ile süperoksit etkileşiminin bir ayak izi olarak tanımlanmıştır (91).

Çalışmamızda her gruptan rastgele alınan dokuzar sıçanın tüm biyokimyasal incelemeleri İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda her grup aynı gün ve aynı koşullarda olmak üzere yapılmıştır.

Çalışmamızda laminektomi sonrasında HBOT alan gruptaki (Grup B) sıçanların biyokimyasal sonuçlarının istatistiksel incelemesinde travma olmaksızın HBOT nin doku üzerinde nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri açısından arttırıcı bir etkisi olmadığı görülmüştür. Tersine travma olmaksızın HBOT uygulanan sıçanların (Grup B) nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri sadece laminektomi geçiren (Grup A) sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum HBOT'nin operasyon sırasında sadece laminektomi de olsa MS'e verilmiş olan travmanın ortaya çıkardığı hasarı iyileştirdiğini düşündürmektedir. Ateş ve arkadaşlarının yaptığı deneysel MS çalışmasında sadece laminektomi yapılan sıçanlarda motor fonksiyon bozuklukları olmuş, metilprednizolon tedavisi ile bu bozukluklar ortadan kalkmıştır (10).

Travma grubundaki (Grup C) sıçanların nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri tüm gruplarınkinden anlamlı derecede yüksektir. Yani MS travması Nitrit/Nitrat ve nitrotirozin düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı biçimde artırmaktadır

Travma sonrası HBOT verilen gruptaki (Grup D) sıçanların nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri travma grubundaki (Grup C) sıçanlarınkine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,01$; $p<0,01$). Bu bulgu HBOT'nin MS travmasının tedavisinde faydalı olduğunu düşündürmektedir.

Travma sonrası HBOT verilen gruptaki (Grup D) sıçanların nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri travma grubundaki (Grup C) sıçanlarınkine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,01$; $p<0,01$). Bu bulgu HBOT'nin MS travmasının tedavisinde faydalı olduğunu düşündürmektedir.

Travma sonrası HBOT verilen gruptaki (Grup D) sıçanların nitrit/nitrat düzeyleri, travma sonrası metilprednizolon verilen gruptaki (Grup E) sıçanların nitrit/nitrat düzeyleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Nitrotirozin düzeyleri ise bu iki grup arasında fark göstermemiştir. Bu bulgu, travma sonrasında tek başına uygulanan HBOT'nin tek başına verilen metilprednizolon tedavisi kadar etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Travma sonrası HBOT ve metilprednizolonun beraber verildiği gruptaki (Grup F) sıçanların nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri, hem travma sonrası sadece HBOT verilen gruptaki (Grup D) ($p<0,01$; $p<0,01$), hem de travma sonrası sadece metilprednizolon verilen gruptaki (Grup E) düzeye göre ($p<0,01$; $p<0,01$) anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu bulgu travma sonrasında HBOT ve metilprednizolon tedavilerinin beraber uygulanmasının, travma sonrasında tek başına uygulanan HBOT ve tek başına uygulanan metilprednizolon tedavisinden daha etkin olduğuna işaret etmektedir.

Bu bulgular günümüzde MS travmasından sonra rutin olarak uygulanan metilprednizolon tedavisine travma sonrasında ilk dört saat içerisinde başlanmış ve ardından 10. güne kadar günlük olarak sürdürülmüş HBOT'nin eklenmesinin hastalarda oluşan nitrozatif stresi azaltarak daha iyi sonuçlara ulaşmasını sağlayabileceğini önermektedir. Literatürde buna benzer çalışmaların hiçbirinde nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri biyokimyasal inceleme için kullanılmamıştır. Bu çalışmanın bulguları daha geniş deneysel çalışmalarla desteklenmeli ve HBOT'nin değişik uygulama protokolleri ile karşılaştırılmalıdır. Ancak metilprednizolon tedavisinin diğer tedavilerle karşılaştırıldığı çalışmalarda nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeyleri biyokimyasal inceleme için kullanılmıştır.

Kahraman ve arkadaşlarının 2007 yılında yayınlanan bir deneysel omurilik yaralanmasında metilprednizolon tedavisinin nitrit/nitrat düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (261). Bu çalışma ile bizim çalışmamızın bulgulara benzer niteliktedir.

V.C. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Medulla spinalis yaralanması sonrası medulla spinalis horizontal kesitlerindeki akut, subakut ve kronik safhasındaki değişimler rutin olarak Hematoksilen Eozin boyama ile ortaya konmuştur. Hematoksilen Eozin boyama ile medulla spinalis yaralanması sonrası epicenterde subakut safhada nekroz, ödem, hemoraji, makrofaj ve nötrofil lökosit infiltrasyonu görülmektedir.

Omuriliğe travma uygulanmamış, sadece laminektomi yapılmış Grup A'nın ışık mikroskobundaki incelemelerinde omuriliğin normal nöronal ve vasküler yapısı izlenmiştir. Kesitlerde nukleus ve hücre sınırları belirgin, beyaz ve gri cevher ayrımı yapılabilmekteydi. Ödem, nekroz, kanama ve inflamasyona ait hücre görülmedi. Bir kesitte piamaterde damarlar dolgun durumda ve gri cevherde sınırlı kanama alanları görülmüştür.

Laminektomi sonrası HBOT alan Grup B'nin ışık mikroskobik incelemelerinde kontrol grubundan farksız biçimde omuriliğin normal nöronal ve vasküler yapısı izlenmiştir. Kesitlerde nukleus ve hücre sınırları belirgin, beyaz ve gri cevher ayrımı yapılabilmemiştir. Ödem, nekroz, kanama ve inflamasyona ait hücre görülmemiştir. Sadece bir preperatta piamater damarlarında dolgunluk ve gri cevher tabakasında küçük kanama odakları görülmüştür.

Travma sonrası tedavi almayan grup C'nin ışık mikroskobuyla incelemelerinde gri ve beyaz cevher ayrımı tamamen bozulmuş olup hem piamaterde hem de gri cevher ve beyaz cevher tabakalarında kanama alanları, yer yer kavitasyon oluşturan erime nekrozu ve kistik odaklar görülmüştür. Bu alanlarda bol miktarda makrofaj hücresi ve PMNL oluşan yangısal hücre infiltrasyonları da görülmüştür. Çevre dokuda infarkt ile uyumlu görünüm ve aksonal şişme izlenmiştir. Bu değişikliklerin sham grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak farklı olduğu görülmüştür.

Travma sonrası HBOT alan Grup D'nin ışık mikroskobuyla incelemelerinde gri ve beyaz cevher sınırları belirgin olup, ancak tüm alanlarda keskin olmadığı

gözlenmiştir. Hem piamaterde, hem de gri cevherde kanama odakları ve vakuolizasyonlar saptandı. Ancak hücre yapısı travma grubu ile karşılaştırıldığında çok daha az kanamalı ve ödemli idi. Gri cevherde yer yer erime ve kistik alanlar saptandı ve bu alanlarda dağınık durumda ve az sayıda makrofaj ve nadir PMNL tipinde yangısal hücreler görülmüştür.

Travma sonrası metilprednizolon alan Grup E'nin ışık mikroskopundaki incelemelerinde gri cevher ve beyaz cevher sınırı kaybolmuş durumdaydı. Her iki bölümde kapsayan yayılımı geniş erime nekrozu alanları, yoğun makrofaj ve daha az sayıda PMNL'den oluşan yangısal hücre infiltrasyonları saptanmıştır. Travma grubu ile karşılaştırıldığında çok daha az olmak üzere değişik alanlarda kanama odakları görülmüştür. Bu bulgular grup D'nin örneklerinde görülenlerden farklı değerlendirilmemiştir.

Travma sonrası HBOT ve metilprednizolon tedavilerini beraber alan Grup F'in ışık mikroskopundaki incelemelerinde gri cevher ve beyaz cevherde yer yer vakuolize ve erime nekrozu alanları ve kistler görülmüştür. Bu alanlarda ayrıca dağınık durumda ve az sayıda makrofaj hücresi, nadir PMNL ve glia hücrelerinden oluşan hücresel infiltrasyonlar saptanmıştır. Yer yer kanama odakları görülmüştür. Bu bulguların D ve E grubunda görülenlerden daha az olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada her bir gruptan bir sıçanın örnekleri, gruplar açısından “kör” olan bir patolog tarafından değerlendirilmiştir. Medulla spinalis hasarının son yıllardaki histopatolojik incelemeleri bir görüntü analiz sistemi kullanılarak ölçülmektedir (10). Bu şekilde bulgular objektif olarak değerlendirilmekte ve uygun istatistiksel yöntemlerle daha kesin sonuçlara ulaşılabilmektedir. Bu çalışmada böyle bir teknik kullanılmadığından histopatolojik olarak kesin sonuçlara ulaşmak mümkün olamamıştır.

Sonuç olarak bu deneysel çalışmadan elde edilen veriler HBOT'nin deneysel MS hasarında gerek tek başına gerekse metilprednizolon tedavisi ile beraber kullanımında 10. gün sonunda yani subakut dönemde klinik, histolojik ve biyokimyasal olarak faydalı etkileri olduğunu; bu etkilerin metilprednizolon ile

görülenlerden farklı olmadığını, ancak her iki tedavinin birlikte uygulanmasının en iyi sonuçları açığa çıkardığını göstermiştir. Bu çalışmadan sonra histopatolojik olarak bulguların daha objektif olarak değerlendirilebilmesi için kesitlerin bir görüntü analiz sistemi kullanılarak incelendiği çalışmalar planlanmalıdır.

VI. SONUÇ

Sıçanlarda oluşturulan deneysel MS travmasında HBOT ve metil prednizolon tedavisinin tek başına ve birlikte kullanımının klinik nörolojik, histopatolojik ve biyokimyasal açıdan değerlendirildiği bu çalışmada, nörolojik fonksiyonların değerlendirilmesi sonucunda;

- HBOT sağlam olduğu kabul edilen grupta nörolojik fonksiyonları etkilememiştir
- Travma sonrasında HBOT'nin tek başına uygulanması metilprednizolonun tek başına uygulanması kadar etkin bulunmuştur.
- Travma sonrasında HBOT ve metilprednizolon tedavisinin birlikte uygulanması motor fonksiyon skorlarının iyileşmesini arttırmaya da, daha erken iyileşmelerini sağlamıştır.

Histopatolojik olarak değerlendirmeler sonucunda;

- HBOT sağlam olduğu kabul edilen grupta patolojik bulgulara neden olmamıştır
- Travma sonrasında HBOT'nin tek başına uygulanması travma grubunda meydana gelen yoğun inflamasyonu, erime nekrozu ve kistik odakları azaltmıştır. Bu etki metilprednizolon tedavisinin tek başına uygulanması ile elde edilen sonuçlara benzerdir.
- Histopatolojik olarak en iyi sonuç HBOT ve metilprednizolon tedavisinin birlikte uygulanması ile elde edilmiştir.

Biyokimyasal olarak değerlendirmeler sonucunda;

- HBOT sağlam olduğu kabul edilen grupta nitrit/nitrat ile nitrotirozin düzeylerinde artışa neden olmamıştır.
- MS travması Nitrit/Nitrat ve nitrotirozin düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı biçimde artırmaktadır

- Travma sonrasında HBOT'nin tek başına uygulanması metilprednizolonun tek başına uygulanması kadar etkin bulunmuştur.
- Biyokimyasal olarak en iyi sonuç HBOT ve metilprednizolon tedavisinin birlikte uygulanması ile elde edilmiştir.

Metilprednizolon ve HBOT'nin birlikte kullanımı MS travmasında meydana gelen nörolojik hasarda önemli bir yeri olan sekonder hasar mekanizmalarından nitrozatif stres ile mücadelede tedavi şansını arttırmaktadır.

Bu sonuçların klinik çalışmalarla desteklenmesi ve etki mekanizmalarının açıklanabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

VIII. KAYNAKLAR

1. Stripling, T. E. (1990) The cost of spinal cord injury: the economic consequences of traumatic spinal cord injury. Paraplegia News August, 50-54.
2. Bracken, M. B. (1991) Treatment of acute spinal cord injury with methylpredonisolone: results of a multicenter, randomized clinical trial. J. Neurotrauma 8, S47-S50.
3. Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. Prog Neurobiol 1998;56:341-58.
4. Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. Spine J. 2004 Jul-Aug;4(4):451-64. Review.
5. Atukeren P.,2005 "Deneysel diyabet modelinde serebral iskemi reperfüzyon sonucu oluşan oksidatif hasarın ve antioksidan tedavi etkilerinin incelenmesi"İstanbul.
6. Kaya M. Uzmanlık tezi, Bir kalpain inhibitörü olan AK295'in nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği İstanbul 2005.
7. Kelten B. Uzmanlık tezi Bir safra asidi olan tauroursodeoxycholic acid'in nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi T.C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği İstanbul 2005
8. Kerimoğlu A, Paşaoğlu O, Kanbak G, Hanci V, Ozdemir F, Atasoy MA. [Efficiency of coenzyme Q(10) at experimental spinal cord injury][Article in Turkish] Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2007 Apr;13(2):85-93.
9. Kuşçuoğlu U. Deneysel omurilik yaralanmasında Agmatin'in doza bağımlı Nöroprotektif etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi İstanbul – 2004. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniği.

10. Ates O, Cayli S, Altinoz E, Gurses I, Yucel N, Kocak A, Yologlu S, Turkoz Y. Effects of resveratrol and methylprednisolone on biochemical, neurobehavioral and histopathological recovery after experimental spinal cord injury. *Acta Pharmacol Sin.* 2006 Oct; 27(10):1317-25.
11. Young W, Bracken MB. The second national acute spinal cord injury study. *J Neurotrauma* 1992; 9 (Suppl 1): 397-405.
12. Young W, Flamm ES. Effects of high-dose corticosteroid therapy on blood flow, evoked potentials and extracellular calcium in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1982; 57: 667-73.
13. Khan, M. and Griebel, R. (1983) Acute spinal cord injury in the rat: comparison of three experimental techniques. *Can. J. Neural. Sci.* 10, 161-165.
14. Black, P., Markowitz, R. S., Cooper, V., Mechanic, A., Kushner, H., Damjanov, L, Finkelstein, S. D. and Wachs, K. C. (1986) Models of spinal cord injury. *Neurosurgery* 19, 752-762.
15. Rubinstein A, Arbit E (1990) Spinal cord blood flow in the rat under normal physiological conditions. *Neurosurgery* 27:882-885.
16. Jellinger K (1976) Neuropathology of cord injuries. In: Vinken PJ, Bruyn GW (eds) *Handbook of clinical neurology*. Elsevier, New York, p 43.
17. Kwon BK, Fisher CG, Dvorak MF, Tetzlaff W. Strategies to promote neural repair and regeneration after spinal cord injury. *Spine.* 2005 Sep 1;30(17 Suppl):S3-13. Review.
18. Kwon, Brian K a,b; Dvorak, Marcel F a,b; Fisher, Charles G a; Tetzlaff, Wolfram C. Spinal cord injury regenerative strategies and obstacles. *Current Opinion in Orthopedics.* 15(3):196-201, June 2004.
19. Tetik O, Gürbüz A. Spinal Cord Protection. *TGKDCD* 2000; 8:2, 587-92.
20. Koc RK, Akdemir H, Karaküçük EI, Oktem IS, Menkü A. Effect of methylprednisolone, tirilazad mesylate and vitamin E on lipid peroxidation after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord.* 1999 Jan;37(1):29-32.
21. Ozden TA, Uzun H, Bohloli M et al (2004) The effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidant and antioxidants levels during liver regeneration in rats. *Tohoku J Exp Med* 203:253-265

22. Feldmeier JJ (2003) Hyperbaric oxygen: indications and results; the hyperbaric oxygen therapy committee report. Undersea & Hyperbaric Medical Society, Kensington, MD.
23. Asamoto S, Sugiyama H, Doi H et al (2000) Hyperbaric oxygen (HBO) therapy for acute traumatic cervical spinal cord injury. *Spinal Cord* 38:538-540.
24. Gamache FW Jr, Myers RA, Ducker TB, Cowley RA. "The clinical application of hyperbaric oxygen therapy in spinal cord injury: a preliminary report." *Surg Neurol.* 1981 Feb;15(2):85-7.
25. Huang L, Mehta MP, Eichhorn JH, Nanda A, Zhang JH. "Multiple hyperbaric oxygenations (HBO) expand the therapeutic window in acute spinal cord injury in rats." *Acta Neurochir Suppl.* 2003;86:433-8.
26. Ishihara H, Kanamori M, Kawaguchi Y et al. (2001). Prediction of neurologic outcome in patients with spinal cord injury by using hyperbaric oxygen therapy. *J Orthop Sci* 6:385-389.
27. Kindwall EP, Gottlieb LJ, Larson D (1991). Hyperbaric oxygen therapy in plastic surgery: a review article. *Plastic Recons Surg* 88:898-908.
28. Knighton DR, Silver IA, Hunt TK (1981). Regulation of wound healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery* 90:262-270.
29. Lavan FB, Hurt TK (1990). Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg* 17:463-472.
30. Nie H, Xiong L, Lao N et al (2006) Hyperbaric oxygen preconditioning induces tolerance against spinal cord ischemia by upregulation of antioxidant enzymes in rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:666-674.
31. Onur Ender, hiperbarik oksijen ve N-asetil sistein tedavisinin sıçanlarda oluşturulan akut pankreatite etkileri, İstanbul, 2002.
32. Pantovic R, Pero D, Erakovic V., Blagovic B., Milin C., Simonic A. Effect of Hyperbaric Oxygenation on the Level of Free Fatty Acids in Experimental Spinal Cord Injury in Rabbits *Croatica Chemica Acta* Vol. 78 No. 3 (2005)

33. Schmutz Jörg Brain Injury and Spinal Cord Injury Handbook on Hyperbaric Medicine, 2006 Springer.
34. Tompach P. C., Lew D., Stoll J. L. Cell response to hyperbaric oxygen treatment. IntJOral Maxillofac Surg 1997; 26(2): 82-86.
35. Karamehmetoglu, Spinal Cord Injury and Stem Cell Therapy 1 Nisan 2006 tarihinde İstanbul'da yapılan VII. Medulla Spinalis Yaralanmaları Sempozyumu'nda sunulmuştur.
36. Arıncı K, Sobotta İnsan Anatomi Atlası Urban & Schwarzenberg, Müncher 1. cilt 3. baskı, 1990.
37. Arıncı K., Ehan A., Merkezi Sinir Sistemi; Murat Kitap ve Yayınevi; 1. Naskı, 1993, p.15-78, 69.
38. Ersoy ve ark. Anatomy and Tracts of the spinal cord, Türkiye Klinikleri J Med Sci 1996,16.
39. Yılmaz G., “Deneysel omurili yaralanması modelinde clopidogrel koruyucu ve tedavi edici etkisinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. Dr. İstanbul 2007. T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Nöroşirürji Kliniği.
40. Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918, Newyork Bartleby. com. 2000
41. Mautes AEM, Weinzierl MR, Donovan F, Noble LJ. Vascular events after spinal cord injury: Contribution to secondary pathogenesis Physical Therapy. Phys Ther. 2000 Jul;80(7):673-87. (15 pp.).
42. Adamkiewicz A. Die Blutgefäße des menschlichen Rückenmarks: Die Gefäße der Rückenmarksoberfläche. Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften in Wien-Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse Abteilung 3. 1882;84:101-130.
43. Thron AA, ed. Vascular Anatomy of the Spinal Cord, New York, NY. Springer-Verlag New York Inc; 1988.
44. Viraswami V. A Study of the Blood Supply of the Spinal Nerve Roots in Man and the Rabbit With an Experimental Analysis of the Collateral Circulation

- Following Ligation of Arteries [PhD thesis]. London, England: University of London; 1963.
45. Kakulas, B. A. (1984) Pathology of spinal injuries. *Cent. Nerv. Syst. Trauma* 1, 117-129.
 46. Geisler, F.H., Dorsey, F.C. and Coleman, W.P. (1991) Recovery of motor function after spinal cord injury-a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *New Engl. J. Med.* 324, 1829-1838.
 47. Tator, C. H. and Fehlings, M. G. (1991) Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J. Neurosurg.* 75, 15-26.
 48. Demediuk P, Faden AI, Romhanyi R, Vink R, McIntosh TK. Traumatic brain injury in the rat: effects on lipid metabolism, tissue magnesium, and water content. Retraction in: Demediuk P, Faden AI, Romhanyi R, Vink R, McIntosh TK. *J Neurotrauma.* 1989 Winter;6(4):229. *J Neurotrauma.* 1988;5(2):105-19.
 49. Demirel, Bahadır Murat. “Kobayda medulla spinalis’in üst torakal ve alt servikal bölgelerinin damar sisteminin incelenmesi” Antalya 2005.
 50. Diaz-Ruiz A, Vergara P, Perez-Severiano F, Segovia J, Guizar-Sahagún G, Ibarra A, Ríos C. Cyclosporin-A inhibits constitutive nitric oxide synthase activity and neuronal and endothelial nitric oxide synthase expressions after spinal cord injury in rats. *Neurochem Res.* 2005 Feb;30(2):245-51.
 51. Tarlov, I. M., Klinger, H. and Vitale, S. (1953) Spinal cord compression studies: 1. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *A. M. A. Arch. Neural. Psychiat.* 70, 813-819.
 52. Martin, S. H. and Bloedel, J. R. (1973) Evaluation of experimental spinal cord injury using cortical evoked potentials. *J. Neurosurg.* 39,75-81.
 53. Nystrom, B. and Berglund, J-E. (1988) Spinal cord restitution following compression injuries in rats. *Acta Neural. Scand.* 78, 467-472.
 54. Holtz, A., Nystrom, B. and Gerdin, B. (1990) Relation between spinal cord blood flow and functional recovery after blocking weight-induced spinal cord injury in rats. *Neurosurgery* 26, 952-957.

55. Tator C H. Strategies for recovery and regeneration after brain and spinal cord injury *Injury Prevention* 2002;8(Suppl IV):iv33–iv36.
56. Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *JNeurosurg* 1991; 75: 15-26.
57. Tator CH. Review of treatment trials in human spinal cord injury: issues, difficulties, and recommendations. *Neurosurgery*. 2006 Nov;59(5):957-82; discussion 982-7.
58. Tator, C. H. and Rowed, D. W. (1979) Current concepts in the immediate management of acute spinal cord injuries. *Can. Med. Assoc. J.* 121, 1453-1464.
59. Rivlin AS, Tator CH (1978) Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *SurgNeurol* 10:39-43.
60. Güzel A, Tatlı M, Ökten Aİ, Çaylı S Pathology and Physiopathology of Spinal Cord Injury *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 28 (2): 73 – 78, 2006.
61. Antar, Veysel (Uzmanlık tezi) Bir Genel Kaspaz İnhibitörü Olan QVD-OPH'nin Nöroprotektif Etkilerinin Deneysel Spinal Kord Travması Modelinde İncelenmesi. T. C. Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği İstanbul 2005.
62. Young, W., DeCrescito, V., Tomasula, J. and Ho, V. (1980) The role of the sympathetic nervous system in pressor responses induced by spinal cord injury. *J. Neuro.surg.* 52, 473-481.
63. Faden, A. L, Jacobs, T. P., Feuerstein, G. and Holaday, J. W. (1981b) Dopamine partially mediates the cardiovascular effects of naloxone after spinal injury. *Brain Res.* 213, 415-421.
64. Guha A, Tator CH, Rochon J: Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury in rats. *Stroke* 20; 3: 372-377, 1989.
65. Lu K, Liang CL, Chen HJ, Chen SD, Hsu HC, Liliang PC, Lin TK, Cho CL. Injury severity and cell death mechanisms: effects of concomitant

- hipovolemic hypotension on spinal cord ischemia-reperfusion in rats. *Exp Neurol* 2004 Jan; 185(1): 120-32.
66. Mautes A.E.M., Schröck H, Nacimiento A C., Paschen W. Regional Spinal Cord Blood Flow and Energy Metabolism in Rats after Laminectomy and Acute Compression Injury *Eur J Trauma* 2000;26:122–30.
 67. LeBel CP, Bondy SC. Oxygen radicals: common mediators of neurotoxicity. *Neurotoxicol Teratol.* 1991;13:341-346.
 68. Yang GY, Betz AL, Chenevert TL, et al. Experimental intracerebral hemorrhage: relationship between brain edema, blood flow, and blood-brain barrier permeability in rats. *JNeurosurg.* 1994;81:93-102.
 69. Mendelow AD, Bullock R, Teasdale GM, et al. Intracranial haemorrhage induced at arterial pressure in the rat, part 2: short-term changes in local cerebral blood flow measured by autoradiography. *Neurol Res.* 1984;6:189-193.
 70. Ducker TB, Assenmacher DR Microvascular response to experimental spinal cord trauma. *Surg Forum.* 1969;20:428-430.
 71. Clozel M, Breu V, Burri & et al. Pathophysiological role of endothelin revealed by the first orally active endothelin antagonist. *Nature* 1993;365:759-761.
 72. Macdonald RL, Weir BK. A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke.* 1991;22:971-982.
 73. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem.* 1992;59:1609-1623.
 74. Maines MD. Heme oxygenase: function, multiplicity, regulatory mechanism, and clinical applications. *FASEB J* 1988;2:2557-2568.
 75. Liu Y, Tachibana T, Dai Y, Kondo E, Fukuoka T, Yamanaka H, Noguchi K. Heme oxygenase-1 expression after spinal cord injury: the induction in activated neutrophils. *J Neurotrauma.* 2002 Apr;19(4):479-90.
 76. Panahian N, Yoskiura M, Maines MD. Overexpression of heme oxygenase-1 is neuroprotective in a model of permanent middle cerebral artery occlusion in transgenic mice. *J Neurochem.* 1999;72:1187-1203.

77. Westergaard E. The blood-brain barrier to horseradish peroxidase under normal and experimental conditions. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1977;39:181-187.
78. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332:411-415.
79. Clozel M, Breu V, Burri & et al. Pathophysiological role of endothelin revealed by the first orally active endothelin antagonist. *Nature* 1993;365:759-761.
80. McKenzie AL, Hall JJ, Aihara N, et al. Immunolocalization of endothelin in the traumatized spinal cord: relationship to blood-spinal cord barrier breakdown. *J Neurotrauma*. 1995;12:257-268.
81. Zimmermann M, Seifert V. Endothelin and subarachnoid hemorrhage: an overview. *Neurosurgery*. 1998;43:863-875.
82. Macrae IM, Robinson MJ, Graham DI, et al. Endothelin-1-induced reduction in cerebral blood flow: dose dependency, time course, and neuropathological consequences. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1993;13:276-284.
83. Tippler B, Herbst C, Simmet T. Evidence for the formation of endothelin by lysed blood cells from endogenous precursor. *Eur jPharmacol* 1994;271:131-139.
84. Körpınar Ş. Farklı Basınç Değerlerinde Uygulanan Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Plazma Ve Eritrosit Düzeyinde Oksidatif Stres Ve Antioksidan Status Üzerine Etkileri, İstanbul, 2004.
85. Gümüştas K., Atükeren P. “Oksidatif ve Nitrozatif Stresin Psikiyatrik Bozukluklarla İlişkisi” İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Türkiye’de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar Sempozyum Dizisi No:62 •Mart 2008 S:329-340.
86. Güdücü N. Deneysel CO Zehirlenmesinde Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Beyin Dokusunda Antioksidan enzimlere ve Malondialdehid düzeylerine etkileri, İstanbul, 2006.
87. Eken, A. Hiperbarik oksijen tedavisi Oksidatif stres ve genetik toksisite arasındaki ilişkinin araştırılması, İstanbul, 2003.

88. Özkılıç, T T. “ Deneysel CO zehirlenmesinde hiperbarik oksijen tedavisinin serum malonildialdehid düzeylerine olan etkileri”, İstanbul, 2004.
89. Baffour R, Achanta K, Kaufman J, Berman J, Garb JL, Rhee S, Friedmann P. Synergistic effect of basic fibroblast growth factor and methylprednisolone on neurological function after experimental spinal cord injury. J Neurosurg. 1995 Jul;83(1):105-10.
90. Onur Ender, hiperbarik oksijen ve N-asetil sistein tedavisinin sıçanlarda oluşturulan akut pankreatite etkileri, İstanbul, 2002.
91. Vaziri Nosratola D., Yu-Shang L., Ching-Yi L., Lin Vernon W., Sindhu Ram K. NAD(P)H oxidase, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and nitric oxide synthase expression in subacute spinal cord injury Brain Research 995 (2004) 76– 83.
92. Campese VM, Sindhu RK, Ye S, Bai Y, Vaziri ND, Jabbari B. Regional expression of NO synthase, NAD(P)H oxidase and superoxide dismutase in the rat brain. Brain Res. 2007 Feb 23;1134(1):27-32. Epub 2006 Dec 28.
93. Chabrier PE, Pallardy CD, Auget M: Nitric oxide synthases: targets for therapeutic strategies in neurological diseases. CMLS 1999; 55:1029-1035.
94. Buss A, Pech K, Kakulas BA, Martin D, Schoenen J, Noth J, Brook GA. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in human traumatic spinal cord injury. BMC Neurol. 2007 Jun 26;7:17.
95. Jungersten L, Edlund A, Petersson AS, Wennmalm A. Plasma nitrate as an index of nitric oxide formation in man: analyses of kinetics and confounding factors. Clin Physiol 1996; 16: 369-79.
96. Kırış T, Görgülü A: Omurilik Travmaları. Travma (ed. Ertekin C., Taviloğlu K., Güloğlu R., Kurdoğlu M.), Bölüm 14: 805-818. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005, İstanbul.
97. Davies J, Watkins JC: Role of excitatory amino acid receptors in mono- and polysynaptic excitation in the rat spinal cord. Exp Brain Res 1983, 49: 280-290.

98. Li S, Tator CH. Effects of MK801 on evoked potentials, spinal cord blood flow and cord edema in acute spinal cord injury in rats. *Spinal Cord*. 1999 Dec;37(12):820-32.
99. Simpson RK, Hsu CY, Dimitrijevic MR: The experimental basis for early pharmacological intervention in spinal cord injury. *Paraplegia* 1991, 29: 364-372.
100. Farooqui AA, Horrocks LA: Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain Res Rev* 1991,16:171-191.
101. Kırış T., Görgülü A.;Excitatory Aminoasids and excitotoxicity, *Türk Nörosirürji Dergisi*, C:15, S:1, 39-44.
102. Lemke M, Demediuk P, McIntosh TK, Vink R, Faden AI: Alterations in tissue Mg^{++} , Na^{+} and spinal cord edema following impact trauma in rats. *Biochem Biophys Res Com* 147: 1170-1175, 1987.
103. Soy O, Aslan O, Uzun H, Barut S, Iğdem AA, Belce A, Colak A. Time-level relationship for nitric oxide and the protective effects of aminoguanidine in experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 2004 Dec;146(12):1329-35; discussion 1335-6. Epub 2004 Aug 16.
104. Schwartz M, Yoles E.J Immune-based therapy for spinal cord repair: autologous macrophages and beyond. *Neurotrauma*. 2006 Mar-Apr;23 (3-4):360-70.
105. Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev*. 1996; 76:319-370.
106. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J: Acute spinal cord injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin. Neuropharmacology* 2001; 24(5): 254-264.
107. Yakovlev, A. G. and Faden, A. I. (1994) Sequential expression of c-fos protooncogene, TNF-alpha, and dynorphin genes in spinal cord following experimental traumatic injury. *Mol. Chem. Neuropathol*. 23, 179-190.
108. Öz B: Medulla spinalis yaralanmalarında patoloji. In Hancı M; *Medulla spinalis yaralanmaları* 2000 pp137-142.

109. Buss A, Brook GA, Kakulas B, Martin D, Franzen R, Schoenen J, Noth J, Schmitt AB. Gradual loss of myelin and formation of an astrocytic scar during Wallerian degeneration in the human spinal cord. *Brain*. 2004 Jan;127(Pt 1):34-44. Epub 2003 Oct 8.
110. Parsak T. Deneysel medulla medulla spinalis travma modelinde N-asetilsistein'in sekonder hasarın önlenmesindeki yeri, Edirne, 2006.
111. Lee, Justin, M.Sc. An ultrastructural and immunohistochemical characterization of the adult rat spinal cord following a severe clip compression injury Queen's University at Kingston (Canada), 2003, 69 pages; AAT.
112. Deniz E, Nöronal Plastisite ve Rejenerasyon, Medulla Spinalis Yaralanmaları, Ed: Murat Hancı, Önder Aydıngöz, B. Logos Yayıncılık, İstanbul S:143-150, 2000.
113. Farmer SF: Plasticity of central motor pathways in children with hemiplegic cerebral palsy. *Neurology* 41: 1505-1510, 1991.
114. Uçankale M: SJA6017 Nöroprotektif etkilerinin deneysel omurili travması modelinde incelenmesi. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Taksim Eğit. Araş. Hast. Nöroşirürji Kliniği, İstanbul 2004.
115. Martin ES: Regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in the adult rat spinal cord under experimental conditions. *Spinal Cord* 35: 400-473. 1997.
116. Lemons Michele Lynn. Proquest Dissertations And Theses 1999. Section 0070, Part 0317 138 pages; [Ph.D. dissertation]. Inhibition of regeneration in the injured, adult spinal cord: The role of chondroitin sulfate proteoglycans, specifically aggrecan United States—Florida: University of Florida; 1999. Publication Number: AAT 9946011.
117. Bradbury EJ, McMahon SB. Spinal cord repair strategies: why do they work? *Nat Rev Neurosci*. 2006 Aug;7(8):644-53.
118. Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and acute spinal cord injury: a reappraisal. *NeuroRx* 2004; 1:80-100.
119. McDonald J.W., Sadowsky C., Spinal-cord injury. *Lancet* 359 9304 (2002), pp. 417–425.

120. Osteråker AL, Levi R. Indicators of psychological distress in postacute spinal cord injured individuals. *Spinal Cord*. 2005 Apr;43(4):223-9.
121. Tatlı M, Güzel A, Ökten Aİ, Çaylı S Medical Management of Spinal Cord Injuries C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 27 (4): 165-172.2005.
122. Ducker T.B. and Zeidman S.M., Spinal cord injury. Role of steroid therapy. *Spine* 19 20 (1994), pp. 2281–2287.
123. Faden A.I., Therapeutic approaches to spinal cord injury. *Adv Neurol* 72 (1997), pp. 377–386.
124. Young W., Molecular and cellular mechanisms of spinal cord injury therapies. In: R.G. Kalb and S.M. Strittmatter, Editors, *Neurobiology of spinal cord injury*, Humana Press, Totowa (2000), pp. 241–276.
125. Anderson DK, Means ED, Waters TR, Green ES. Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg*. 1982 Jan;56(1):106-13.
126. Braughler, J. M., Hall, E. D., Means, E. D., Waters, T. R. and Anderson, D. K. (1987b) Evaluation of an intensive methylprednisolone sodium succinate dosing regimen in experimental spinal cord injury. *J. Neurosurg.* 67, 102-105.
127. Zhou Z, Daugherty WP, Sun D, Levasseur JE, Altememi N, Hamm RJ, Rockswold GL, Bullock MR. 1 “Protection of mitochondrial function and improvement in cognitive recovery in rats treated with hyperbaric oxygen following lateral fluid-percussion injury.” *J Neurosurg.* 2007 Apr;106(4):687-94.
128. Hall ED, Braughler JM, McCall JM. Antioxidant effects in brain and spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 1992 Mar;9 Suppl 1:S165-72
129. Espersen, G. T., Ernst, E. and Vestergaard, M. (1989) Changes in PMN leukocyte migration activity and complement C3d levels in RA patients with high disease activity during steroid treatment. *Scand. J. Rheumatol.* 18, 51-56.

130. Schleimer, R. P., Freeland, H. S. and Peters, S. P. (1989) An assessment of the effects of glucocorticoids on degranulation, chemotaxis, binding to vascular endothelium and formation of leukotriene B₄ by purified human neutrophils. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 250, 598-605.
131. Becker, J. and Grasso, R. J. (1985) Suppression of phagocytosis by dexamethasone in macrophage culture: inability of arachidonic acid, indomethacin and nordihydroguaiaretic acid to reverse the inhibitory response mediated by a steroid-inducible factor. *Int. J. Immunopharmac.* 7, 839-847.
132. Williams, K., Higgs, G. A. (1988) Eicosanoids and inflammation. *J. Pathol.* 156, 101-110.
133. Katori, M., Oda, T. and Nagai, K. (1990) Asite action of dexamethasone on leukocyte extravasation in microcirculation. *Agents Action* 29(1/2), 24-26.
134. Ledeen, R. W. (1978) Ganglioside structures and distribution: are they localized at the nerve ending? /. *Supramol. Struct.* 8, 1-17.
135. Skaper S.D. and Leon A., Monosialogangliosides, neuroprotection, and neuronal repair processes. *J Neurotrauma* 9 suppl 2 (1992), pp. S507–S516.
136. Imanaka T., Hukuda S. and Maeda T., The role of GM1-ganglioside in the injured spinal cord of rats: an immunohistochemical study using GM1-antisera. *J Neurotrauma* 13 3 (1996), pp. 163–170.
137. Faden A.I., Jacobs T.P., Mougey E. and Holaday J.W., Endorphins in experimental spinal injury: therapeutic effect of naloxone. *Ann Neurol.* Vol: 10 Issue:4 (1981), pp. 326–332.
138. Young W., Flamm E.S., Demopoulos H.B., Tomasula J.J. and DeCrescito V., Effect of naloxone on posttraumatic ischemia in experimental spinal contusion. *J Neurosurg* 55 2 (1981), pp. 209–219.
139. Seçkin Z., Alp M.S., Aykol Ş., Orbay T., Ataoğlu Ö. “Effects Of Different Types Of Drugs in Experimental Spinal Cord Injuries”; *Türk Nöroşirurji Dergisi* 2: 10–13. 1991.

140. Ildan F, Polat S, Oner A et al (1995) Effects of Naloxon on sodium and potassium activated and Magnesium dependent Adenosine- 5'-Triphosphatase activity and lipid peroxidation and early ultrastructural findings after experimental spinal cord injury. *Neurosurgery* 36:797-805.
141. Wallace M.C. and Tator C.H., Failure of blood transfusion or naloxone to improve clinical recovery after experimental spinal cord injury. *Neurosurgery* 19 4 (1986), pp. 489–494.
142. Sattler R. and Tymianski M., Molecular mechanisms of glutamate receptor-mediated excitotoxic neuronal cell death. *Mol Neurobiol* 24 1–3 (2001), pp. 107–129.
143. Faden AI, Lemke M, Simon RP, Noble LJ: N-methyl-D-aspartate antagonist MK-801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: behavioral, anatomic, and neurochemical studies. *J Neurotrauma* 1988, 5: 33-54.
144. Faden AI, Simon RP: A potential role for excitotoxins in the pathophysiology of spinal cord injury. *Ann Neurol* 1988, 23:623-6.
145. Li S, Tator CH. Effects of MK801 on evoked potentials, spinal cord blood flow and cord edema in acute spinal cord injury in rats. *Spinal Cord*. 1999 Dec;37(12):820-32.
146. Kırış T, Döşoğlu M, İzgi N: The effect of the NMDA antagonist Dizocilpine on lipid peroxidation in an experimental spinal cord trauma model in rat. *Medical Bulletin* 1999, 32:80-84.
147. Wada S, Yone K, Ishidou Y, Nagamine T, Nakahara S, Nijiyama T, Sakou T: Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect N-methyl-D-aspartate receptor antagonist. *J Neurosurg* 1999,91:98-104.
148. Gaviria M, Privat A, d'Arbigny P, Kamenka J, Haton H, Ohanna F:Neuroprotective effects of a novel NMDA antagonist, Gacydidine, after experimental contusive spinal cord injury in adult rats. *Brain Res* 2000, 25: 200-209.

149. Faden AI, Ellison JA, Noble LJ: Effects of competitive and non-competitive NMDA reseptör antagonists in spinal cord injury. *EurJ Pharmacol* 1990,175: 165-174.
150. Ehrlich M, Knolle E, Ciovica R, Bock P, Turkof E, Grabenwoger M, Cartes-Zumelzu F, Kocher A, Pockberger H, Fang WC, Wolner E, Havel M: Memantine for prevention of spinal cord injury in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1999, 118: 770-771.
151. Von Euler M, Lİ-Lİ M, Whittemore S, Seiger A, Sundstrom E: No protective effect of the NMDA antagonist memantine in experimental spinal cord injuries.
152. Agrawal SK, Fehlings MG: Role of NMDA and non-NMDA ionotropic glutamate receptors in traumatic spinal cord axonal injury. *J Neurosci* 33:1055-1063, 1997.
153. Wrathallm TR, Teng YD, Choiniere D: Amelioriton of fuctional deficits from spinal cord trauma with systemically administered NBQX, an antagonist of non-N-methyl-D-aspartate receptors. *Exp Neurol* 137:119-126,1996.
154. Wrathallm JR, Teng YD, Marriot R: Delayed antagonism of AMPA/Kainate receptors reduces long-term functional deficits resulting from spinal cord trauma. *Exp Neurol* 145: 565-573,1997.
155. Hassanzadeh, Jafar. “Deneyisel omurilik yaralanmasında eksitatör aminoasit reseptör antagonisti Dextrometorphan’ın lipid peroksidasyonuna etkileri” Uzmanlık tezi, İstanbul, 1992.
156. Guha A, Tator CH, Piper t Effect of a calcium channel blocker on posttraumatic spinal cord blood flovv. *J Neurosurg* 66:423-430,1987.
157. Kaynar MY, Erdinçler P, Tadayyon E, Belce A, Gümüstas K, Ciplak N. Effect of nimodipine and N-acetylcysteine on lipid peroxidation after experimental spinal cord injury. *Neurosurg Rev.* 1998;21(4):260-4.
158. Johnson SH, Kraimer JM, Graeber GM. Effects of flunarizine on neurological recovery and spinal cord blood flow in experimental spinal cord ischemia in rabbits. *Stroke.* 1993 Oct;24(10):1547-53.

159. Ford R.W. and Malm D.N., Failure of nimodipine to reverse acute experimental spinal cord injury. *Cent Nerv Syst Trauma* 2 1 (1985), pp. 9–17.
160. Rosenberg L.J., Teng Y.D and Wrathall J.R. Effects of the sodium channel blocker tetrodotoxin on acute white matter pathology after experimental contusive spinal cord injury. *J Neurosci* 19 14 (1999), pp. 6122–6133.
161. Teng Y.D. and Wrathall J.R., Local blockade of sodium channels by tetrodotoxin ameliorates tissue loss and long-term functional deficits resulting from experimental spinal cord injury. *J Neurosci* 17 11 (1997), pp. 4359–4366.
162. Schwartz G. and Fehlings M.G. Evaluation of the neuroprotective effects of sodium channel blockers after spinal cord injury: improved behavioral and neuroanatomical recovery with riluzole. *J Neurosurg* 94 2 suppl (2001), pp. 245–256.
163. Taoka Y, Ikata T, Fukuzawa K. Influence of dietary vitamin E deficiency on compression injury of rat spinal cord. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1990 Jun;36(3):217-26.
164. Anderson DK, Waters TR, Means ED. Pretreatment with alpha tocopherol enhances neurologic recovery after experimental spinal cord compression injury. *J Neurotrauma*. 1988;5(1):61-7.
165. Bozbuğa M, Izgi N, Canbolat A. The effects of chronic alpha-tocopherol administration on lipid peroxidation in an experimental model of acute spinal cord injury. *Neurosurg Rev*. 1998;21(1):36-42.
166. Inci S, Ozcan OE, Kiliç K. (1998) Time-level relationship for lipid peroxidation and the protective effect of alpha-tocopherol in experimental mild and severe brain injury. *Neurosurgery* 43: 330-335.
167. Anderson DK, Saunders RD, Demediuk P, Dugan LL, Braughler JM, Hall ED, Means ED, Horrocks LA. Lipid hydrolysis and peroxidation in injured spinal cord: partial protection with methylprednisolone or vitamin E and selenium. *Cent Nerv Syst Trauma*. 1985 Winter; 2(4):257-67.

168. Daneyemez M. Silicone microangiography of injured acute spinal cord after treatment with methylprednisolone and vitamin E in rats. *Spine*. 1999 Nov 1;24(21):2201-5.
169. Iwasa K, Ikata T, Fukuzawa K. Protective effect of vitamin E on spinal cord injury by compression and concurrent lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med*. 1989;6(6):599-606.
170. Iwasa K, Ikata T. An experimental study on preventive effect of vitamin E in spinal cord injury. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1988 Aug;62(8):767-75.
171. Katoli D, Ikata T, Katoh S, Hamada Y, Fukuzawa K. Effect of dietary vitamin C on compression injury of the spinal cord in a rat mutant unable to synthesize ascorbic acid and its correlation with that of vitamin E. *Spinal Cord*. 1996 Apr;34(4):234-8.
172. Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, Taoka Y, Takagi K. Effects of EPC-K1 on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine*. 2000 Jan;25(1):24-9.
173. Kaptanoglu E, Tuncel M, Palaoglu S, Konan A, Demirpençe E, Kiliñç K. Comparison of the effects of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. : *J Neurosurg*. 2000 Jul;93(1 Suppl):77-84.
174. Cayli SR, Kocak A, Yilmaz U, Tekiner A, Erbil M, Ozturk C, et al. Effect of combined treatment with melatonin and methylprednisolone on neurological recovery after experimental spinal cord injury. *Eur Spine J* 2004; 13: 724-32.
175. Genovese T, Mazzon E, Crisafulli C, Esposito E, Di Paola R, Muià C, Di Bella P, Bramanti P, Cuzzocrea S. Effects of combination of melatonin and dexamethasone on secondary injury in an experimental mice model of spinal cord trauma. *J Pineal Res*. 2007 Sep;43(2):140-53.
176. Ates O, Cayli SR, Gurses I, Turkoz Y, Tarim O, Cakir CO, Kocak A. Comparative neuroprotective effect of sodium channel blockers after experimental spinal cord injury. *J Clin Neurosci*. 2007 Jul; 14(7):658-65.

177. Walker, F. J., Sexton, P. W. and Esmon, C. T. (1979) The inhibition of blood coagulation by activated protein C through the selective inactivation of activated factor V. *Biochim. Biophys. Acta* 571, 333-342.
178. Fink MP, Macias CA, Xiao J, Tyurina YY, Delude RL, Greenberger JS, Kagan VE, Wipf P. Hemigramicidin-TEMPO conjugates: novel mitochondria-targeted antioxidants. *Crit Care Med.* 2007 Sep;35(9 Suppl):S461-7. Review.
179. Kalayci M, Coskun O, Cagavi F, Kanter M, Armutcu F, Gul S, Acikgoz B. Neuroprotective effects of ebselen on experimental spinal cord injury in rats. *Neurochem Res.* 2005 Mar;30(3):403-10.
180. Littarru GP, Tiano L. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2005 Nov;8(6):641-6.
181. Meyer MC, Rastogi P, Beckett CS, McHowat J. Phospholipase A2 inhibitors as potential anti-inflammatory agents. *Curr Pharm Des.* 2005;11(10):1301-12.
182. Hains B.C. Yucra J.A. and Hulsebosch C.E.h, Reduction of pathological and behavioral deficits following spinal cord contusion injury with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398. *J Neurotrauma* 18 4 (2001), pp. 409–423.
183. Resnick D.K., Graham S.H., Dixon C.E and Marion D.W., Role of cyclooxygenase 2 in acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 15 12 (1998), pp. 1005–1013.
184. Guven MB, Cirak B, Yuceer N, Ozveren F. Indomethacin Harmful in Spinal Cord Injury Treatment?: An Experimental Study *Pediatric Neurosurgery.* Basel:Oct 1999. Vol. 31, Iss. 4, p. 189-193 (5 pp.).
185. Frisbie, J. H. and Sharma, G. V. R. K. (1992) Circadian rhythm of pulmonary embolism in patients with acute spinal cord injury. *Am. J. Cardiol.* 70, 847-848.

186. Myllynen, P., Kammonen, M. and Rokkanen, P. (1985) Deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients with acute spinal cord injury: a comparison with non-paralyzed patients immobilized due to spinal fracture. *J. Trauma* 25, 541-546.
187. Taoka Y, Schlag MG, Hopf R, Redl H. The long-term effects of pre-treatment with activated protein C in a rat model of compression-induced spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2000 Dec;38(12):754-61.
188. Silistreli E, Kabakci B, Yilmaz E, Sonmez A, Erdal C, Karabay O, Catalyurek H, Canda S, Acikel U. Early protective effects of iloprost, a stable prostacyclin analog, during spinal cord ischemia in a rabbit model. *Heart Vessels*. 2005 Mar;20(2):66-71.
189. Harada N, Taoka Y, Okajima K. Role of prostacyclin in the development of compression trauma-induced spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma*. 2006 Dec;23(12):1739-49.
190. Tamura, K., Hirado, M. and Okamura, K. (1977) Synthetic inhibitors of trypsin, plasmin, kallikrein, thrombin, Clr, and Cl ester-ase. *Biochim. Biophys. Acta* 484, 417-422.
191. Saruhashi Y, Matsusue Y, Hukuda S. Effects of serotonin 1A agonist on acute spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2002 Oct;40(10):519-23
192. Young W. Spinal cord injury pathophysiology and therapy. In: Narayan RK, Wilberger JE, Povlishock JT (eds). *Neurotrauma*. New York: McGraw-Hill; 1996: 1079-1082.
193. Ramer MS, Harper GP, Bradbury EJ. Progress in spinal cord research- a refined strategy for the International Spinal Research Trust. *Spinal Cord* 2000; 38 :449-472.
194. Karamehmetoglu, Spinal Cord Injury and Stem Cell Therapy 1 Nisan 2006 tarihinde İstanbul'da yapılan VII. Medulla Spinalis Yaralanmaları Sempozyumu'nda sunulmuştur.
195. Başaran, Murat. “ Hipertermik iskemik ön hazırlık yönteminin omurili iskemik hasarına etkisi”, İstanbul, 2004.

196. Diaz-Ruiz A, Vergara P, Perez-Severiano F, Segovia J, Guizar-Sahagún G, Ibarra A, Ríos C. Cyclosporin-A inhibits constitutive nitric oxide synthase activity and neuronal and endothelial nitric oxide synthase expressions after spinal cord injury in rats. *Neurochem Res.* 2005 Feb;30(2):245-51.
197. Kaymaz M., Emmez H., Bukan N., Dursun A., Kurt G., Pasaolu H. and Pasaolu A. Effectiveness of FK506 on lipid peroxidation in the spinal cord following experimental traumatic injury. *Spinal Cord* (2005) 43, 22–26.
198. Celik M., N. Gokmen, S. Erbayraktar et al., Erythropoietin prevents motor neuron apoptosis and neurologic disability in experimental spinal cord ischemic injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 4 (2002), pp. 2258–2263.
199. Kaptanoglu E, Solaroglu I, Okutan O, Sürücü HS, Akbiyik F, Beskonakli E. Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg Rev* 2004;27:113-20.
200. Bracken MB, Collins WF, Freeman DF, Shepard MJ, Wagner FW, Silten RM, Hellenbrand KG, Ransohoff J, Hunt WE, Perot PL Jr, et al.: Efficacy of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *JAMA* 251: 45-52, 1984.
201. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR, Leo-Summers L, Aldrich EF, Fazl M, Fehlings M, Herr DL, Hitchon PW, Marshall LF, Nockels RP, Pascale V, Perot PL Jr, Piepmeyer J, Sonntag VK, Wagner F, Wilberger JE, Winn HR, Young W. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or trilizad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. *JAMA* 277: 1597-1604, 1997.
202. Kiwerski JE: Application of dexamethasone in the treatment of acute spinal cord injury. *injury* 24: 457-460,1993.
203. Otani K, Abe H, Kadoya S, et al: Beneficial effect of methylprednisolone sodium succinate in the treatment of acute spinal cord injury. *Sekitsu Sekizui* 7: 633-647, 1994.
204. Prendergast MR, Saxe JM, Ledgenwood AM, et al: Massive steroids do not reduce the zone of injury after penetrating spinal cord injury. *J Trauma injury Infection Crit Care* 37: 576-579,1994.

205. George ER, Scholten DJ, BUEchler CM, et al: Failure of methylprednisolone to improve the outcome of spinal cord injuries. *Am Surg*: 1995, 659-664.
206. Poynton AR, O'Farrell DA; Shannon F, et al: An evaluation of the factors affecting neurological recovery following spinal cord injury, *Injury* 1997, 28: 545-548.
207. Pointillart V, ME Petitjean, L Wiart, JM Vital, P LassieÂ, M ThicoipeÂ and P Dabadie "Pharmacological therapy of spinal cord injury during the acute phase" *Spinal Cord* (2000) 38, 71 ± 76.
208. Faden A.I., Opioid and nonopioid mechanisms may contribute to dynorphin's pathophysiological actions in spinal cord injury. *Ann Neurol* 27 1 (1990), pp. 67–74.
209. Geisler F.H., Coleman W.P., Grieco G. and Poonian D., The Sygen multicenter acute spinal cord injury study. *Spine* 26 24 suppl (2001), pp. S87–S98.
210. Hurlbert R.J., Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standard of care. *J Neurosurg* 93 1 suppl (2000), pp. 1–7.
211. Hurlbert R.J., The role of steroids in acute spinal cord injury: an evidence-based analysis. *Spine* 26 24 suppl (2001), pp. S39–S46.
212. Coleman W.P., Benzel D, Cahill et al. D.W., A critical appraisal of the reporting of the National Acute Spinal Cord Injury Studies (II and III) of methylprednisolone in acute spinal cord injury. *J Spinal Disord* 13 3 (2000), pp. 185–199.
213. Short D.J., El Masry W.S. and Jones P.W., High dose methylprednisolone in the management of acute spinal cord injury—a systematic review from a clinical perspective. *Spinal Cord* 38 5 (2000), pp. 273–286.
214. Bracken M.B. and Holford T.R., Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg* 79 4 (1993), pp. 500–507.

215. Çimşit M: Hiperbarik oksijenin kullanım alanları, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi, Hiperbarik Oksijenasyon Özel Sayısı, Cilt: 2, Sayı: 1, s:8-15,1984.
216. Çimşit M: Hiperbarik oksijen tedavisi, Sendrom Ed: Yalman A, Sayı: 6, 67-69,1990.
217. Jain K.K.(1999): History of Hyperbaric Medicine. In: Jain K.K. (edt): Textbook Of Hyperbaric Medicine 3th Ed., Seattle, Toronto, Bern, Göttingen, Hogrefe & Huber Publishers, p.2-10.
218. Çimşit M.(2009): Hiperbarik tedavinin tarihçesi. In: Çimşit M. Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama 1st Ed. Ankara, Eflatun Yayınevi, p.1-12.
219. Çimşit M.(2009): Hiperbarik Oksijenin Fiziksel ve Fizyolojik Esasları. In: Çimşit M. Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama 1st Ed. Ankara, Eflatun Yayınevi, p.23-34.
220. Kindwall E.P.(2002): The Physics of Diving and Hyperbaric Pressures. In: Kindwall E.P. Whelan H.T. (eds): Hyperbaric Medicine Practice 2nd Revised Edition, USA, Best Publishing Company, p.25-26.
221. Guyton A.C.: Oksijen ve Karbon Dioksitin Taşınması, Tıbbi Fizyoloji, Textbook of Medical Physiology, 7. Edition, Cilt I, Bölüm 41, s: 705-718, Nobel Kitabevi,1986.
222. Gill AL, Bell CN. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes. QJM 2004;97(7):385-95.
223. Çimşit M.(2009): Hiperbarik Oksijenin Etki Mekanizması. In: Çimşit M. Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama 1st Ed. Ankara, Eflatun Yayınevi, p.35-58.
224. Feldmeier JJ (2003) Hyperbaric oxygen: indications and results; the hyperbaric oxygen therapy committee report. Undersea & Hyperbaric Medical Society, Kensington, MD.
225. Jain K.K., Physical, Physiological and Biochemical Aspects of Hyperbaric Oxygenation. Textbook of hyperbaric medicine, p 302, 2nd Ed. 1996.

226. Çimşit M: "Oksijen radikalleri ve Hiperbarik oksijen tedavisi; korkular ve gerçekler, II. Ulusal Sualtı ve Hiperbarik Tıp Toplantısı, Toplantı Kitabı, s: 63-72, İstanbul, 1999.
227. Edmonds C, Lowry C, Pennefather J: Hyperbaric oxygen therapy, Diving and subaquatic medicine. A diving medical center publ, Sydney, NSW, Australia, chap: 28:493-505, 1980.
228. Hunt TK, Niinikoski J, Zederfeldt BH, Silver IA: Oxygen in wound enhancement, Cellular effect of oxygen. Hyperbaric oxygen therapy, Ed: Davis JC, Hunt TK, Undersea and Hyperbaric Medical Society Inc. Maryland, 11-24, 1977.
229. Grim PS, Gottlieb LJ, Bodie A, Batson E: Hyperbaric oxygen therapy, JAMA, 263(16), 2216-2220, 1990.
230. Park MK, Muhvich KH, Myers RA, Marzella R: Effects of hyperbaric oxygen in infectious disease. Basic mechanisms. Eds: Davis JC, Hunt TK, Elsevier Science Publ 1-16, New York, 1988.
231. Sheffield PJ: Tissue oxygen measurements. Problem wounds. The role of oxygen. Eds: Davis JS, Hunt TK, Elsevier, New York chap: 2: 17-51, 1988.
232. Hink J, Jansen E (2001) Superoxide and/or hydrogen peroxide responsible for some of the beneficial effects of hyperbaric oxygen therapy? Med Hypotheses 57:764-769.
233. Rubanyi G. M., Vanhoutte P. M. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. AmJPhysiol 1986; 250(5 pt 2): H822-H827.)
234. Demchenko I. T, Boso A. E., O'Neill T. J., Bennett P. B., Piantadosi C. A. Nitric oxide and cerebral blood flow responses to hyperbaric oxygen. JAppl Physiol 2000; 88(4): 1381-1389.
235. Morrow J. D., Hill K. E., Burk R. F. et al. A series of prostaglandin F2-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. ProcNatt Acad Sci USA 1990; 87(23): 9383-9387.

236. Bean J. W., Lignell J., Coulson J. Regional cerebral blood flow, O₂, and EEC in exposures to O₂ at high pressure. *J Appl Physiol* 1971; 31(2): 235-242.
237. Tjarnstrom J., Wikstrom T, Bagge U., Risberg B., Braide M. Effects of hyperbaric oxygen treatment on neutrophil activation and pulmonary sequestration in intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Eur Surg Res* 1999; 31(2): 147-154.
238. Chen Q., Banick P. D., Thorn S. R. Functional inhibition of rat polymorphonuclear leukocyte B2 integrins by hyperbaric oxygen is associated with impaired cGMP synthesis. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276(3): 929-933.
239. Beauchamp P., Richard V., Tamion F. et al. Protective effects of preconditioning in cultured rat endothelial cells: effects on neutrophil adhesion and expression of ICAM-1 after anoxia and reoxygenation. *Circulation* 1999; 100(5): 541-546.
240. Zhang F., Cheng C, Gerlach T. et al. Effect of hyperbaric oxygen on survival of the composite ear graft in rats. *Ann Plast Surg* 1998; 41(5): 530-534.
241. Tompach P. C., Lew D., Stoll J. L. Cell response to hyperbaric oxygen treatment. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997; 26(2): 82-86.
242. Piepmeier E. H., Kalns J. E. Fibroblast response to rapid decompression and hyperbaric oxygenation. *Aviat Space Environ Med* 1999; 70(6): 589-593.
243. Çimşit M.(2009): İndikasyon, Kontrindikasyon ve Yan Etkiler. In: Çimşit M. Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama 1st Ed. Ankara, Eflatun Yayınevi, p.127-144.
244. Hamilton-Farrell M, Bhattacharyya A. Barotrauma. *Injury*. 2004 Apr;35(4):359-70.
245. Plafki C, Peters P, Almeling M, Welslau W, Busch R. Complications and side effects of hyperbaric oxygen therapy. *Aviat Space Environ Med*. 2000 Feb;71(2):119-24.

246. Harabin AL, Survanshi SS, Homer CD: A test for variations in individual sensitivity to hyperbaric oxygen toxicity. UHM 1994; 21: 403-412.
247. Çimşit M.(2009): Oksijen Toksisitesi. In: Çimşit M. Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama 1st Ed. Ankara, Eflatun Yayınevi, p.71-88.
248. Hampson N. B., ed. Hyperbaric oxygen therapy: 1999 committee report. Kensington: Undersea and Hyperbaric Medical Society, 1999.
249. Yildiz S, Aktas S, Cimsit M, Ay H, Toğrol E. Seizure incidence in 80,000 patient treatments with hyperbaric oxygen. Aviat Space Environ Med. 2004 Nov;75(11):992-4
250. Torbati D, Church DF, Keller JM, et all: Free radical generation in the brain precedes hyperbaric oxygen -induced convulsions, Free Rad Biol&Med, 1992; 13: 101-6.
251. Chawko M, Auker CR, Mc Carron RM: Relationship between protein nitration and oxidation and development of hyperoxic seizures. Nitric Oxide. 2003; 9(1): 18-23.
252. Camporesi EM, Mascia MF, Thom SR: Physiological Principles of Hyperbaric Oxygenation; in Oriani G, Marroni A, Wattel F (eds): Handbook on Hyperbaric Medicine. Springer-Verlag, Berlin, 1996, pp: 35-58.
253. Kindwall EP: Contraindications and side effects to hyperbaric oxygen treatment, Hyperbaric Medicine Practice, Second Edition Revised, Best Publishing Company, chap 5, p: 83-98, 2002.
254. Molzbaninov EV, Chaika VK, Domanova AJ et al. Experience and prospects of using hyperbaric oxygenation in obstetrics. Proceedings of Seventh International Congress on Hyperbaric Medicine. 1983; 1: 139-141.
255. Stepanyants NA, Grinshpun EL, Popov VA et al. Hyperbaric oxygenation in the complex treatment of late toxicosis of pregnancy. Proceedings of the Seventh International Congress on Hyperbaric Medicine 1983; 1: 137-138
256. Feldmeier JJ, Heimbach RD, Davolt DA, Brakora MJ, Sheffield PJ, Porter AT. Does hyperbaric oxygen have a cancer-causing or -promoting effect? A review of the pertinent literature. Undersea Hyperb Med. 1994 Dec;21(4):467-75.

257. Feldmeier J, Carl U, Hartmann K, Sminia P. Hyperbaric oxygen: does it promote growth or recurrence of malignancy? *Undersea Hyperb Med.* 2003 Spring;30(1):1-18.
258. Mathieu D. Ed. 7th European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine. Springer, The Netherlands, 2006: 671-8
259. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Uygulanan Özel Sağlık Kuruluşları Hakkında Yönetmelik. 01.08.2001 tarih, 24480 sayılı Resmi Gazete
260. Çimşit M.(2009): Hiperbarik Oksijen Tedavisinde Opsiyonel indikasyonlar. In: Çimşit M. Hiperbarik Tıp, Teori ve Uygulama 1st Ed. Ankara, Eflatun Yayınevi, p.430
261. Kahraman S, Düz B, Kayalı H, Korkmaz A, Öter 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.
262. Higgins AC, Pearlstein RD, Mullen JB, Nashold BS Jr. Effects of hyperbaric oxygen therapy on long-tract neuronal conduction in the acute phase of spinal cord injury. *J Neurosurg.* 1981 Oct;55(4):501-10.
263. Murakami N, Horinouchi T, Sakurai M, Ejima Y, Matsukawa S, Kato M, Tabayashi K. Hyperbaric oxygen therapy given 30 minutes after spinal cord ischemia attenuates selective motor neuron death in rabbits. *Crit Care Med.* 2001 Apr;29(4):906-8.
264. Li Y, Zhou C, Calvert JW, Colohan AR, Zhang JH. Multiple effects of hyperbaric oxygen on the expression of HIF-1 alpha and apoptotic genes in a global ischemia-hypotension rat model. *Exp Neurol.* 2005 Jan; 191(1): 198-210.
265. Rosenthal RE, Silbergleit R, Hof PR, Haywood Y, Fiskum G. Hyperbaric oxygen reduces neuronal death and improves neurological outcome after canine cardiac arrest. *Stroke.* 2003 May; 34 (5):1311-6.

266. Niklas A, Brock D, Schober R, Schulz A, Schneider D.J Continuous measurements of cerebral tissue oxygen pressure during hyperbaric oxygenation—HBO effects on brain edema and necrosis after severe brain trauma in rabbits. *Neurol Sci.* 2004 Apr 15, 219(1-2):77-82.
267. Daugherty WP, Levasseur JE, Sun D, Rockswold GL, Bullock MR. Effects of hyperbaric oxygen therapy on cerebral oxygenation and mitochondrial function following moderate lateral fluid-percussion injury in rats. *JNeurosurg.* 2004 Sep; 101(3): 499-504.
268. Dave KR, Prado R, Busto R, Raval AP, Bradley WG, Torbati D, Pérez-Pinzón MA. “Hyperbaric oxygen therapy protects against mitochondrial dysfunction and delays onset of motor neuron disease in Wobbler mice.” *Neuroscience.* 2003;120(1):113-20.
269. Palzur E, Vlodavsky E, Mulla H, Arieli R, Feinsod M, Soustiel JF. Hyperbaric oxygen therapy for reduction of secondary brain damage in head injury: an animal model of brain contusion. *JNeurotrauma.* 2004 Jan; 21(1): 41-8.
270. Artru F, Chacornae R, Belvuze R. Hyperbaric oxygenation for severe head injuries: preliminary results of a controlled study. *EurNeurol* 1976; 14: (4): 310-318.
271. Rockswold SB, Rockswold GL, Vargo JM, Erickson CA, Sutton RL, Bergman TA, Biros MH. Effects of hyperbaric oxygenation therapy on cerebral metabolism and intracranial pressure in severely brain injured patients. *JNeurosurg.* 2001 Mar; 94(3): 403-11.
272. Shi XY, Tang ZQ, Xiong B, Bao JX, Sun D, Zhang YQ, Yao Y. Cerebral perfusion SPECT imaging for assessment of the effect of hyperbaric oxygen therapy on patients with postbrain injury neural status. *ChinJTraumatol.* 2003 Dec; 6 (6): 346-9.
273. Dong H, Xiong L, Zhu Z, Chen S, Hou L, Sakabe T (2002) Preconditioning with hyperbaric oxygen and hyperoxia induces tolerance against spinal cord ischemia in rabbits. *Anesthesiology* 96: 907-12.

274. Ren H, Wang W, Ge Z. Glasgow Coma Scale, brain electric activity mapping and Glasgow Outcome Scale after hyperbaric oxygen treatment of severe brain injury. *Chin J Traumatol* 2001 Nov; 4 (4): 239-41.
275. Holbach KH, Wassmann H, Linke D. The use of hyperbaric oxygenation in the treatment of spinal cord lesions. *Eur Neurol*. 1977;16(1-6):213-21.
276. Sukoff MH, Ragatz RE. Hyperbaric oxygenation for the treatment of acute cerebral edema. *Neurosurg* 1982; 10:(1): 29-38.
277. Al-Waili NS, Butler GJ, Beale J, Abdullah MS, Hamilton RW, Lee BY, Lucas P, Allen MW, Petrillo RL, Carrey Z, Finkelstein M “Hyperbaric oxygen in the treatment of patients with cerebral stroke, brain trauma, and neurologic disease.” *Adv Ther*. 2005 Nov-Dec;22(6):659-78.
278. Bennett MH, Trytko B, Jonker B. Hyperbaric oxygen therapy for the adjunctive treatment of traumatic brain injury. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004 Oct 18;(4).
279. McDonagh M, Carson S, Ash J, Russman BS, Stavri PZ, Krages KP, Helfand M. Hyperbaric oxygen therapy for brain injury, cerebral palsy, and stroke. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*. 2003 Sep;(85):1-6. Review.
280. Kubeck JP, Merola A, Mathur S, Brkaric M, Majid K, Shanti N, Caruso S, Yuan S, Lowe T, Dwyer A, Maher T, O’Brien M. End organ effects of high-dose human equivalent methylprednisolone in a medulla spinalis cord injury rat model. *Spine*. 2006 Feb 1;31(3):257-61.
281. Gülmen V, Zileli M: Deneysel omurilik yaralanması. Omurilik ve omurga cerrahisi 2nd ed. 2002; pp 951-956.
282. Golden ZL, Neubauer R, Golden CJ, Greene L, Marsh J, Mleko A. Improvement in cerebral metabolism in chronic brain injury after hyperbaric oxygen therapy. *Int J Neurosci*. 2002 Feb;112(2):119-31

VIII. ÖZGEÇMİŞ

1972 Ankara doğumluyum. İlköğretimimin ilk 3 yılını Ankara Namık Kemal İlkokulunda, son 2 yılını Kırıkkale Hürriyet İlkokulunda tamamladım.

Orta öğretimime Ankara Anadolu Lisesi almanca bölümünde başladım. Lise öğrenimim sırasında Almanya Köln Bergheim Gymnasium'da öğrenci değişim programına katıldım. Lise öğrenimimi Ankara Anadolu Lisesi almanca bölümünde tamamlayarak 1990 yılında mezun oldum.

Tıp eğitimimi Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden aldım. Üniversite eğitimim sırasında İngiltere Cheltenham International Language Center'da dil eğitimi aldım. Mezun olduğum 2000 yılından sonra üç yıl süreyle Antalya'da özel bir hastanede turizm hekimi olarak çalıştım.

2003 yılında İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.