

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN MEDULLA SPİNALİS İSKEMİ
MODELİNDE
ERİTROPOETİNİN NÖROPROTEKTİF ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ÇİĞDEM MUMCU**

**TEZ DANIŞMANI
YRD.DOÇ.DR. NEJMİ KIYMAZ**

VAN – 2007

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADP	: Adenozin difosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
AMPA	: Amino hidroksi metil izoksazol propionik asit
ASA	: Anterior spinal arter
ATP	: Adenozin trifosfat
BFU-E	: Küme şekillendiren eritroid ünitesi
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
CFU-E	: Koloni şekillendiren eritroid ünitesi
DNA	: Deoksi ribonükleik asit
EAA	: Eksitotoksik aminoasitler
EMG	: Elektromiyogram
EPO	: Eritropoietin
EPOR	: Eritroid prokürsör hücre yüzey reseptörleri
G-CSF	: Granülosit stimülatör faktör
GM-1	: Monosialotetraheksosil ganglioizid
HT	: Hidroksitriptamin
Htc	: Hematokrit
İP	: İntraperitoneal
İV	: İntravenöz
KBB	: Kan beyin bariyeri
KBY	: Kronik böbrek yetersizliği
L-NAME	: Nitro-L-arginin metil ester
M-CSF	: Makrofaj koloni stimülatör faktör
MP	: Metilprednizolon
NASCIS	: The National Acut Spinal Cord Injury Study
NO	: Nitrik oksit
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PGI2	: Prostatiklin
PLSA	: Posterolateral spinal arterler
PNL	: Polimorf nüveli lökositler
r-FEPO	: Rekombinant fare eritropoetini
r-hEPO	: Rekombinant insan eritropoetini
RNA	: Ribonükleik asit
SAK	: Subaraknoid kanama
SC	: Subkutan
SEP	: Somatosensoriyel evoked potansiyel
SKİ	: Spinal kord iskemisi
SOD	: Süperoksid dismutaz
SSS	: Santral sinir sistemi
TM	: Tirilazad mesilat
TRH	: Tirotropin salıcı hormon

İÇİNDEKİLER

TABLolar ve GRAFİKLER DİZİNİ.....	5
ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ.....	6
ÖNSÖZ	7
ÖZET	8
SUMMARY	10
1. GİRİŞ ve AMAÇ	12
2. GENEL BİLGİLER.....	14
2.1. Spinal Kord Anatomisi.....	14
2.1.1. Spinal kordun kan dolaşımı.....	15
2.2. Omurilik Travmalarında Hasar Mekanizmaları	18
2.2.1. Primer hasar mekanizmaları.....	20
2.2.2. Sekonder hasar mekanizmaları.....	21
2.2.2.1. Sistemik etkiler.....	21
2.2.2.2. Lokal vasküler etkiler ve spinal iskemi.....	22
2.2.2.3. Serbest oksijen radikalleri ve iskemi-reperfüzyon hasarı	24
2.3. Spinal Kord Hasarının Patolojisi.....	28
2.4. Aortik Kross-Klemp Uygulaması ve Spinal Kord İskemisi.....	31
2.5. Spinal Kord Perfüzyon Basıncı	32
2.6. Somatosensoriyel Evoked (Uyarılmış) Potansiyel Kayıtları.....	33
2.7. Modern Farmakoterapi Çalışmaları	33
I) Kortikosteroidler.....	34
II) 21-Aminosteroidler (Lazaroidler)	36
III) Opioid Reseptör Antagonistleri	36
IV) Gangliozidler	37
V) Tirotropin Salıcı Hormon (TRH) ve TRH Analogları	37
VI) Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar	37
VII) Kalsiyum Kanal Blokerleri.....	38
VIII) Sodyum Kanal Blokerleri ve Magnezyum.....	38
IX) Araşidonik Asit Metabolizması Modülatörleri.....	39
X) Diğer Tedavi Denemeleri.....	39
2.8. Eritropoetin.....	40
2.8.1. Yapısı ve fizyokimyasal özellikleri.....	40

2.8.2. Yapım yeri ve etki mekanizması	41
2.8.3. Eritropoetin reseptörleri	42
2.8.4. EPO farmakokinetiği ve metabolizması	44
2.8.5. EPO ve santral sinir sistemi	45
3. GEREÇ ve YÖNTEM	46
3.1. Anestezi	46
3.2. Cerrahi İşlem	46
3.3. İlaç Uygulamaları	46
3.4. Fizyolojik Parametreler	48
3.5. Nörolojik Değerlendirme	49
3.6. SEP Kaydı	49
3.7. Spinal Kord Histopatolojisi	50
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	50
4. BULGULAR	50
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ	69
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	91

TABLÖLAR ve GRAFİKLER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. İnsan omurilik yaralanmasında primer mekanizmalar	18
Tablo 2.2. Sekonder yaralanma mekanizmaları	22
Tablo 2.3. Akut spinal kord hasarının patolojisi	28
Tablo 2.4. Spinal kord hasarının kronik dönem patolojisi	30
Tablo 3.1. Tarlov Skalası	50
Tablo 4.1. Gruplar arası ortalama fizyolojik parametreler (ortalama $\pm$ standart sapma)	52
Tablo 4.2. İzotonik ve EPO verilmiş ratların SEP kayıtlarındaki N ₁₈ ortalama latans değerleri (msn) (ortalama $\pm$ standart sapma)	55
Tablo 4.3. Deneklerin uyandırılmalarını takiben yapılan nörolojik değerlendirme sonuçları	56
Tablo 4.4. Gruplara göre histopatolojik değerlendirme sonuçları	57
Grafik 4.1. Gruplar arası ortalama fizyolojik parametrelerin karşılaştırılması	52
Grafik 4.2. İzotonik ve EPO verilmiş ratların SEP kayıtlarındaki ortalama latans değerlerinin karşılaştırılması	55
Grafik 4.3. Gruplara göre histopatolojik değerlendirme sonuçlarının karşılaştırılması	57

ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1: Segmental arterin dalları	14
Şekil 2.2: Ön spinal arteri besleyen ön radiküler arterler	15
Şekil 4.1a: İzotonik verilmiş ratta SEP kaydı (preop)	53
Şekil 4.1b: İzotonik verilmiş ratta SEP kaydı (postop)	53
Şekil 4.2a: EPO verilmiş ratta SEP kaydı (preop)	54
Şekil 4.2b: EPO verilmiş ratta SEP kaydı (postop)	54
Resim 3.1: Ratın preop hazırlığı	48
Resim 3.2: Distal aortun bulunması	49
Resim 3.3: Klibe edilmiş distal aortun görünümü	49
Resim 4.1: Noniskemik görünüm	58
Resim 4.2: Hafif iskemi	59
Resim 4.3: Şiddetli iskemi	60

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimimde büyük emekleri bulunan, klinik bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, nöroşirürjide ilkeli, disiplinli ve bilimsel çalışmayı bana öğreten değerli hocalarım Sayın Anabilim Dalı Başkanımız Yrd.Doç.Dr. Nejmi Kıymaz'a, Sayın Yrd.Doç.Dr. Nebi Yılmaz ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Mehmet Arslan'a,

Aynı zamanda, tez projemin oluşturulma aşamasında ve tüm tez çalışmam boyunca yanımda olan, her türlü kolaylığı sağlayan, bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen, her konuda yardımcı olan, hoşgörüsü ve manevi desteğiyle bugünlere gelmemde en çok emek sahibi olan tez danışmanım Sayın Yrd.Doç.Dr. Nejmi Kıymaz'a,

Tezimin deneysel çalışma ve istatistik aşamalarındaki yardımlarından dolayı Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Haneî Özbek'e, SEP uygulaması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Ömer Anlar'a, histopatolojik değerlendirmede sonuca ulaşma aşamasında yardımcı olan Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. Süleyman Özen'e,

Uzmanlık eğitimim sırasında, özellikle zor günlerimde bana destek olan, çevirileriyle tezime katkıda bulunan, manevi ağabeyim Sayın Öğr.Gör.Dr. Hayati Çavuş'a, birlikte aynı sıkıntılara göğüs gerdiğimiz asistan arkadaşım Dr. Taner Yazıcı'ya,

Hayatımın her döneminde hep yanımda olan bana kazandırdıkları özgüven, ahlak, aile terbiyesi ve tıp eğitimime kesintisiz destekleri nedeniyle sevgili anneme ve rahmetli babama,

Bana her konuda güç veren, yaşantıma renk katan ve aile kavramını benim için daha da anlamlı hale getiren ve uzmanlık eğitimim boyunca ihmal etmek zorunda kaldığım sevgili eşim Mustafa Mumcu'ya, biricik kızlarım Aybüke ve Beyza'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Çiğdem MUMCU

VAN - 2007

ÖZET

Eritropoetin, son zamanlarda in vivo ve in vitro çalışmalarda serum growth faktör azlığı, eksitotoksisite, enflamasyon, travma ve hipoksi gibi çeşitli durumlarda nöroprotektif etkisi gösterilmiş olan bir hematopoetik sitokin hormondur. Bununla birlikte, ratlarda deneysel spinal kord iskemisinde olası nöroprotektif etkisi araştırılmamıştır. Bu çalışmada, ratlarda geçici global spinal kord iskemisi modelinde eritropoetinin varsayılan nöroprotektif etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada yirmibeş Sprague-Dawley cinsi erkek ratlar kullanıldı. Ratlar üç gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki 10 rata 20 dakikalık abdominal aorta oklüzyonundan sonra reperfüzyon başlarken, intraperitoneal serum fizyolojik verildi. İlaç uygulanan 10 rata ise yine 20 dakikalık abdominal aorta oklüzyonundan sonra reperfüzyon başlangıcında rekombinant insan eritropoetini (r-hEPO) (Eprex 2000, Cilag AG. International Zug, İsviçre) 2000 Ü/kg tek dozda intraperitoneal olarak uygulandı. Sham grubundaki 5 ratda abdominal aortaya cerrahi olarak ulaşıldı, fakat oklüzyon yapılmadı ve herhangi bir madde uygulanmadı. Denekler sakrifiye edilmeden fizyolojik ve biyokimyasal parametrelere bakıldı. Tüm deneklerin preoperatif ve postoperatif motor fonksiyonları değerlendirilip, somatosensoriyel evoked potansiyel (SEP) monitörizasyonu ve histopatolojik inceleme yapıldı. Her üç grupta fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde bir farklılık tespit edilmedi. Deneklerin fonksiyonel nörolojik durumları reperfüzyonun 24. ve 48. saatlerinde nörolojik skora kullanılarak değerlendirildi. Eritropoetin ile tedavi edilen deneklerde 48. saatte uygulanan klinik değerlendirmede, kontrol grubuna oranla nörolojik sonuçta anlamlı düzelme olduğu saptandı. Kontrol grubunda postop-preop latans değerleri arasındaki fark $4,54 \pm 1,53$ iken, EPO grubunda bu fark $2,41 \pm 1,11$ olarak bulundu. Bu değerlere göre 24. saatte alınan SEP kayıtlarında latanslarda uzama açısından, serum fizyolojik ve EPO verilen denekler arasında anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$). Reperfüzyon hasarlanması sonrasında 48. saatte sakrifiye edilen hayvanların spinal kordları, L₅ seviyesinden çıkarılarak fiks edildi. Spinal kordda aynı düzeyden alınan kesitlerin hematoxilen-eosin ile histopatolojik değerlendirilmesi yapıldı. Işık mikroskopisinde spinal kord ventral gri cevher alanında hiç iskemik motor nöron gözlenmeyen olgular noniskemik, az sayıda iskemik motor nöron bulunan olgular hafif iskemik ve motor nöronların çoğunluğunda iskemi saptanan olgular ise şiddetli iskemik olarak değerlendirildi. Noniskemik denek oranı EPO grubunda %60.0 olarak saptandı. Kontrol grubundaki deneklerin tümünde şiddetli iskemi bulgularının varlığı gözlemlendi. Sham grubunda histopatolojik ve nörolojik anormallik saptanmadı.

Bu sonuçlar, spinal kordun iskemi-reperfüzyon injürisinde oluşan nörolojik hasarın r-hEPO ile azaltılabileceğini göstermektedir.

SUMMARY

Erythropoietin is a hematopoietic cytokine-hormone that has recently been shown the neuroprotective effect against various situations such as excitotoxicity, ischemia, hypoxia, trauma, inflammation and serum growth factor deprivation in some in vivo and in vitro studies. However, it has not been possible to test the putative neuroprotective effect of erythropoietin in experimental spinal cord ischemia in rats. In this study, we evaluated the putative neuroprotective action of erythropoietin in transient global spinal ischemia model in rats. The present study involved 25 male Sprague-Dawley rats. The animals were divided into three groups. Serum physiologic was administered intraperitoneally to the ten rats in the control group at the beginning of reperfusion for a period of 20 minutes after abdominal aortal occlusion. Recombinant human erythropoietin (r-hEPO) (Eprex[®]) was administered as a 2000 U/kg/day intraperitoneal single dose to the ten rats in the EPO group at the beginning of reperfusion after 20 minutes of abdominal aortal occlusion. No occlusion was performed and no agent was administered to the five rats in the sham group, but the abdominal aorta was reached by means of surgical intervention. Before the animals were sacrificed, several physiological and biochemical parameters were investigated preoperative and postoperative motor functions were also assessed and somato-sensory evoked potential (SEP) monitoring and histopathological examinations were carried out. No differences were found between the physiological and biochemical parameters in each of the three groups. Functional neurological status of animals were evaluated at 24th and 48th hours of reperfusion by neurological scoring. Clinical evaluation used at 48th hour in animals revealed that systemic administration of erythropoietin has a significant ameliorating effect on neurological outcome comparing with control group. The difference between postop and preop latency values in control group is $4,54 \pm 1,53$ and in EPO group this difference is found like $2,41 \pm 1,11$. According to these results a significant difference was observed regarding the increased latency on SEP which has performed at the 24th hour between the groups who were given serum physiologic or EPO ($p < 0,001$). Animals were sacrificed 48th hour after reperfusion injury and their spinal cords were removed, from the level L₅ fixed and embedded. Histopathological evaluation was performed by hematoxylin-eosine-stained sections from the same levels of spinal cord specimens. Animals were evaluated as nonischemic; if there has been no ischemic neuron, animals were evaluated as moderate ischemia; if there has been a few ischemic neurons and animals were evaluated as severe ischemia if the most of neurons have been ischemic in light microscopy of motor neurons in the ventral gray horn of the spinal cords. The rate of

nonischemic rats were 60.0% in group EPO. All spinal cords of control group showed severe ischemia. No anomalies were observed in the sham group with respect to the histopathological and neurological findings.

These results indicate that neurological damage due to spinal cord ischemia-reperfusion injury can be reduced by r-hEPO.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Santral sinir sisteminin travmatik hasarlanması, elli yaş altındaki ölüm ve sakatlıkların en önemli nedenlerinden biri olma özelliğini halen devam ettirmektedir (1). Özellikle travmatik spinal kord hasarının toplum üzerindeki fiziksel, emosyonel ve sosyoekonomik etkileri ile birlikte, travmaya uğramış kişinin yaşam kalitesindeki bozulma, çok ciddi problemler olarak karşımıza çıkmaktadır (2).

Her yıl ABD’de ortalama 10.000-15.000 akut medulla spinalis yaralanmasına maruz kalan yeni vaka bildirilmekte, çoğu ülkede insidansın 20-40/1.000.000 arasında değişmesi ve bu vakaların yaş ortalamasının 16-30 olması, olayın toplum üzerindeki oluşturduğu travmanın büyüklüğü hakkında çok net bilgi vermektedir (3, 4, 5).

Spinal kord iskemisi ve takip eden parapleji, travma, kompresyon, şok ve özellikle torakoabdominal cerrahi sonrası gelişebilen ve nadir olmayan bir klinik tablodur (6, 7). Spinal kord iskemisi (SKİ) kliniğe paraparezi ve parapleji olarak yansımaktadır. Spinal kord iskemisinde motor fonksiyon bozuklukları torakoabdominal cerrahi gerektiren elektif vakalarda %0.2 insidansla izlenirken, aorta diseksiyonu ve rüptürü gibi acil cerrahi gerektiren durumlarda bu oran %40'lara ulaşmaktadır (8, 9).

Akut omurilik yaralanmasının tedavisine adanan araştırma çabaları, modern yaklaşıma değerli katkılarda bulunmaktadır, ancak kalıcı ve anlamlı derecede etkili ve aynı zamanda evrensel bir tedavi protokolü halen geliştirilebilmiş değildir (2, 10, 11).

Travma sonrası spinal kord hasarının yalnızca primer mekanik hasara değil, birçok sekonder patofizyolojik değişikliklere bağlı olduğu açıkça kabul görmektedir (6, 12, 13, 14, 15, 16). Primer hasarın medikal ya da cerrahi tedavisi yoktur, ancak sekonder değişiklikleri anlamak ve engellemek teorik olarak mümkün gözükmemektedir (17). Akut omurilik yaralanmasının modern tedavisi, özellikle yaralanma sonrası sekonder patofizyolojik mekanizmalarla oluşan hasarın azaltılmasına odaklanmıştır (18).

Spinal kordda iskemik hasarın önlenmesi amacı ile deneysel modellerde polietilen glikol, superoksid dismutaz, desferroksamin, papaverin, hidroklorid, kalsiyum kanal blokerleri, barbitüratlar, kortikosteroidler, perflorokarbonlar, naloksan gibi farmakolojik ajanlar, topikal veya sistemik olarak uygulanmıştır (9, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32). Ayrıca son yıllarda tavşanlarda oluşturulan deneysel spinal kord iske mi modellerinde siklohegzimid, caffeik asit, fenil ester, riluzole, ketamin, NG-nitro-L-arginin

metil ester (L-NAME), memantin, aktive protein C, intratekal tetrakain, iloprost, trimetazidin gibi maddelerin spinal kord hasarlanması üzerine etkileri araştırılmış ve sistemik kan basıncının artırılması, TRH, hipotermi, BOS basıncının azaltılması gibi pek çok tedavi şekli denenmiştir (23, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40). Eritropoezisi uyaran bir sitokin hormon olması nedeniyle günümüzde kronik böbrek yetmezliği olan ve diyaliz uygulanan hastalarda aneminin tedavisi için kullanılmakta olan eritropoetin (EPO)'in, santral sinir sistemi (SSS)'nde fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü yakın zamanda araştırılmaya başlanmıştır. Eritropoetin reseptörlerinin hipokampal ve kortikal nöronlarda saptandığı ve kemirgenlerde astrositlerin EPO ürettiği bildirilmiştir. Eritropoetin nöronlar üzerinde in vitro trofik etki göstermektedir. Eritropoetin'in in vivo ve in vitro global ve fokal serebral iskemi modelinde nöron koruyucu etkisi olduğu da kanıtlanmıştır (41, 42, 43, 44, 45). Literatür bilgilerine göre çalışmamız, bu ajanın ratlarda geçici spinal iskemi modelinde denendiği ilk çalışmadır.

Bu çalışmada, ratlarda oluşturulan spinal iskemi modelinde, intraperitoneal uygulanan eritropoetin'in spinal hücre hasarına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Anatomisi

Spinal kanal, vertebra cisimleri (korpus) ve arkusları tarafından oluşturulur. Spinal kanal, spinal kordu ve sinir köklerini, bunları besleyen damarları, spinal kordu saran zarları, yağ ve destek dokusunu çevreleyerek korur. Bu yapılar birbirleri ile yakın ilişkide olup, herhangi birinin cerrahi girişiminde diğeri de etkilenir.

Vertebral kolon 33 vertebradan oluşur. Erişkin dönemde sakral ve koksigeal vertebraların birleşmesi nedeniyle 24 vertebra fonksiyon görür. Her vertebra korpus, arkus, eklem çıkıntıları ve eklem yüzeylerinden oluşur. Dört eklem çıkıntısının aşağı ve yukarı çıkıntılar ile oluşturduğu faset eklemler, posterior stabilite yanında vertebranın fleksiyon, ekstansiyon ve lateral rotasyonunu da sağlar. Anterior ve posterior ligamentler, vertebra ön elemanlarını kafa kaidesi ve atlastan sakruma kadar uzanarak sararlar ve vertebral kolonun fleksiyon ve ekstansiyonda stabilitesini sağlarlar.

Spinal kord, beyin sapından başlayıp erişkinde L₁₋₂, bebekte L₃ seviyesinde bulunan konus medullaris'e kadar uzanır. Bu düzeyden sonra filum terminale şeklinde 1. koksigeal segmente kadar devam eder. Medulla spinalis'den çıkan kanalis vertebralis içinde bulunan ön ve arka kökler (radix anterior ve posterior), kanaldan çıkabilmek için foramen intervertebrale'de biraraya gelerek spinal siniri oluşturur. 3 koksigeal segmentin son ikisi rudimenter olduğu için de, bunlardan spinal sinir çıkmaz. Bu nedenle 33 medulla spinalis segmentinden 31 çift spinal sinir çıkar. 31 çift spinal sinirin dağılımı 8 servikal, 12 torasik, 5 lumbal, 5 sakral ve 1 koksigeal sinir şeklindedir (46). Segmental spinal sinirler korda her iki taraftan girer ve ayrılırlar. Medulla spinalisin her segmenti sol yarının bir ventral ve bir dorsal kökü ve sağ yarının benzer çifti olmak üzere dört köke sahiptir. Birinci servikal segment genellikle dorsal köklerden yoksundur. Medulla spinalisten çıkan 31 çift spinal sinirin herbiri ventral ve dorsal köke sahiptir. Her kök 1-8 ince sinir lifi demetinden yapılmıştır. Tipik bir spinal sinirin dorsal kökünde, ventral kökle birleşme yerine yakın olarak dorsal kök ganglionu (ganglion spinale) bulunur. Bu, sinir hücre gövdelerini bulunduran bir şişliktir. Kolumna vertebralisin dışındaki bir spinal sinir parçasına periferik sinir denir. Spinal sinirler, medulla spinalis segmentlerine karşılık gelen gruplara bölünür.

Gri cevher spinal nöronları içerir ve santral kanalı "H" şeklinde çevreler. Arka boynuz, sensoriyel fonksiyondan (ağrı, pozisyon hissi, dokunma ve ısı) sorumlu iken; ön boynuz,

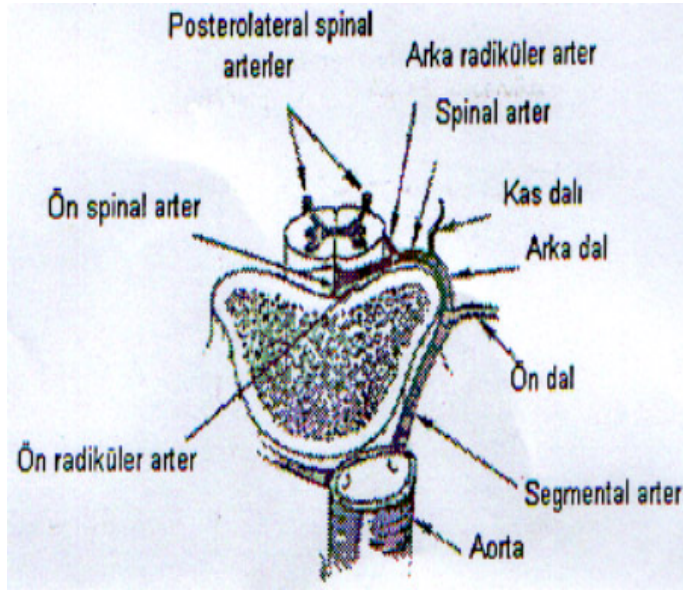
motor fonksiyon ve spinal reflekslerden sorumludur. Çevrede yer alan beyaz cevher ise, miyelinli ve miyelinsiz lifler aracılığı ile aşağı ve yukarı merkezlerin ilişkisini sağlar. Spinal sinirler, vertebra ile özel bir ilişki içindedir. Sinir kökleri, foramen intervertebrale aracılığı ile kolumna vertebralisten çıkar. Sekiz servikal sinir ve sadece yedi servikal vertebra olduğu için segmental spinal sinirler, 7. servikal vertebraya kadar aynı numaralı vertebranın üzerindeki foramenden, bu seviyenin altında 8. servikal sinir 7. servikal vertebranın altından çıkar (47). Omurganın alt parçasında numaralandırılmış kökler, kendilerine karşılık gelen vertebraların altından çıkarlar.

2.1.1. Spinal kordun kan dolaşımı

Spinal kord kan akımı, kaynakları ve dağılımı açısından karmaşık bir özellik gösterir. Cerrahi manipülasyon ve enstrümantasyon, direkt travma, bireysel anatomik değişiklikler, anestezi ajan ve teknikler, spinal kord kan akımı ve otoregülasyonunu etkileyebilir. Spinal kord kan akımı serebral kan akımının yaklaşık %40' ı, servikal ve lumbosakral bölgelerdeki kan akımı ise torasik bölgedekinin iki katı kadardır. Otoregülasyon ve kimyasal regülasyon yönünden spinal kord kan akımının düzenlenmesi serebral kan akımına benzerlik gösterir. Otoregülasyon 60-150 mmHg sınırları arasında mümkün olup, bu sınırlar dışında kan akımı basınca bağımlı hale gelir. Spinal kordun perfüzyon basıncı otoregülasyon sınırının altında tutulursa iskemi gelişebilir. Aynı şekilde spinal kord kan akımı, oksijen ve karbondioksit parsiyel basınçlarındaki değişimlerden serebral kan akımına benzer şekilde etkilenir. Kan akımı hipokapnide azalırken, hipokside vazodilatasyon sonucu artar. Bunların dışında spinal kord kan akımını etkileyen başka faktörler de vardır. Bunlar anestezi ajanların etkisi, travma varlığı ve şiddeti, fokal kanama alanları, ödem varlığı ve hasarlı nöronlardan vazokonstriktör nörotransmitterlerin salıverilmesidir (47,48).

Spinal kord, vertebral kolon boyunca uzanan bir anterior ve iki posterolateral arter ile vertebral foramenlerden sinir kökleri ile birlikte spinal korda ulaşan segmental arterler tarafından beslenir. Anterior ve posterior arterler arasında anatomik bir bağlantı yoktur. Bazen posterolateral spinal arterler (PLSA), postero-inferior serebellar arterlerden çıkabilmektedir. Anterior spinal arter (ASA), spinal korda segmental düzeyde bir kan akımı sağlar. ASA, spinal kord kanının %75'ini sağlamaktadır. Genellikle anatomik devamlılığı olan düz bir damar şeklindedir. Oysa PLSA daha çok plexus görünümündedir (49). Aorta ve dallarından çıkan, sayıları 25-30 çift arasında değişen segmental damarların ASA ile

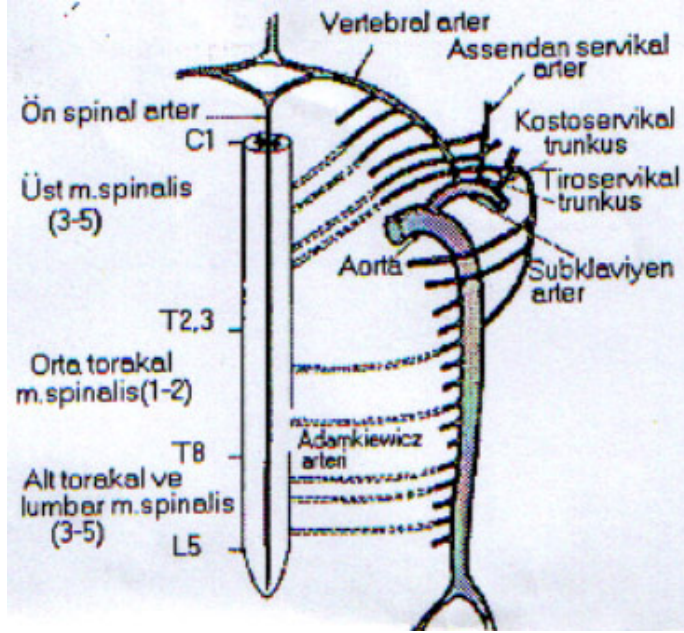
anastomoz yapabilme potansiyelleri vardır. Bunlardan 12-14'ü direkt olarak aortadan diğerleri ise vertebral arterler, tiroservikal ve kostoservikal turunkuslar ve iliak arterlerden çıkmaktadır. Bu damarlar arkaya doğru seyrederek anterior ve posterior kollara ayrılırlar. Anterior dal, interkostal arter olarak göğüs duvarında devam eder (Abdominal bölgede karın duvarının posterolateral bölümünü ve bel bölgesini kanlandırırlar.) Posterior dal ise, anterior ve posterior radiküler arterlere ayrılarak spinal arterlere ulaşırlar. Anterior radiküler arter, ASA ile birleşerek spinal kordun ve spinal korddan direkt olarak çıkan sinirlerin beslenmesine katkıda bulunur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Segmental arterin dalları

Spinal kordun üst bölümüne (C₁-T₂/T₃ düzeyi) 3-5 adet anterior radiküler arter beslenme desteği verirken, midtorasik bölüme (T₄-T₇/T₈) sadece bir adet anterior radiküler arter ulaşır, bazen o da yoktur. Spinal kordun alt torasik ve lomber bölümü ise (T₈-L₅) 3-5 adet anterior radiküler arterden beslenir. Bunlardan biri çok önemlidir ve radiküler arterlerin en büyüğü (radikularis magna) olup, “Adamkiewicz” adını almıştır (Şekil 2.2). Radikularis magna, spinal kordun beslenmesinin yaklaşık %25-50'sinden sorumlu olup, insanların %90'ında T₈-L₃ düzeyinden ve genellikle de sol taraftan çıkmaktadır (%20 sağdan) (50). Bu arterin varyasyonları, özellikle aortaya klempe uygulamaları esnasında oldukça büyük önem kazanmaktadır. Geniş çalışma serilerine göre insanlarda Adamkiewicz arteri %15 olguda T₅-T₈, %75 olguda T₉-T₁₂ ve %10 olguda ise L₁-L₂ düzeyinde aortadan çıktığı gösterilmiştir (51). Radiküler arterin bu anatomik varyasyonu ve spinal kanalın ön bölgesinin

kanlanmasının sadece bu sisteme bağımlı olması, aortaya klemp uygulanması esnasında kord iskemisini kaçınılmaz kılmaktadır. Wadough ve arkadaşları (52) bu arterin lomber spinal kord perfüzyonundaki önemini, ligatüre ettikleri deneklerin %70'inde parapleji geliştiğini göstererek vurgulamışlardır. Yerleştirilen klempin aortadaki seviyesine bağlı olarak nörolojik komplikasyon oranı değişmektedir. Lumbosakral spinal kordun özellikle ön boynuz kanlanması, hipogastrik ve sakral arterlerden sağlanmaktadır (53, 54).



Şekil 2.2: Ön spinal arteri besleyen ön radiküler arterler

Posterior spinal arterler, posterior inferior serebellar arterlerden kaynaklanarak spinal kord boyunca posterolateral şekilde dorsal köklerin medialinde aşağı doğru uzanırlar ve 25-40 posterior radiküler arterden dal alırlar. Posterior spinal arterler, sadece arka kolonu beslerler ve geniş anastamozlara sahip olduklarından herhangi birinin hasarı spinal kord iskemisi oluşturmayabilir.

Servikal segmentlerin altında bu üç arterden gelen kan akımı, radiküler arterlerin desteği olmaksızın spinal kordun metabolik ihtiyacını karşılamaya yetmez. Radiküler arterler çıkan servikal, derin servikal, interkostal, lumbal ve sakral arterler gibi segmental damarlardan köken alır ve intervertebral foramenden geçtikten sonra anterior ve posterior dallara ayrılarak, servikal seviyenin altında kan akımına başlıca desteği sağlarlar. Bu üç ana damar, yaygın bir arterioler ve kapiller ağ ile kordun içine kan akımını sağlar. Bu kapiller yatağın yoğunluğu, spinal kordun değişik bölgelerindeki metabolik yoğunluğu yansıtır. Gri

cevher, hücrelerinin aksonlara göre fazla enerji ihtiyacını yansıtacak şekilde beyaz cevherden 15 kat daha fazla kapiller içerir.

Spinal venler, spinal arterlere benzer bir dağılım gösterir. Anteromedian ve anterolateral venler, spinal kordun ön yüzü boyunca 6-11 tane anterior radiküler vene açılırlar, oradan da epidural venöz pleksusa boşalırlar. Epidural venöz pleksus (internal vertebral venöz sistem), eksternal vertebral venöz sisteme, oradan da kaval venlere açılır. Epidural sistemdeki venlerde valvler bulunmadığından gebelik, şişmanlık, intraabdominal basınç artışı veya inferior vena kavada obstrüksiyon gibi bazı durumlarda venöz göllenme kaçınılmazdır. Spinal kordun bazı bölgeleri azalmış kan akımına özellikle hassastır. Anterior spinal arter için T₁ ve L₁ seviyeleri, posterior arterler için ise T₁₋₄ seviyeleri en fazla risk altında bulunan bölgelerdir (21, 47, 48).

2.2. Omurilik Travmalarında Hasar Mekanizmaları

Akut omurilik yaralanması, modern toplumu fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan derinden etkileyen, ciddi ve harap edici bir nörolojik problem olması ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememesi nedeniyle halen önemini devam ettirmektedir (2, 55). Hayvan modellerinde fizyopatolojik süreçlerle ilgili toplanan bilgi birikimine ve tedavide başarılı ilaçların geliştirilmesine karşın, klinik planda sonuçlar hala tatmin edici değildir.

Omurilik travmaları ile ilgili en eski kayıt bundan 5000 yıl önce Mısır papirüslerinde vertebra dislokasyonuna bağlı el ve bacaklarını oynatamayan, hastalığı ümitsiz ve tedavi edilemez olarak tarif edilen bir erkek hastaya aittir (56, 57). 1911 yılında Allen'in deneysel medulla spinalis travma modelini geliştirmesi ile konuya ilgi artmıştır (58). Allen, köpeklerde laminektomi sonrası omurilik üzerine ağırlık düşürerek kontüzyon tipi omurilik hasarı oluşturmuş ve uygulanan myelotominin ve posttravmatik hematomiyelinin kaldırılmasının, nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağladığını ortaya koymuştur. Bu çalışma daha önce yapılmış olan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış, ayrıca sekonder hasar konseptinin de öncülüğünü yapmıştır (7, 12, 59).

Rivlin ve Tator tarafından 1978 yılında geliştirilen anevrizma klibi ile ekstradural kompresyon modelinde, omurilik çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede değişik miktarlarda travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde, klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir (12, 59). Bu modelin avantajı, omuriliğin tamamının travmaya maruz

bırakılarak aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki, bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (60).

Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde, omurilikte oluşan lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler, klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır (61). Bununla bağlantılı olarak, omurilik yaralanmasının patofizyolojisinde oluşan hasarın primer ve sekonder mekanizmalarla olabileceği düşüncesini desteklemektedir. Bunlar, birincil mekanik hasar ve bunun tarafından tetiklenerek oluşan ve birçok etkenin rol oynadığı sekonder hasarlanma konseptidir (12).

Akut omurilik travmalarında, ilk anda oluşan birincil yaralanma ve bunun başlattığı ikincil süreçler olmak üzere iki adet yaralanma söz konusudur (62). Omurilik travmalı hastalar primer mekanik travmanın etkisi ile tam veya kısmi kesiyle karşılaşabilmektedir. Kısmi yaralanmalarda, daha sonradan bu sürece eklenen ikincil değişiklikler tabloyu daha da kötüleştirmektedir. İkincil, otodestruktif, ilerleyici sürecin fizyopatolojisinde iskemi, biyokimyasal ve enflamatuar değişiklikler ve ödem formasyonu gibi birçok faktör gösterilmiştir .

2.2.1. Primer hasar mekanizmaları

Medulla spinalise darbe olduğu ilk anda nöron ve aksonlarda oluşan mekanik hasar, primer yaralanma olarak adlandırılmaktadır. Primer yaralanma, spinal kordun kendisine veya çevresindeki vertebral kolona ait çeşitli travma şekillerini takiben gelişir ve oluşan hasarın büyüklüğü, birçok biyomekanik faktöre bağlıdır ve kırılan kemik fragmanın derecesiyle ilişkili olmayabilir (7, 63) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. İnsan omurilik yaralanmasında primer mekanizmalar (63).

Mekanik Güç	Hasar Mekanizması
Darbe ve kalıcı kompresyon	Patlama fraktürü, fraktür-dislokasyon
Darbe ve geçici kompresyon	Hiperekstansiyon
Distraksiyon	Hiperfleksiyon
Laserasyon, transeksiyon	Patlama fraktürü, laminar fraktür, ateşli silah yaralanması

İnsan omurilik yaralanmasında en sık görülen mekanizma, bunlardan ilki yani darbe sonrası devam eden omurilik kompresyonudur (64). Bu özellikle akut disk rüptüründe, fraktür-dislokasyonda ve retropulse kemik fragmanın spinal korda bastığı patlama kırıklarında belirgindir. İkinci mekanizmada, yalnızca darbenin geçici süre ile olduğu kompresyon mevcuttur ve altta yatan dejeneratif servikal omurga hastalığı ön plandadır. Spinal kolonun aksial planda kuvvetle gerilmesine yol açan distraksiyon tipi üçüncü mekanizmada, spinal kord ve/veya onun kan akımını sağlayan elemanlarının gerilmesi ve yırtılması söz konusudur. Bu tip hasarda özellikle çocuklarda kartilajenöz vertebra cismi, kas yapısının tam gelişmemiş olması ve ligaman esnekliğinin predispozan olduğu, radyolojik olarak patolojinin bulunmadığı spinal kord hasarı mevcuttur. Ayrıca bu tip hasarda erişkinlerde travmanın radyolojik kanıtının olmadığı ve altta yatan dejeneratif omurga hastalığının sıklıkla eşlik ettiği bir durum olarak ortaya çıkmaktadır. En son primer hasar mekanizması laserasyon ve transeksiyondur. Laserasyon, mermi ile yaralanma, keskin kemik fragmanların dislokasyonu veya ciddi distraksiyon sonucu meydana gelir ve minör hasardan komplet transeksiyona kadar çeşitli derecelerde olabilir (55).

Medulla spinalis içindeki kanama, başlangıç mekanik hasar sonrası erken dönemde

ortaya çıkarken, kan akımının kesintiye uğraması daha geç meydana gelir. Kan akımının kesilmesi, hipoksi ve iskeminin neden olduğu lokal enfarkt sonucunu doğurur. Bu, özellikle yüksek metabolik gereksinimi dolayısıyla gri cevherin hasarlanmasına yol açar. Hasarlanan alandan geçen nöronlar fiziksel olarak kesintiye uğrar ve myelin kalınlıklarında azalma meydana gelir. Hasarlanan alandaki ödem ve makrofajlar, sinir iletilisinin bozulmasında diğer etkenlerdir (65).

Sonuç olarak, gri cevherin geri dönüşsüz hasarının ilk saatler içinde olduğu, beyaz cevherin ise 72 saat içerisinde geri dönüşsüz hasarlandığı düşünülmektedir (66).

2.2.2. Sekonder hasar mekanizmaları

Primer mekanik hasar, daha sonra haraplanmanın büyümesine neden olacak sekonder mekanizmaların oluşmasında merkezi bir işlev görür (55). Bu sekonder hasar mekanizmaları; nörojenik şok, hemoraji ve iskemi-reperfüzyonu içeren damarsal problemler, eksitotoksitite, kalsiyumla ilişkili sekonder hasar, sıvı elektrolit dengesizliği, immünolojik hasar, apoptoz ve mitokondrial disfonksiyonu içermektedir. Sekonder hasar meydana gelmesine neden olan mekanizmalar, sistemik ve lokal etkiler olmak üzere iki kısımda incelenmektedir (55, 61, 63) (Tablo 2.2).

2.2.2.1. Sistemik etkiler

Akut omurilik yaralanması, olası sistemik etkilerini nörojenik şok ve respiratuar yetmezlik olarak göstermektedir (55).

Nörojenik şok, vasomotor inputun ciddi paralizisinin neden olduğu yetersiz doku perfüzyonu olarak tarif edilmektedir. Bu tablo kardiyak output'un depresyonu ve periferik rezistansdaki azalma ile oluşan hipotansiyon ve bradikardi ile karakterizedir. Bu etkiler sempatik tonusun azalması ve artan vagal tonusa bağlı miyokardiyal fonksiyon bozulması ile ilişkilidir (67). Akut omurilik yaralanmasına bağlı gelişen spinal kord ve diğer organların iskemisine neden olan nörojenik şok tablosu, tedavi edilmezse nöral doku hasarını şiddetlendirir (55). Oluşan şokun derecesi meydana gelen omurilik yaralanmasının seviyesi ile ilişkilidir. Özellikle servikal düzeyde meydana gelen hasar, çok ciddi bir nörojenik şok tablosu ortaya çıkarabilmektedir (68). Travmatik spinal kordun otoregülasyonu kaybetmesi nedeniyle oluşan sistemik hipotansiyon, posttravmatik iskemiyi şiddetlendirmektedir ve bu

yüzden hemen tedavi edilmelidir. Ancak intramedüller hiperemi ve hemorajiden kaçınmak amacıyla kan basıncı, yalnızca normotansif seviyelerde tutulmalıdır (12).

2.2.2.2. Lokal vasküler etkiler ve spinal iskemi

Akut spinal kord travmasının başlangıcında ve daha sonra bunu takip eden aşamalarındaki çeşitli mekanizmaların meydana getirdiği etkilerle, omurilik üzerinde vasküler hasara bağlı ciddi değişiklikler oluşmaktadır. Bu vasküler hasar, hemorajik ve iskemik haraplanmayı beraberinde getirmektedir (55). Başlangıç mekanik travmaya bağlı olarak mikrosirkülasyonu oluşturan venüller ve kapillerdeki hasar, özellikle travma bölgesinde oluşmakta ve rostral-kaudal olarak uzanım göstermektedir. Ayrıca nadiren direk travmaya bağlı anterior spinal arter gibi geniş damarlarda hasar meydana gelmekte ve bu damarlar direk mekanik travmadan genellikle kurtulmaktadırlar (12, 69, 70).

Mekanik travmaya bağlı hasarın bu ilk fazında, medulla spinalis içerisinde özellikle gri cevherde peteşial hemorajiler ortaya çıkar. Bu mikrosirkülasyondaki travmaya bağlı olarak damarlardan oluşan proteinöz sızıntı, spinal kordda ödeme yol açarak kordaki basıncın artmasına ve kan akımının bozulmasına neden olur (71). Progresif posttravmatik iskemi birçok yaralanma modelinde değişik kan akımı ölçüm metodları kullanılarak gösterilmiştir (55).

Direkt travmaya veya diğer tetikleyici ajanlara bağlı oluşan vasospazmın da iskemide önemli rol oynadığı gösterilmiştir (55) .

Ayrıca tromboksan A₂ gibi bazı maddelerin salınması sonucunda oluşan intravasküler tromboz da posttravmatik iskeminin şiddetlenmesine neden olmaktadır. Diğer yapılan çalışmalarda, spinal kord otoregülasyonu bozuk olduğundan, travma sonrası meydana gelen sistemik hipotansiyonun iskemiye şiddetlendirdiği gözlenmiştir (55). Hasar gören kapillerden serbestleşen endotelin de kord perfüzyonunun bozulmasına yol açar (7).

Süperoksit, hidroksil radikalleri, NO ve diğer yüksek enerji oksidanları gibi oksijen derivesi serbest radikaller, iskemi süresince ortaya çıkmakta ve erken reperfüzyon periyodunda ciddi oranda artarak sekonder hasardaki patoloji mekanizmasında önemli rol oynamaktadırlar (55). Özellikle bu moleküller mitokondrial respiratuar enzim, glyseraldehit 3-fosfat, Na⁺ membran kanal inaktivasyonu, Na⁺-K⁺ ATP'az inhibisyonu yaparlar ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar (7).

Posttravmatik iskemi, adenozin 5' trifosfat üretimini deprese ederek, hücresel homeostazisinde önemli rol oynayan $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pompası gibi enerji bağımlı mekanizmaların disfonksiyonuna yol açar (7) .

Sekonder hasarda önemli rol oynadığı düşünülen posttravmatik iskemi konsepti, geri dönüşlü ve tedavi edilebilir olması nedeniyle önem taşımaktadır (55).

Tablo 2.2. Sekonder yaralanma mekanizmaları (61).

Sistemik Etkiler (Nörojenik şok)
Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi
Kan basıncında kısa süreli artış, sonra uzun süreli hipotansiyon
Periferik dirençte azalma
Kardiak debide azalma
Omurilik Dolaşımında Lokal Vasküler Hasar
Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma
Özellikle gri cevherde hemoraji
Mikrodolaşımda kayıp-mekanik, tromboz, vazospazm
Biyokimyasal Değişiklikler
Eksitotoksitite-glutamat
Nörotransmitter birikimi
Ketakolaminler-noradrenalin, dopamin
Araşidonik asit salınması
Serbest radikal üretimi
Eikosonoid üretimi
Prostaglandinler
Lipid peroksidasyonu
Endojen opioidler
Sitokinler
Elektrolit Kaymaları
İntrasellüler kalsiyumda artış
Ekstrasellüler potasyumda artış
İntrasellüler sodyumda artış
Enflamatuvar Yanıt
Serbest radikal üretimi
Makrofajlar
Aksonal yıkım, miyelin artıklarının salınımı
Sitokinlerin salınması
Glial hücre aktivasyonu
Oligodendrositlerde sitotoksik etkiler
Wallerian dejenerasyon
Ödem

Apopitozis

Enerji metabolizmasında kayıp

ATP üretiminde azalma

2.2.2.3. Serbest oksijen radikalleri ve iskemi-reperfüzyon hasarı

Son yıllarda serbest radikallerin, nöral doku iskemisini takiben meydana gelen patolojik değişikliklerden sorumlu olabildiği gösterilmiştir (17). Serbest oksijen radikalleri, bir molekülün dış yörüngesine bir tek elektronun eklenmesiyle oluşan yüksek reaktivitesi olan kimyasal bileşiklerdir. Kısaca tek sayıda elektrona sahip olan moleküllerdir (72, 73). Bir başka tanımlama ile oksijen radikalleri, moleküler oksijen metabolizması ve suya dönüşüm sırasında ortaya çıkan dış halkasında çiftlenmemiş elektron bulunan reaktif moleküllerdir (72, 73, 74, 75, 76, 77, 78).

Anyon, katyon veya nötral durumda bulunabilen serbest radikaller, diğer moleküllerle hızla kimyasal reaksiyona girerek molekül yapısını değiştirirler. Dış halkalarında bulunan çiftlenmemiş elektronu bir başka moleküle vererek veya başka bir molekülden elektron alarak stabil hale gelirler. Bu nedenle serbest radikaller oldukça reaktif ve saldırgan moleküllerdir.

Normal koşullarda oksijene dört adet elektron eklenebilir. Bir elektron eklenmesi süperoksit anyonun (O_2^-) oluşumuna neden olur. İki elektron eklenmesi hidrojen peroksit (H_2O_2), üçüncü elektronun eklenmesi hidroksit radikalinin ($\bullet OH$) oluşmasına neden olur. Son olarak, dördüncü elektron eklenirse su (H_2O) oluşur. Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali, enerji ihtiyaçlarını diğer moleküllerden elektron çalarak giderdikleri için, bunlara okside edici ajanlar adı verilir. İskemi esnasında dokudan salınan Fe^{++} iyonları, fenton reaksiyonu ile süperoksit radikallerinden olan ve reperfüzyon sırasında oluşan sellüler hasardan daha çok sorumlu hidroksil radikale dönüşümü kolaylaştırması nedeni ile önemlidir (72, 73, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85).

Solunum zincirinin son molekülü olan oksijenin normal metabolizması, yani elektron alarak suya indirgenmesi sırasında oksijen tüketiminin %1-2'si kadar süperoksit ve hidrojen peroksit yapımı söz konusudur. Şok, arteryel tromboembolizm, ince barsak torsiyonu, strongülasyon, aorta kross klemp konulması gibi patolojik durumlarda ksantin oksidaz metabolizması, nötrofil aktivasyonu, katekolamin oksidasyonu, prostoglandinler aracılığı ile oluşan oksijen radikallerinin etkin şekilde temizlenmemesi halinde bu radikaller; nükleik

asitleri, lipitleri, karbonhidratları ve glikoproteinleri de içine alan tüm biyolojik materyallerle bir zincir reaksiyonuna girerek reversibl, daha çok ise irreversibl değişikliklere neden olurlar (74, 86, 87). Bahsedildiği gibi bütün hücre komponentleri serbest oksijen radikallerine duyarlıdır. Hücre membranını oluşturan lipitler, özellikle doymamış çift bağ içeren serbest oksijen radikal etkisi ile lipit peroksitleri, lipit hidroksi peroksitleri ve aldehidleri oluştururlar. Serbest oksijen radikallerinin saldırdığı ikinci bir bölge ise hücrenin iyon transportunu ve hemostazını sağlayan membran proteinleridir. Buradan da açıkça anlaşılacağı gibi, oksidan stres hücre membranının en önemli iki komponentinin direkt fonksiyonlarını bozmaktadır (73).

İskemi ve reperfüzyon esnasında hücrede artmış olan serbest oksijen radikallerinin bazı kaynakları vardır (72, 73). En önemli kaynak olarak mitokondriler gösterilmektedir. İskemi sırasında elektron transport zincirinin bölümleri azalmaktadır. Kalan moleküler oksijen ve süperoksit anyonu ile reaksiyon yaparlar. Reperfüzyon ile tekrar enerji gereksinimi olduğu zaman, ADP azlığına bağlı olarak sitokrom oksidaz azaldığından serbest oksijen radikalleri açığa çıkar. Özellikle periferik dokular ile sinir sisteminde ksantin dehidrogenaz enzimin iskemi sırasında gösterdiği değişim, serbest oksijen radikallerinin oluşumu için belirleyicidir. Ksantin dehidrogenaz enzimi iskemi esnasında ve takip eden reperfüzyon döneminde ksantin oksidaza dönüşüm gösterir ve hipoksantin ve ksantinün ürik aside dönüşümünü katalizler. Reperfüzyon sırasında oksijen bu sistemle indirgenir. Bu sistemik yanıt sırasında serbest oksijen radikalleri, hücre membranlarında araşidonik asid kaskadı içinde katekolaminlerin oto-oksidasyonu ile oluşabilir. Bu mekanizmalar ile birlikte duyarlandırılmış nötrofillerden kaynaklanan serbest oksijen radikalleri doku hasarında önemli rol üstlenirler (80, 81, 82, 84, 85).

Atmosferde serbest oksijenin artması ile oksijen radikallerinin toksik etkisine maruz kalan organizmalarda, oldukça kompleks bir savunma sistemi gelişmiştir. Antioksidanlar, radikal oluşumunun engelleyicisi olarak görev alırlar. Enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Enzimatik antioksidanlar arasında SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz, glutatyon redüktaz, katalaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve epoksit hidroksilazlar sayılabilir. Bunun yanında nonenzimatik antioksidanlar ise vitamin E, Vitamin C, glutatyon, flavanoidler, butillenmiş hidroksi anizol, butillenmiş hidroksi toluen, tiol bileşikler, beta karoten, ürat, seruloplazmin, transferrin, albumin, haptoglobulin, likopen, desferroksamin, metalotiyonein, bilirubin ve ubikinon olarak sayılabilir (74, 86, 87, 88, 89, 90).

İskemi ve reperfüzyon hasarının önlenmesi ya da en asgariye indirgenmesi amacıyla

pek çok farklı deneysel modellerde, farklı antioksidan sistemlerin uyarılması esasına dayalı olarak araştırmalar yapılmıştır. Ancak bu araştırmaların hemen tamamı deneysel safha ile sınırlı kalmış ve hem tartışmalı sonuçları, hem de modellerin klinik uygulamaya uyarlanmasındaki imkânsızlıklar nedeniyle yeni araştırmalara ihtiyaç doğurmuştur.

İskemi sırasında hücrenin büyük bir kısmı, anoksiye bağlı biyokimyasal ve patolojik değişiklikler altındadır. Küçük bir kısmında, iskemi sonunda geri dönüşümsüz hasar ve nekroz oluşur. Hücresel enerji depolarının boşalıp, toksik metabolitlerin birikiminin hücre ölümüne neden olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır (88, 91, 92, 93). Enerji depolarında azalma ile daha önce bahsedilen mekanizmalara ek olarak iyon hemostazı bozulur. İyon hemostazındaki en önemli değişiklik potasyumun hücre dışına, kalsiyumun ise hücre içine doğru yönleneesidir. Kalsiyumun hücre içinde aşırı kümölasyonu, elektron transport zincirinde hasara neden olur. Ayrıca ksantin oksidazın aktivasyonuna neden olan kalsiyum duyarlı proteaz aktivasyonu oluşur ki, net sonuç serbest oksijen radikallerinin oluşumudur. Bunların sonucu olarak hücrede hem iyon dengesizliği ile oluşan hücresel ödem, asidoz, mitokondriyal membran disfonksiyonu gelişir, hem de serbest oksijen radikalleri aracılığı ile hücre membran yapısında farklılaşmalar oluşur. Hücresel iskemi, proteinlerin ve lipidlerin korunmasında önemli rol oynayan glutatyonun azalmasına yol açar (92, 94, 95). Yapılan alışmalar, kalsiyum kanal blokerlerinin, iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir (96).

İskemi sırasında açığa çıkan katekolaminler de oksidasyon potansiyeline sahiptir ve iskemiye cevapta anlamlı seviyelere yükselen katekolaminler, iskemik hasarın nedeni olarak gösterilmişlerdir (92).

İskemi sonrası oksidatif fosforilasyonun olmamasına rağmen, ATP'nin sentezlenmesindeki yetersizlik sonucu adenosin, inosin, hipoksantin, ksantin, AMP gibi adenin nükleotidleri oluşur. Reperfüzyon sırasında, reaktif oksijen metabolitlerinin major kaynağı olan ksantin oksidazın substratı olan hipoksantin konsantrasyonu ile aortik oklüzyon süresi arasında doğru ilişki gözlenmiştir. Ksantin oksidaz, normal koşullarda noniskemik sağlıklı hücrelerde NAD^{+} 'ye bağlı dehidrogenaz formundadır. Bu formda iken pürin oksidasyonu sırasında süperoksid veya hidrojen peroksid oluşumu söz konusu değildir. Doku iskemisi sırasında ksantin dehidrogenaz enzimi radikal üreten oksidan forma dönüşür. Bu da serbest oksijen radikallerini oluşturarak, reperfüzyon sırasında hücresel hasara neden olabilir (74, 84, 97, 98, 99).

Bir süre iskemik kalan organların reperfüzyonu kendini arteriyal vazospazm, intertisyel

ödem ve hemorajiye bağlı iskemi, venöz kollaps gibi mikrovasküler değişiklikler ve lökosit migrasyonu, adezyonu, platelet agregasyonu gibi hücre disfonksiyonu ile kendini gösteren ve reperfüzyon hasarı adı verilen doku hasarına sebep olabilir (74, 92, 100).

Klempin açılması ile oluşan cevabın önemli komponentlerinden biri, reaktif hiperemidir. Bu durum stimulusun kaldırılması ile vasküleritenin pasif dilatasyonu, oklüzyonun distalindeki dokulardan vazodilatasyon, metabolitlerin birikimi ve anoksinin düz kas vazodilatasyonu mekanizmaları ile oluşur (98, 100). Maksimum hiperemik cevap, klemp açılmasından 15 dakika sonra görülür. Akım, başlangıçtaki reaktif hiperemiyi izleyerek genelde düşer. Bu azalmanın nedeni endotelial hücrede şişme, nitrik oksit salınımında bozulma, platelet-nötrofil ile kapiller oklüzyondur. Aynı zamanda bu nedenlere kompleman aktivasyonu, endotelial geçirgenliğin artması, süperoksid radikallerinin oluşumu ve sitokin salınımı eşlik eder (92).

Reperfüzyon hasarının fizyopatolojisinde, polimorf nüveli lökositler ve reaktif oksijen metabolitleri önemli rol oynar. Reaktif oksijen molekülleri postiskemik dokularda lipid peroksidasyonu, inflamatuvar maddelerin oluşumu ve nötrofil aktivasyonuna neden olur.

Hidroksil radikallerinin başlattığı lipid peroksidasyon, hidroksi peroksit radikallerin, lipid hidroperoksidaz ve malondialdehit gibi lipid ürünü radikallerin ve degradasyon ürünlerinin oluşumuna neden olur. Bu nedenle malondialdehit düzeyi ölçümü ile lipid peroksidasyonunu değerlendirmek mümkün olabilmektedir (74, 86, 94).

Nötrofiller, moleküler oksijeni süperokside indirgeyen nikotin amid adenin dinükleotid oksidaz enzimi taşırlar. Ayrıca aktive olmuş nötrofiller, hidrojen peroksit ve klor iyonlarından meydana gelen hipoklorik asit oluşumunu katalize eden myeloperoksidaz enzimi salgırlar. Hipoklorik asit, hidrojen peroksitten yüz kat daha potent bir oksidandır. Hipoklorik asit, sülfhidrillerin oksidasyon yolu ile, hem proteini ve sitokrom inaktivasyonu, aminoasit ve proteinlerin degradasyonuna neden olarak sitotoksik etki gösterir. Böylece lökositler; kalp, ince bağırsak, iskelet kası, beyin, mide, akciğer ve böbrekte iskemi reperfüzyon hasarı oluşturur. Doku myeloperoksidaz enzimi aktivitesi tayini ile nötrofil göçü değerlendirilebilir. Süper oksid dismutaz (SOD) veya allopürinol verilmesinin, reperfüzyondan sonra mukozal myeloperoksidaz aktivite artışını önemli olarak azalttığı ve böylece mikrovasküler endotele lökosit göçü ve adezyonunu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca aktive olmuş nötrofiller, mikrovasküler ve parankimal hasar oluşturabilen elastaz ve kollajenaz gibi enzimleri de salgırlar (74, 98).

Yapılan bir diğer çalışmada nötrofillerin kemotaksisi, agregasyonu ve adezyonunda

rol oynayan CD₁₈'e spesifik monoklonal antikor kullanımı ile mikrovasküler permeabilite artışının ve myeloperoksidaz aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Süperoksit radikallerinin in vitro olarak lökosit agregasyonunu inhibe eden nitrik oksidi inaktive ederek de lökosit agregasyon ve adezyonuna neden olduğu düşünülmektedir (91, 101).

Özet olarak iskemik dokuların reperfüzyonu ile ortaya çıkan oksijen radikallerinin başlattığı lipid peroksidasyonu, sülfidril oksidasyonu, protein denatürasyonu, hem protein ve sitokrom inaktivasyonu ve lökotrien B₄ (LT₄), trombosit aktive edici faktör (PAF), C_{5a} gibi enflamatuar mediatörlerin salınımı, hücrel fonksiyonların bozulmasına ve nekroza neden olur (74, 91, 97, 99, 100, 101, 102).

2.3. Spinal Kord Hasarının Patolojisi

Akut spinal kord hasarında meydana gelen patolojik değişiklikler hakkındaki bilgiler, az sayıdaki klinik çalışmalardan daha ziyade yapılan deneysel çalışmalara dayanmaktadır. Burada dikkati çeken özellik, deneysel ve klinik çalışmalardaki patolojik değişikliklerin benzerlik göstermesidir (61) (Tablo 2.3). Medulla spinalis yaralanmalarında nöropatolojik bulgular yaralanmayı oluşturan etkenin şiddetine, süresine ve yaralanmadan sonra geçen zamana bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (103).

Tablo 2.3. Akut spinal kord hasarının patolojisi (61).

*Santral hemoraji: Kapiller, venüller ve arteriollerden özellikle gri cevher içine
*Hematomyeli
*Uzak kanamalar (özellikle venöz)
*Santral hemorajik nekroz
*Posttravmatik enfarkt
*Subaraknoid kanama
*Subdural veya ekstradural kanamalar (nadir)
*Ödem: Lokal, genişleyen
*Aksonal hasar: Transeksiyon, aksolemma rüptürü, şişme, dev aksonlar, organel kümelenmesi
*Myelin kılıf hasarı: Rüptür, veziküler ayrılma, periaksonal boşluklar
*Enflamasyon: Makrofajlar, mikrogliya

A) Erken Dönem Patolojisi

Akut hasarın en erken makroskopik bulguları, zedelenmenin şiddetine bağlı olarak kordda yumuşama, yuvarlaklaşma ve pembe-kırmızı renk değişikliği oluşmasıdır (104). Bu renk değişikliği, mikrokkanamalara ve venöz staza bağlıdır (103).

Erken döneme ait morfolojik değişiklikler travmayı takiben 4. saatte başlar, 8 ile 24 saat arasında nekroz, ışık mikroskobu ile görülebilir düzeydedir. İlk belirtiler gri cevherde peteşial kanamalar, beyaz cevherde ödemdir. Beyaz cevherde oluşan ödem nöropilde vakuoler şişme olarak izlenir. Travmayı takiben 12-18 saatte maksimuma ulaşır ve 3-5 günde şiddetini kaybeder, ancak yaklaşık 15 gün özellikle beyaz cevherde belirgin kalabilir (103).

Ayrıca travma sonrası eritrosit ve lökositler damar dışına çıkarlar. Eritrositlerin ekstrasvaze olmasıyla peteşial kanamalar oluşur ve kanın diğer şekilli elemanlarından öncelikle PNL'ler travma sonrası ortama hakimdir. Daha sonra ise lenfosit ve makrofaj hakimiyeti oluşur (105). Medulla spinalis parankimine ait travmatik değişiklikler olarak nöronlarda akson ve myelin kılıfının şişmesi ve bütünlüğünün kaybı gözlenir (106). Ultrastrüktürel düzeyde aksonlarda mikrotubul ve nöroflamanlarda kesilme ve parçalanma izlenir. Akson membranındaki hasara bağlı olarak, iyon kanallarında fonksiyonel bozukluk ve vasküler endotelyal hasar ortaya çıkar. Akson hafif şiddette hasarlandığında şişmiş, boğumlanmış ve kıvrımlanmış dejenerasyon gösterirken, daha ağır hasarda kesintili damlacıklar şeklinde görülür. Aksonun tamamen yırtıldığı veya koptuğu noktada "terminal tanecik" adı verilen terminal şişme görülür. Miyelin kılıf da hafif hasarda vakuoler dejenerasyon gösterirken, ağır hasarda miyelin ve aksonun birlikte parçalanmaları ile serbest yağ tanecikleri belirir (103, 106, 107).

Nöron hücresi öldüğünde 1-4 saat içinde hücre ve stoplazması üçgen şeklinde büzülür. Nüvede kromatin yapısının kabalaşıp parçalanarak dağılması, stoplazmada nissl cisimciklerinin kaybı ve koyu eozinofilik boyanma şeklindeki "kırmızı nöron" olarak adlandırılan değişikliğe uğrar. Ölen nöronlar makrofajlar ve mikroglialar tarafından fagosit edilirler ve bu olay travmadan 10-12 saat sonra ışık mikroskobunda saptanabilir (103, 108).

B) Subakut Dönem Patolojisi

Travmayı takiben 2-3 hafta sonra akut dönemdeki değişiklikler azalmaya başlamıştır. Ödem azalmış ve küçük kanamalar rezorbe olmuştur. Büyük kanamalar ise organizasyon ile

giderilmeye çalışılır ve rekanalizasyon izlenir. Damarların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır. Ortamda lipid ve hemosiderin yüklü makrofajlar mevcuttur. Fagositik hücreler hasarın olduğu alanda özellikle damarlar çevresinde rozetler halinde gruplar oluşturur (103, 109).

Myofibroblastların kollajen üreten fibrositlere dönüşümü ile nedbe dokusu oluşurken, astrositik glial hücre artışı ile gliosis izlenir (103). Eğer santral hemorajik nekroz oluşmuşsa, onarım boru şeklinde kistik boşluk olarak gerçekleşir. Aksonal bağlantısı kesilmiş nöronda "santral kromatolizis" olarak adlandırılan sitoplazmanın belirgin homojenizasyona uğradığı ve şiştiği, çekirdeğin ise kenara itildiği değişiklikler görülür. Nöron hücrelerinin aksonunda kesi olduğunda, aksonun distal kısmında wallerian dejenerasyon meydana gelir. Travmanın başında şişmiş olan spinal kord, onarım sonuna doğru incelmış ve atrofik görünüm almıştır. Deneysel çalışmalarda rejenerasyonun üç yıla kadar yavaş hızla devam ettiği gösterilmiştir (103, 109).

C) Kronik Dönem Patolojisi

Travma sonrasında 6 ay ve daha geç dönemde izlenen değişikliklerdir (61) (Tablo 2.4). Travma bölgesinde medulla spinalis üzerinde dura mater ve araknoid membran kalınlaşmıştır. Meningial zar, adeziv araknoidit olarak isimlendirilen korda veya duraya yapışıklık gösterir. Mikroskobik olarak fibrozis ve meningeal hücre proliferasyonu görülür. Medulla spinalis makroskopik olarak büzülerek küçülmüştür, gri ve sert kıvamlıdır. Skar dokusunun yanı sıra bazı nöronlarda aksonal rejenerasyon, schwan hücrelerinde remiyelinizasyon görülebilir (103).

Tablo 2.4. Spinal kord hasarının kronik dönem patolojisi (61).

Santral kavitasyon
Akson ve nöron nekrozu, posttravmatik enfarkt
Posttravmatik syringomyeli, kistik myelomalazi
Uzak nekrotik odak
Demiyelinizasyon
Enflamasyon
Wallerian dejenerasyon
Skar ve gliosis

Araknoidit

Atrofi

Rejeneratif süreçler-Aksonlar, schwann hücreleri, epandim

2.4. Aortik Kross-Klemp Uygulaması ve Spinal Kord İskemisi

Aortanın oklüzyonu, oklüzyon distalinde hipotansiyona ve spinal kord perfüzyon basıncının azalmasına neden olur. Maymunlarda 60 dakika süren aortik klemp uygulaması sırasında, lumbal ve torasik bölgede 100 gr doku için spinal kan akımının 20 ml/dk'dan 1,8 ml/dk düzeyine azaldığı saptanmış, spinal kord kan akımı 10 ml/dk'ya azalana kadar parapleji gözlenmezken, 4 ml/dk'ya azaldığında hayvanlarda parapleji geliştiği ve bu değerin parapleji gelişmesini önlemek için gerekli minimal spinal kan akımını ifade ettiği bildirilmiştir. Sinir dokusu iskemiyeye son derece hassastır. Normotermide 3-4 dakika süren iskemi sonrası mitokondrial oksidatif fosforilasyonun kesilmesi sonucu, adenosin trifosfat (ATP) depoları tamamen boşalır. Normotermik koşullarda adenosin trifosfat (ATP) depolarının tükenmesinin ardından 3-4 dk. içerisinde, mitokondriyal oksidatif fonksiyon ve dolayısı ile kalsiyum homeostazisini sağlayan ATP bağımlı membran pompalarının çalışması durur. İntrasellüler kalsiyum düzeylerinin artışı, sitoplazmik enzimlerin salınımını aktive ederek yapısal proteinlerin ve DNA (deoksiribo nükleik asit)'nin hasarlanmasına neden olur. İntrasellüler kalsiyum artışı, aynı zamanda reperfüzyon süresince aspartat ve glutamat gibi nörotoksik aminoasitlerin salınımına ve serbest radikallerin oluşumuna aracılık eden ksantin oksidaz üretimi ile sonuçlanır. Reperfüzyon ile birlikte, indirgenmiş nikotinamid dinükleotid fosfat varlığında ksantin oksidaz, moleküler oksijeni süperoksit radikallerine çevirir. Serbest radikaller, DNA hasarına, sellüler yapısal elementlerin parçalanmasına, membran bütünlüğünün bozulmasına ve vazoaktif prostoglandinlerin oranında artışa neden olur. Prostoglandinlerin üretimi, vazospazm ve mikrovasküler trombozlara neden olarak iskeminin daha da kötüleşmesine yol açar (21).

Aortik oklüzyon sırasında spinal kord kan akımı, klemp proksimalindeki damarlar tarafından sağlanır. Spinal kord hücrelerinin yaşaması kollateral arterlere bağlıdır. Aortun en distalinden ayrılan kollateral, Adamkiewicz arteridir ve alt torasik ya da üst lomber düzeyden ayrılarak spinal kord kan akımının önemli bir bölümünü karşılamaktadır. Bu arterin infra-

renal aortadan ayrılma sıklığı %25 ile %50 arasında değişmektedir. Adamkiewicz arteri, eğer aortaya kross-klemp uygulanan bölgenin distal kısmından ayrılıyorsa, bu koşulda anterior spinal arterdeki basınç distal aortadaki basınçtan daha az olabilir. Distal aortik cerrahi sonrasında parapleji gelişimine bakıldığında, dikkatler Adamkiewicz arteri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Paraplejinin temel mekanizması inen aortaya konulan kross-klemp ile ilişkili olduğundan, spinal iskemi ve reperfüzyonda kross-klemp süresi önem kazanmaktadır. Otuz dakikanın altındaki kross-klemp sürelerinin genellikle güvenli olduğu bildirilmiştir (98). Aortik oklüzyon sırasında parapleji gelişme riski dört bağımsız süreç arasındaki etkileşim ile belirlenir.

- Spinal kan akımında azalma
- Nöronal metabolizma hızı
- İskemi-reperfüzyon hasarı
- Reperfüzyon sonrasındaki kan akımı.

2.5. Spinal Kord Perfüzyon Basıncı

Distal aortik basınç ve beyin omurilik sıvısı (BOS) basıncı arasındaki fark olarak tanımlanan spinal kord perfüzyon basıncı, parapleji patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Torasik aortaya kross-klemp uygulaması, distal aorta ve anterior spinal arterde basınç azalması, BOS basıncında artış ve spinal aralığın kompliansında azalma ile ilişkilidir. Komplians, spinal aralıkta basınç ve volüm ile ilişkili olarak değerlendirilmektedir. Aortik kross-klemp uygulaması sırasında intrakraniyal basınç artışının en önemli nedeni, kross-klemp üzerinde meydana gelen arteriyel hipertansiyondur. Ayrıca dural aralıktaki venöz yatakta volüm değişikliklerinin de etkisinin bulunabileceği bildirilmektedir. Direkt ölçümlerde intrakraniyal dolaşan kan volümünde artış tesbit edilmiştir (110). Bu nedenle torasik aortik kross-klemp uygulaması sırasında görülen kan volüm redistribüsyonları, direkt olarak intrakraniyal basınç artışlarından sorumludur. Flebotomi uygulamaları, BOS basıncındaki artışları muhtemelen volüm redistribüsyonunu ve intrakraniyal hipervolemiyi modifiye ederek tersine çevirmektedir (111, 112). Aortik kross-klemp uygulaması süresince sodyum nitropürissid infüzyonu yapılan hastalarda, kontrol grubuna göre daha düşük spinal kord perfüzyon basıncı ve daha yüksek oranda parapleji izlenmektedir. Aortik kross-klemp distalinde basınç azalmasının neden olduğu spinal kord perfüzyon basıncındaki azalma ve serebral BOS basıncında artış, daha sonra serebral vazodilatasyon ile sonuçlanır.

Ayrıca aortik kross-klemp distalinde spinal kordun da içinde bulunduğu dokulara kan akımı, direkt olarak distaldeki basınca bağımlıdır. Bu direkt ve güçlü ilişki, aortik kross-klemp distalinde muhtemelen hipoksi ile indüklenen maksimal vazodilatasyon ile sonuçlanır (98).

2.6. Somatosensoriyel Evoked (Uyarılmış) Potansiyel Kayıtları

Akut spinal kord travmasında iskeminin takibinde somatosensoriyel evoked (uyarılmış) potansiyel (SEP) kayıtlarının önemli bir yeri vardır. Bugün için artık deneysel aşamalardan geçerek klinik kullanıma girmiştir. Akut spinal kord iskemisinde somatosensoriyel uyarılmış potansiyellere bakılması yöntemin non-invazif, objektif, tekrarlanabilir olması nedenleri ile tercih edilmektedir. Somatosensoriyel uyarılmış potansiyeller spinal cerrahide, torakoabdominal aorta cerrahisinde aortik oklüzyon süresince intraoperatif monitörizasyonda veya nörolojik hastalıklara uygulanan medikal tedaviye olan yanıt derecesinin ölçümünde kullanılmaktadırlar. SEP'lerin en önemli dezavantajı assendan sensoriyel traktuslardaki elektriksel iletimi ölçmeleri, motor fonksiyonları göstermemeleri olarak söylenebilir. Ancak bazı çalışmalar SEP'lerin spinal kordun anterolateral kısmındaki iletimi de gösterdiğini belirtmektedir (113, 114).

Bu çalışmada EPO'nun gross olarak spinal kord iskemisindeki koruyucu etkisi ölçülmek istendiği için, iskemi sonrası dorsal kolon hücrelerinin de diğer hücreler gibi aynı oranda hasara uğradığı düşünülerek SEP kayıtlarına bakılmıştır.

Latans ve amplitüd, bu teknikte izlenen iki önemli parametredir. Daha önceki çalışmalarda amplitüdde %15-20 oranında azalmanın, SEP değişiklikleri için anlamlı kriter olarak alınabileceği gösterilmiştir (33, 111, 115). SEP'de oluşan değişiklikler, distal latans süresinde uzama ve amplitüdlerde azalma şeklinde olmaktadır (116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136).

2.7. Modern Farmakoterapi Çalışmaları

Günümüzde akut omurilik yaralanmasının modern anlamda tedavisine yönelik çalışmalar, hasarın sekonder mekanizmalarla olan şiddetlenmesine odaklanmıştır (1,18). Geçen yıllar akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisi hakkında geniş bir bilgiye sahip

olmayı sağlamasına rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili, aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunamamış olması nedeniyle, özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir (2). Denenen birçok ajanın tedavide ümit verici etkilerine rağmen, yalnızca metilprednizolon'un geniş klinik çalışmalarda kabul gören tedavi şekli olmaya devam etmesi söz konusudur (18).

Spinal kord travmasına uğramış kişiler, sempatik tonus kaybına bağlı olarak, vasküler tonusta azalma ve kanın periferde göllenmesi ile birlikte hipotansiyon, bradikardi ve soğuk ekstremitelerden oluşan triad tablosu ile karşımıza nörojenik şok tablosu ile çıkabilirler (1). Bu aşamada etkili tedavi, iskemik hasarın şiddetlenmesine neden olabilecek sistemik hipotansiyon ve hipoperfüzyondan korunmaya yönelik olmalıdır (1, 18). İnvaziv hemodinamik monitörizasyon ile vasopressör destek ve sıvı tedavisinin özenle uygulanması, tedavi sürecinin ilk basamağını oluşturmaktadır (18). Başlangıç resüstasyon değerleri temin edilince, nörolojik fonksiyonları geliştirmeye ve devamına yönelik cerrahi ve/veya spesifik patofizyolojik hedeflere yönelik farmakolojik tedavi yöntemleri değerlendirilmelidir (1).

Akut omurilik yaralanmasına maruz kalmış hastalarda, cerrahi tedavinin zamanlaması ve endikasyonları konusunda çeşitli fikirler olmasına rağmen, birçok cerrah farmakolojik tedavi sürecinde nörolojik kötüleşme gösteren inkomplet hasarlı vakalarda erken cerrahi tedavi seçeneğini savunmaktadırlar (1).

Geliştirilmeye çalışılan farmakolojik tedavi protokolleri, ilerleyici nöral hasarın azaltılmasını hedeflemekte ve oluşan nörolojik sekelin en aza indirilmeye çalışılmasını amaçlamaktadır (18).

I) Kortikosteroidler

Akut omurilik yaralanmasının tedavisinde kortikosteroid tedavi, geniş laboratuvar ve klinik çalışmalarda denenmiştir (18). Kortikosteroidlerin başlangıçta kullanımı, spinal ödemi azaltıcı etkisine ve anti-inflamatuar özelliğine bağlanmıştır (137). İlk araştırmalarda sadece ılımlı yararı saptanmasına rağmen, yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Geniş klinik çalışmalarda Metilprednizolon'un nörolojik fonksiyonları anlamlı olarak düzelttiği belirtilse de, yapılan çalışmaların veri analizlerinin değerlendirilmesi ve çalışma şeklinin oluşturulmasına bağlı olarak çelişkili durumlar içermektedir (18).

Klinik çalışmalarda Metilprednizolon (MP), diğer kortikosteroidler olan Deksa-metazon ve

Hidrokortizon'a göre daha güçlü antioksidan özelliği ve hücre membranından daha kolay geçmesi nedeniyle ön plana çıktı (138). MP sentetik bir glukokortikoid steroid olup, güçlü anti-inflamatuvar etkisiyle birlikte akut omurilik yaralanması tedavisinde klinik olarak kabul görmüş tek seçenek olma özelliğini sürdürmektedir (1). MP'un spinal kord hasarını azaltıcı etkisini oluşturmalarının bir çok mekanizmaya bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunların; lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, doku kan akımının ve aerobik enerji metabolizmasının düzenlenmesi ile ilerleyici posttravmatik iskemiden korunma, nörofilament degradasyonun inhibisyonu, intrasellüler kalsiyum birikiminin engellenmesi, vazoaktif prostoglandin F_{2α} ve tromboksan A₂ formasyonunun inhibisyonu, spinal nöron eksitabilitesinin azaltılması olduğu düşünülmektedir (1, 18).

Spinal kord hasarında MP tedavisinin incelendiği ilk geniş klinik çalışma (The National Acute Spinal Cord Injury Study) NASCIS 1'dir. Bu çalışmada, akut omurilik yaralanmasına uğramış 330 hastaya ilk 48 saat içerisinde düşük ve yüksek doz MP uygulanmış ve plasebo kontrol grubu oluşturulmamıştır. Yapılan çalışmanın gerek plasebo kontrol grubunun olmayışı, gerekse ilacın hayvan deneylerinde gösterilen optimal dozunda verilmeyişi ve tedavinin travma sonrası erken dönemde başlamamış olması NASCIS 1'in yoğun eleştirilere uğramasına neden olmuştur (1). Bu nedenle daha sonra oluşturulan NASCIS 2 çalışmasında MP travmadan sonra ilk 8 saat içerisinde uygulandığında, plasebo grubu ile kıyaslandığında motor skorda iyileşme olduğu gözlemlendi. Buna bağlı olarak bu çalışma, travma sonrası sekonder hasar konseptini doğrularken, düzelme potansiyeli olan spinal aksonların varlığı düşüncesini desteklemiştir (18). NASCIS 2'de penetran travmalı olgular çalışma dışı bırakıldığından bu subgrup hakkında bilgi elde edilememiştir (18). Levy ve ark.'nın yaptığı retrospektif çalışmada penetran spinal kord travmalı hastalarda, MP tedavisinin sonuçları anlamlı derecede düzeltmediği tespit edildi (139).

NASCIS çalışmasının bir sonraki fazını oluşturan NASCIS 3'ün ilk sonuçları 1997 yılında yayınlandı. Travma sonrası uygulanan tedavi ile birlikte motor fonksiyon değişiklikleri ve fonksiyonel bağımsızlık ölçüsü değerlendirildi. Sonuç olarak, MP tedavisine travma sonrası ilk 3 saat içerisinde başlanırsa tedavinin 24 saat, 3-8 saat içerisinde başlanırsa 48 saat uygulamanın daha uygun olacağı yönünde bilgiler elde edildi (18).

II) 21-Aminosteroidler (Lazaroidler)

Yüksek doz MP ile lipid peroksidasyonun inhibisyonu, glukokortikoid reseptör ilişkili değil, daha çok antioksidan özelliğine bağlı olduğunun düşünülmesi, MP'dan daha potent antioksidan olan 21-Aminosteroidlerin geliştirilmesini sağlamıştır. Bunun için U 74600 F (tirilazad mesilat), beyin ve spinal kord hasarı üzerinde denenmiştir (18, 140, 141). Yapılan bir çalışmada, TM verilen kedilerde plasebo grubuna göre travma sonrası 4. haftada daha anlamlı düzelme olduğu gösterilmiştir (18). Yine Hall ve ark. 10 mg/kg TM verilen kedilerde spinal kord kan akımının, plasebo ve 3 mg/kg TM grubuna göre ciddi derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (141).

Yapılan NASCIS 3 çalışmasında; TM verilen grubun 24 saat MP uygulanan gruba benzer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiş, ancak TM grubuna da başlangıçta bolus MP verilmiş olması etkinin neye bağlı olduğu konusunda net sonuca ulaşılamamasına neden olmuştur. Bu nedenle TM ile ilgili ciddi planlanmış çalışmalara gereksinim olduğu bir gerçektir (18).

III) Opioid Reseptör Antagonistleri

Akut omurilik yaralanması sonrası endojen opioid seviyesinde artış ve opioid reseptör aktivasyonu, sekonder hasarın şiddetlenmesinde rol oynamaktadır (18).

Yapılan pek çok deneysel çalışmada opioid reseptör antagonistlerinin yararlı etkileri gösterilmiştir (142). Naloksan, üzerinde en çok çalışılan opioid reseptör antagonistidir ve birçok deneysel çalışmada omurilik yaralanması sonrası nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeyi arttırdığı gösterilmiştir (18). NASCIS 2 çalışmasının bir parçasını oluşturan Naloksan'ın plaseboya üstünlüğü gösterilememiş, ancak daha sonra yapılan veri analizlerinin tekrar değerlendirmelerinde travma sonrası ilk 8 saat içerisinde verildiğinde, lezyon altında düzelmenin plaseboya oranla çok daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte spesifik opioid reseptör antagonistlerinin daha faydalı olacağının düşünülmesi mümkündür (143). Bir κ -reseptör antagonisti olan Norbinolterfimin'in kedilerde oluşturulan akut spinal kord travması sonrası sonuçları anlamlı derecede düzelttiği gösterilmiştir (144). Ayrıca yine κ -reseptör antagonistlerin kullanıldığı diğer deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında sonuçlar olumlu gözükmemektedir. Sonuç olarak opioid antagonistlerin ilaç doz programı ve tedavi zamanlamasının tespiti için başka çalışmalara ihtiyaç vardır (18).

IV) Ganglioizidler

Ganglioizidler, santral sinir sistemi hücrelerinin membranlarının dış yaprağında yüksek konsantrasyonda bulunan kompleks asidik glikopeptidlerdir (18). Monosialotetraheksosilganglioizid (GM-1 Ganglioizid), SSS'de nöronların aksonlarında, myelin kılıflarında ve beyaz cevher içerisindeki glial hücrelerde bulunur (145). Deneysel SSS travmalarında GM-1 ganglioizid'in sinir rejenerasyonunu stimüle ettiği ve anterograd-retrograd dejenerasyona karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (18).

Ganglioizid'lerin öne sürülen etki mekanizmaları eksitator aminoasitlerin salınımını azaltmaları, protein kinaz C regülasyonu ve NO oluşumunu engellemelerine bağlıdır (142). Protein kinaz C'nin inhibisyonu posttravmatik iskemiden korunmada önemli görülmektedir (18).

V) Tirotropin Salıcı Hormon (TRH) ve TRH Analogları

TRH ve analoglarının; endojen opioidler, platelet aktive edici faktör (PAF), peptidolökotrienler ve eksitotoksik aminoasitler (EAA) gibi birçok otodestruktif faktörü antagonize ettikleri ve deneysel modellerde akut omurilik yaralanmasında faydalı olabileceği gösterilmiştir. Spinal kord kan akımını arttırdıkları, elektrolit balansını düzenledikleri, hücrel enerji düzeyini restore ettikleri ve lipid peroksidasyonunu azalttıkları düşünülmektedir (146).

TRH ve analoglarının MP, deksametazon, opioid reseptör antagonistleri, Ca^{+2} kanal blokerleri ve 5 HT reseptör antagonistleri ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda daha üstün oldukları görülmüştür, ancak omurilik yaralanmasında daha fazla çalışma ihtiyacı sürmektedir (18).

VI) Antioksidanlar ve Serbest Radikal Yakalayıcılar

Akut omurilik yaralanması sonrası lipid peroksidasyonu endojen antioksidanlar tarafından azaltılmaktadır (147). Ancak travma sonrası α - tokoferol, retinoik asit, askorbik asit, selenyum, koenzim-q gibi ubikinonlar benzeri antioksidanların seviyeleri hızla düşmektedir (140). Bu nedenle antioksidanların replasmanı lipid peroksidasyonuna bağlı

hasarın azaltılmasında etkili olabilir (18).

Deneysel spinal kord hasarı çalışmalarında Vit. A ve Vit. C tedavisinin faydalı olduğu gösterilmiştir (18). Yine yapılan birçok SSS yaralanma modelinde α -tokoferol tedavisinin doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (142).

VII) Kalsiyum Kanal Blokerleri

Intrasellüler kalsiyum birikimi, toksik nöral hücre ölümünün son ortak yolu olarak isimlendirilmekte ve spinal kord hasarının patofizyolojisinde integral rol oynamaktadır (18). Hücre içine kalsiyum akışı direk nörotoksik etkisine ek olarak, vasküler düz kas hücrelerinde vazospazma yol açar. Bununla ilişkili olarak kalsiyum kanal blokerlerinin yararlı etkilerinin travma sonrası mikrovasküler yapılarda oluşan vazospazma yönelik koruyucu özelliğine bağlı olabileceği düşünülmektedir (148).

Dihidropridin grubu kanal blokerlerinden Nimodipin, üzerinde en çok çalışılmış ajandır. Yapılan deneysel çalışmalarda Nimodipin'in yararlı etkilerinin ancak travma öncesi başladığında ortaya çıktığının görülmesi, tedavinin klinik kullanımının öneminin ve pratikliğinin sınırlanmasına neden olmuştur (18).

VIII) Sodyum Kanal Blokerleri ve Magnezyum

Spinal travma sonrası sekonder hasardan korunmada magnezyum replasman tedavisine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (18). Yüksek doz magnezyum tedavisinin (600 mg/kg $MgSO_4$), farelerde akut spinal kord hasarı sonrası aksonal fonksiyonlarda anlamlı gelişme sağladığı ve lipid peroksidasyonunda ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir (149).

Başlangıç travma sonrası hücre içi Na^{+2} miktarında ciddi bir artış söz konusudur. Bu nedenle sodyum kanal blokajının sekonder hasarın şiddetlenmesinin engellenmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir (18). Bu konuda Tetradoksin'in lokal uygulaması ile yapılan bir çalışmada travma sonrası fonksiyonel defisit azaltılmasında önemli olduğu gösterilmiştir (150). Schwartz ve Fehlings yaptıkları deneysel bir çalışmada, bir sodyum kanal blokeri olan Riluzol'un sistemik uygulanmasında ciddi nöropotektif etkileri olduğunu gösterdiler (151).

IX) Araşidonik Asit Metabolizması Modölatörleri

Araşidonik asidin tromboksan, prostaglandinler ve lökotrienlere dönüşümünden sorumlu olan enzim inhibisyonunu hedef alan tedavi girişimleri, akut omurilik yaralanması sonrası denenmiştir (18).

Prostasiklin (PGI_2), vasküler endotelden salınan güçlü vazodilatör ve platelet agregasyon inhibisyon etkisi olan doğal bir araşidonik asit metabolitidir (152).

Siklooksijenaz inhibitörleri, tromboksan sentetaz inhibitörleri ve prostoglandin I_2 ile yapılan kombine tedavinin rat omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir (18, 142).

X) Diğer Tedavi Denemeleri

Nörotropik büyüme faktörünün, deneysel omurilik yaralanmaları sonrası nöronal dejenerasyondan korunmada etkin olabileceği gösterilmiştir (18).

5-HT₁ ve 5-HT₂ alt grup serotonin reseptör antagonistleri ile yapılan deneysel çalışmalarda, travma sonrası faydalı olabilecekleri saptanmıştır. Bir potasyum kanal blokeri olan 4-aminopiridin'in, kronik spinal kord hasarında nörolojik fonksiyonların gelişmesindeki önemi vurgulanmıştır (18).

Günümüzde omurilik yaralanması sonrası hücre ölümünün apoptotik kaskadına yönelik terapötik korunma çabaları önem kazanmıştır (18). Bu yönde yapılan çalışmalarda zDEVD fmk ile yapılan kaspaz 3 inhibisyonun ve anti-apoptotik protein olan Bcl-2'nin deneysel kord hasarı sonrası nöroprotektif etkileri gösterilmiştir (153). Sitokinler, serbest radikal hasarı ve eksitotoksitite gibi sekonder hasar mekanizmaları ile tetiklenen apoptoz'da, bu etkene yönelik tedavinin programlı hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği düşüncesini desteklemektedir (18).

Siklosporin A, Ca^{+2} 'un tetiklediği mitokondri iç membranındaki permeabilite değişikliklerinin inhibisyonu ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu etkisi ile hücre ölümünden korunmada önemli olabileceği, deneysel travmatik kord hasarında ortaya konmuş bir ajandır (18).

Akut omurilik yaralanmasının patofizyolojisine yönelik modern tedavi girişimlerinin devam etmesi, bu yıkıcı problemin çözülmesindeki umudun artmasını sağlamaktadır (18).

2.8. Eritropoetin

2.8.1. Yapısı ve fizyokimyasal özellikleri

Eritropoietin (EPO), temel olarak böbreklerden salgılanan glikoprotein yapısında bir hormondur (154). Molekül ağırlığı, tespit metoduna göre 30.400 dalton ile 34.000 dalton arasında olup, %30 ile %49 oranında karbonhidrat ihtiva etmektedir. Bu karbonhidratın %11'ini sialik asit, %11'ini heksoz ve %8'ini N-asetilglukozamin'in oluşturduğu bildirilmektedir (155, 156). EPO molekülünün helikal yapısının, 2 uzun ve 1 kısa sarmal bağlantıyla birbirine paralel olmayan 4- α -heliksten oluşan bir globüler protein olduğu kabul edilmektedir (157). Plazmadaki eritropoetin molekül ağırlığı yaklaşık 30400 dalton'dur (158). EPO'nun etkisi, ünitelerle ifade edilir. Bir ünite, aç bırakılarak 5 μ mol kobalt⁺² verilen ratlarda üretilen EPO miktarı (serum EPO'sundaki artış) olarak tanımlanmıştır (159).

EPO, gen aracılığı ile üretilen 193 aminoasitlik bir proteindir ve hücrelerden salgılanma öncesinde N terminalinden 23 aminoasitlik bir rezidüel bölümü ayrılarak periferik kana verilir. Periferik kana salgılandığında karboksil terminalinde 166. pozisyonundaki arjininin uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. İnsan plazmasında, üriner EPO'da ya da pürifiye rekombinant EPO'da arjinin rezidüleri bulunmaz. Bu nedenle dolaşımdaki EPO 165 aminoasit içermektedir. 29. ve 133. pozisyonlarda olduğu gibi 7. ve 161. pozisyonlarda da sistein rezidüleri tarafından şekillendirilen iki disülfid köprüsü vardır. Yaklaşık %40'ı 3-N asparajin ile karbonhidrat ve 126. pozisyonundaki O-serin rezidülerinden oluşur. Karbonhidrat kısmı fukoz, mannoz, N-asetilglukozamin, galaktoz ve N-asetilnöraminik asitten oluşmaktadır. Terminal N-asetilnöraminik asit EPO metabolizması için önem taşımaktadır. Plazmadaki asialo-eritropoetin, galaktozun karaciğerdeki galaktoz reseptörlerine bağlanması nedeniyle dolaşımdan hızla uzaklaştırılır. Plazma EPO'su göreceli olarak sıcaklığa karşı stabil olan α -2 globulin yapısında olup, pH 3-4 arasında izoelektrik noktada saptanır. Pürifiye r-hEPO'su α ve β formunda, benzer biyolojik aktivitesi, moleküler kitleleri ve aminoasit bileşimleri olan hidroksi-apatit kolonlarından oluşmaktadır. Eritropoetin α formu, klinikte EPOjen olarak kullanılmaktadır ve β formuna göre daha yüksek oranda karbonhidrat kompozisyonu içerir (158).

2.8.2. Yapım yeri ve etki mekanizması

EPO, renal peritübüler interstisyel hücreler, hepatositler ve kupffer hücreleri tarafından sentezlenmektedir (160, 161, 162).

Jacobson ve ark. (163), bilateral nefrektomi yapılan ratlarda EPO üretiminin meydana gelmediğini belirterek, EPO'nun esas üretim yerinin böbrekler olduğunu bildirmişlerdir. Kronik böbrek yetersizliği (KBY) ve şiddetli anemisi olan hastalarda serum EPO seviyesinin oldukça düşük olduğu, bilinen klasik bilgiler arasındadır. Ancak renal transplantasyondan sonra bu seviyenin normale döndüğü bir çalışma ile ortaya konulmuştur (163). Anemi oluştuktan 1-1,5 saat sonra anemik fare ve ratların böbreklerinde ve karaciğerlerinde EPO-mRNA'sı tespit edilmiştir. Kanamadan sonra böbreklerde EPO-mRNA düzeyi, normale göre 200-1000 kat daha fazla belirlenmiştir (164, 165).

Beru ve ark. (166) ile Schuster ve ark. (167) yaptıkları çalışmalarda, anemi oluşturdıkları ratlarda karaciğerde eser miktarda EPO-mRNA belirlenmesine karşın dalak, beyin, kas ve akciğerlerde tespit edememişlerdir. Aneminin yanı sıra hipoksinin de EPO-mRNA ve EPO düzeylerini etkilediği bilinmektedir (167).

Anemide proksimal arterlerin daralması ve uç bölgelerde mevcut oksijenin kullanılamamasına bağlı olarak gelişen hipoksi sonucunda, proksimal renal tubulus hücrelerinin bulunduğu bölgede fokal hipoksi alanları ortaya çıkmaktadır (168). EPO, hipoksiye cevap olarak sentezlenir ve hormonun birikimi olmaması nedeniyle gerekli miktarı plazmada ve sadece biyolojik olarak aktif formda bulunmaktadır. Spivak (169), dolaşımdaki EPO seviyesi ile üretimi arasında negatif bir etkinin olmadığını bildirmiştir. Hipoksik uyarı, tüm EPO üreten hücrelerde homojen değildir. Aksine fokal bir alanda EPO üreten hücreler üzerine yapılan uyarılar bir eşik değere ulaştığında, bu fokal alanlarda EPO üretiminin başladığı bildirilmektedir (168).

Renal ve hepatik parankimada EPO üreten özel hücrelerin varlığı gösterilmiştir. Bu EPO üreten hücreler, renal parankimin interstisyumunda, tübüler bazal membranın dışında, çoğunlukla korteksin iç ve medulların dış kısmında bulunmaktadır (170). Anemide bu hücrelerin sayıları ve EPO-mRNA düzeyi artmaktadır. EPO üretimindeki aşırı artış, EPO-mRNA'yı üreten hücrelerin sayılarının artışıyla ilişkilidir (168, 171).

Birçok çalışmada (159, 160, 161) yetişkin karaciğerinin total EPO üretimine katkısının %10-15 olduğu saptanmıştır. EPO üretimi fetal dönemde böbrek ve karaciğer tarafından sentezlenirken, doğumdan hemen sonra büyük oranda sentezlenme böbreklerde oluşmaktadır (172).

Ayrıca yaş, cinsiyet, menstrüel siklus ve sigara dolaşımdaki EPO seviyesini etkilememektedir. Serum seviyesi, hipoksi ya da kanama olmadıkça sabittir. Serumdaki EPO'nun sabah en düşük, akşam en yüksek seviyede seyrettiği ancak, klinik olarak önemli olmadığı bildirilmektedir (173, 174).

Dalakta da EPO aktivitesinin tespit edildiği bildirilmiştir. Ancak splenektominin ya da dalakta ortaya çıkan hipoksinin, EPO sentezi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptanması üzerine, EPO sentezinin makrofaj kaynaklı olduğu sanılmaktadır (175, 176).

EPO'nun yıkımı, esas olarak karaciğer ve böbreklerde yapılmaktadır. Yıkımda esas fonksiyonu karaciğer üstlenmesine rağmen, nefrektomi yapılan ya da üreterleri bağlanan köpeklerde EPO'nun yarı ömrünün uzaması, böbreğin EPO metabolizmasında görev aldığını düşündürmektedir (163, 174, 177).

Hematopoezis, hematopoietik kök hücrelerden olgun kan hücrelerinin oluşumuna kadar geçen bir süreci tanımlar. İlk hematopoietik seri ön hücreler, çok yönlü (multipotent) farklılaşma kapasitesine sahiptir. Olgunlaşma ilerledikçe farklılaşma, tek bir yönde özelleşerek periferik kanda görülen olgun hücreleri meydana getirir (174).

EPO, primer olarak eritroid seri ön hücrelerin çoğalması (proliferasyon) ve olgunlaşmasını (maturasyon) uyarmak için kemik iliği üzerine etki eder. En az iki büyüme faktörü (IL-3, GM-CSF) tarafından uyarılan çok yönlü (pluripotent) hematopoietik kök hücreler, EPO'ya cevap veren spesifik eritroid seri ön hücrelere dönüşürler (177).

2.8.3. Eritropoetin reseptörleri

EPO, son zamanlarda tanımlanan büyüme faktörü reseptörleri ailesinin bir üyesi olan spesifik EPO reseptörüne bağlanır. Eritropoetin, eritroid progenitor hücrelerin diferansiyasyon ve proliferasyonunun stimüle edilmesi ve eritroid hücrelerin maturasyon sürecinde yaşama kabiliyetinin desteklenmesi şeklindeki spesifik etkilerinin, EPO'nun membran reseptörlerine bağlanması yolu ile ortaya çıktığı gösterilmiştir (178). Spesifik EPO reseptörleri, sadece insanlarda, sıçan eritroid hücrelerinde, eritrolökemik hücrelerde, eritroid elementlerinden zengin fetal karaciğer dokusunda, fare ve rat plasentasında ve megakaryositlerde tespit edilmiştir (179). Karaciğer, beyin, akciğer ve iskelet kasları gibi non-hematopoietik dokuların ve monositler ile lenfositler gibi non-eritroid hematopoietik hücrelerin EPO reseptörleri yoktur (180). EPO'yu bağlayan düşük ve yüksek affiniteli iki tip EPO reseptörü tespit edilmiştir (181). EPO reseptörleri, ilk olarak eritroid seri ön

hücrelerinde gösterilmiştir. Yüksek affiniteli reseptörlere bağlanma tam biyolojik etkinin ortaya çıkması için gereklidir (182). Eritroid hücrelerdeki EPO reseptörlerinin sayısı az (yaklaşık her hücrede 1000 molekül) ve değişkendir. EPO reseptörleri, insan küme şekillendiren eritroid hücresinde (BFU-E) otoradyografik olarak tespit edilebilir ve eritroid seri hücrelerin BFU-E'ler, koloni şekillendiren eritroid ünitesine (CFU-E) doğru olgunlaşma sürecinde bu reseptörlerin sayısında da artış gözlenir. CFU-E ile proeritroblast arasındaki bir dönemde hücre, yoğun EPO reseptörlerine sahip olup; proeritroblastın olgunlaşma sürecinde reseptör sayısında azalma gözlenir ve ortokromatik eritroblast evresinde reseptörler ortadan kalkar (180, 181). Reseptörün ekstrasitoplazmik bölümü EPO bağlayıcı bölge ve intrasitoplazmik C terminali ise sinyal iletimi ile ilgilidir. Bir nükleer DNA bağlayıcı protein olan GATA-1'in EPO reseptör regülasyon ve fonksiyonunda önemli rolü bulunmaktadır. EPO membran reseptörüne bağlanmasını takiben EPO, hücre içine alınır ve ardından parçalanır. İnsan CFU-E'de iki çeşit EPO reseptörü bulunmaktadır. Bu reseptörlere ait genin in situ hibridizasyonda 19. kromozomda bulunduğu açığa çıkarılmıştır. İnsan EPO reseptöründeki 508 ardışık aminoasit sırasının yaklaşık %80'inin fare EPO reseptörü ile homolog yapıda olduğu saptanmıştır. Reseptörlere bağlanmayı takiben EPO, endositoz yoluyla hızlı bir şekilde hücre içine alınır (179, 181). Bunun ardından hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, cAMP, cGMP, tirozin spesifik protein kinaz, fosfotidilinositol ve protein-kinaz C düzeylerinde artış görülmesi, EPO'nun bu yolla etkili olduğunu düşündürmektedir (161, 181).

Eritroid hücrelerdeki EPO reseptör etkileşimi ile aktive olan bu tipteki olaylar sonucunda hücrelerde proliferasyon, diferansiyasyon ve matürasyon fazlarının gerçekleştiği düşünülmektedir (158).

Önceleri EPO'nun hematopoetik sistem hücrelerindeki reseptörlere spesifik olarak bağlandığı düşünülürken (183), epitelyal hücrelerde (184, 185), nöral orijinli hücrelerde de EPO reseptörleri bulunduğu bildirilmiştir (186) ve ratlarda hipokampusta ve primer hipokampal nöron kültürlerinde EPO reseptörlerinin varlığı da gösterilmiştir (43, 44).

Hormonun hücre içine girişinden sonra total RNA sentezinde, glikoz ve Fe alımında, α ve β -globin gen transkripsiyonundaki artış, hemoglobin sentezini artırır (187). Bütün bu değişiklikler, eritroid seri hücrelerin olgunlaşmasına bağlı olarak retikülosit ve olgun eritrosit sayısındaki artışla sonuçlanmaktadır (188).

2.8.4. EPO farmakokinetiği ve metabolizması

EPO metabolizmasında primer organ karaciğerdir. Hormon, böbreklerde ve karaciğerde depolanmamaktadır. Dolaşımdaki EPO'nun konsantrasyonu, üretim oranını etkilemezken, plazma klirensi çok yavaştır (insanlarda 4-12 saat) ve plazma EPO seviyesinden bağımsızdır (189). Sağlam hayvanlarda EPO klirensi, hızlı ve yavaş olmak üzere iki fazlı bir şekilde olmaktadır (189). EPO 0.5 ml/dk oranında böbreklerden yavaş bir şekilde atılmaktadır (190).

EPO yarılanma ömrünün yaklaşık ratlarda 1,5-3,5 saat, tavşanlarda 8-10 saat, koyunlarda 11 saat ve köpeklerde 9 saat olduğu saptanmıştır. Normal insanlarda pürifiye r-hEPO ve endojen EPO'nun yarılanma ömrü 4-12 saattir (191, 192).

İntravenöz (İV) bolus doz olarak verilen pürifiye r-hEPO plazma klirensi eksponansiyel bir şekilde gerçekleşir. Eliminasyon yarılanma ömrü normal insanlar ve son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda 2-13 saat olarak bildirilmiştir. Plazma EPO klirensi yaklaşık 10 ml/dk'dan azdır. İnsanlarda pürifiye insan eritropoetini plazma volümüne bağlı olmakla birlikte dağılım volümü yaklaşık 30-100 ml/kg olarak belirlenmiştir. EPO üretiminin feedback kontrolü konusunda yapılan birçok çalışmada EPO'nun plazma düzeyleri ve böbrekte EPO üretiminin inhibisyonu arasında korelasyon saptanamamıştır. Artmış eritroid hücre metabolizması yolu ile EPO klirens oranının bir göstergesi olabilen eritron büyüklüğünün, periferik dolaşımdaki EPO sürvisi için anlamlı bir faktör olmadığı bildirilmiştir (158).

İnsanlarda r-hEPO, İV bolus verildiğinde doza bağlı seviyeler 1,5 saat içinde tespit edilir. İV yarılanma ömrü 5 saattir. Subkutan (SC) uygulamalardan sonra ise serum pik seviyesine 12-24 saat sonra ulaşır. SC yolla yarılanma ömrü yaklaşık 20 saattir. SC uygulama ile yüksek EPO seviyeleri 48 saat kadar kalır. EPO'nun metabolizması tam açık değildir. Bununla beraber, EPO'nun %3-10 kadarı değişmeden idrarla atılır. SC uygulamada daha düşük ancak, daha kalıcı EPO düzeylerinin olması, tedavide daha etkili olmaktadır. Ayrıca maliyeti de düşürdüğü için tedavide önemli bir avantaj sağlamaktadır. KBY hastalarında önerilen doz genellikle haftada 3 kez 50 Ü/kg SC EPO uygulamasıdır (193, 194, 195). Ortalama SC verilen dozun sadece %25'i absorbe olur. SC uygulama, İV ve İP uygulamadan daha etkindir (193,194). Ancak farelere haftada 3 kez İP olarak EPO enjekte edildiğinde hematokrit cevabının fazla olduğu tespit edilmiştir (196). EPO'nun İP olarak efektif kullanılabileceğine dair yayınlar vardır (197).

2.8.5. EPO ve santral sinir sistemi

Eritropoetin, eritrosit üretiminin kontrolünü sağlaması nedeniyle doku oksijenizasyonunun temel belirleyicisidir (183). Eritrosit formasyonunun stimülasyonu EPO'nun fizyolojik fonksiyonudur, bununla birlikte son zamanlarda EPO'nun nörotropik fonksiyonunun bulunduğu da söz edilmektedir (43, 44).

Glia ve nöronların EPO, makrofaj koloni stimülatör faktör (M-CSF) ve granülosit stimülatör faktör (G-CSF) gibi hematopoetik sitokinler ve çeşitli interlökinler ürettikleri bildirilmiştir. Ayrıca bu hücrelerde beyin gelişimi süresince ve beyin homeostazisinin sağlanmasında parakrin ve otokrin etkileşim yeteneğinin her ikisinin de bulunduğunu düşündüren bu peptidlere ait reseptörlerin üretiminin varlığı bildirilmektedir (183).

Primer astrosit kültürlerinde, düşük oksijen basınçlarında EPO üretiminin mRNA'sının artışı ile stimüle edildiği, ayrıca travmatik beyin yaralanması olan hastalardan elde edilen beyin omurilik sıvılarında da EPO saptandığı rapor edilmiştir. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda serebral iskemide EPO'nun santral sinir sistemine direkt uygulanması ile nöron ölümünün anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (45).

Kemirgenlerdeki nöral doku yüzeylerinde ve PC12 hücre hattı ve SN6 hücreleri gibi spesifik hücrelerde, fonksiyonel eritropoetin reseptörlerinin varlığına ait geniş kanıtlar bulunmaktadır (29). İnfantta BOS'da pikomolar miktarlarda eritropoetin varlığı bildirilmiştir. Gelişmekte olan insan beyinde, erken dönemlerde diferansiye olmamış nöroepitelyal hücrelerde EPO ve EPO reseptör immünoreaktivite varlığı açığa çıkarılmıştır. Daha sonra diferansiyasyon ile birlikte EPO reseptörlerinin astrositlerde ve nöronlarda saptandığı bildirilmiştir. Santral sinir sisteminde EPO'nun, hem astrosit hem de nöron kaynaklı olması, otokrin ve parakrin yollar aracılığı ile fonksiyon gösterdiğini düşündürmektedir. Eritropoetin ve EPO reseptörlerinin gelişmekte olan beyinde bulunması ve daha sonra da matür beyinde varlığının sürmesi nedeniyle EPO'nun gelişimsel ve daha sonra da homeostazisde rol aldığı şeklinde görüşler öne sürülmüş (184); hipoksik ortamda EPO üretiminin indüklenmesi ve eritrosit sayısında artış ile doku oksijenizasyonu için daha iyi koşullar sağlandığı bildirilmiştir (42).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, Neuroscience Araştırma Birimi Deney Hayvanı Laboratuvarında standart laboratuvar bakım koşullarında tutulan ve deney öncesinde nörolojik defisiti bulunmayan 25 adet (180-200 gr) Sprague-Dawley cinsi ratlar kullanıldı. Çalışmada kullanılan ratlar, randomize olarak 3 gruba ayrıldı.

3.1. Anestezi

Ratların anestezisinde, 50 mg/kg Ketamin HCl (Ketalar, 50 mg flakon, Eczacıbaşı) intraperitoneal (İP) yolla uygulandı. İdamesinde 25 mg/kg Ketamin uygulandı.

3.2. Cerrahi İşlem

Ratlar, anestezi sonrası extremitelerinden supin pozisyonunda flaster ile uygun zemine tespit edildi. Ratların karın derisi traş edildikten sonra, %10'luk povidon iyodür (Batticon solüsyon, Adeka) ile cerrahi bölge sterilize edildi (Resim 3.1). Steril örtü ile örtülmesini takiben, steril cerrahi şartlarda çalışılarak cerrahi işleme başlandı. Ksifoid altından orta hatta 5 cm'lik kesi yapılarak cilt ve fasiya geçildi. Periton açıldı. Barsaklar sağ tarafa devrildi (Resim 3.2). Retroperitoneal bölgeye ulaşarak abdominal aorta, sol renal arterin hemen altından iliak bifurkasyona kadar serbestleştirildi. Abdominal aorta, sol renal arterin hemen distalinden ve iliak bifurkasyon hizasından anevrizma klibleriyle klempe edildi (Resim 3.3). Palpasyonla nabız olmadığı kontrol edildi. 20 dakikalık oklüzyon ile iskemi sağlandı. 20 dakika sonrasında klibler alındı. Reperfüzyon dönemi sonrası tüm cerrahi kesi alanları 4/0 atravmatik ipekle sütüre edildi, steril olarak kapatıldı. Deneklerde spontan göz açma ve ekstremitelerde hareketlenme çabaları başladığında denekler kafeslerine konuldu.

3.3. İlaç Uygulamaları

Çalışmada ratlar randomize olarak 3 gruba ayrıldılar. İlaç tedavileri aortik oklüzyonun

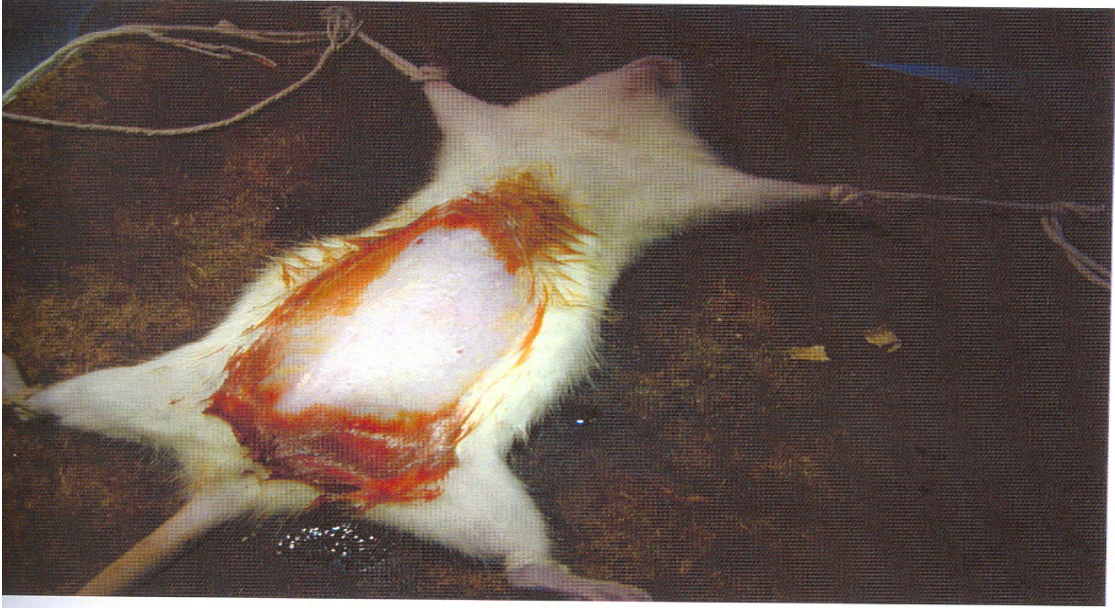
serbestleştirilmesinden hemen sonra, reperfüzyonun başlangıcında rekombinant insan eritropoetini (r-hEPO)'nin (Eprex 2000, Cilag AG. International Zug, İsviçre) 2000 Ü/kg dozda intraperitoneal olarak verilmesi ile gerçekleştirildi.

Kontrol grubundaki deneklere ise tedavi gruplarında uygulanan eritropoetine eşit hacimde serum fizyolojik, yine aortik oklüzyonun kaldırılmasından hemen sonra intraperitoneal olarak uygulandı. Sham grubunda yer alan deneklerde, abdominal aortaya aynı cerrahi teknik ile ulaşıldı, aort çevre dokulardan ince diseksiyon ile ayrıldı, ancak abdominal aorta oklüde edilmedi.

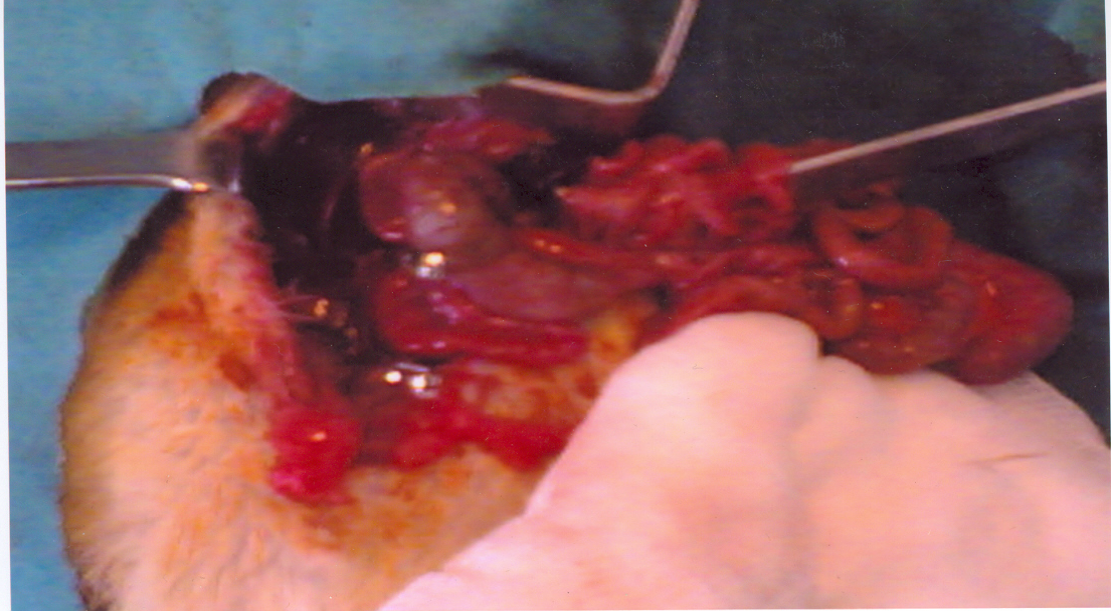
Kontrol grubu (n:10) : Reperfüzyonun başlangıcında serum fizyolojik İP verildi.

EPO grubu (n:10) : Reperfüzyonun başlangıcında r-hEPO 2000 Ü/kg İP verildi.

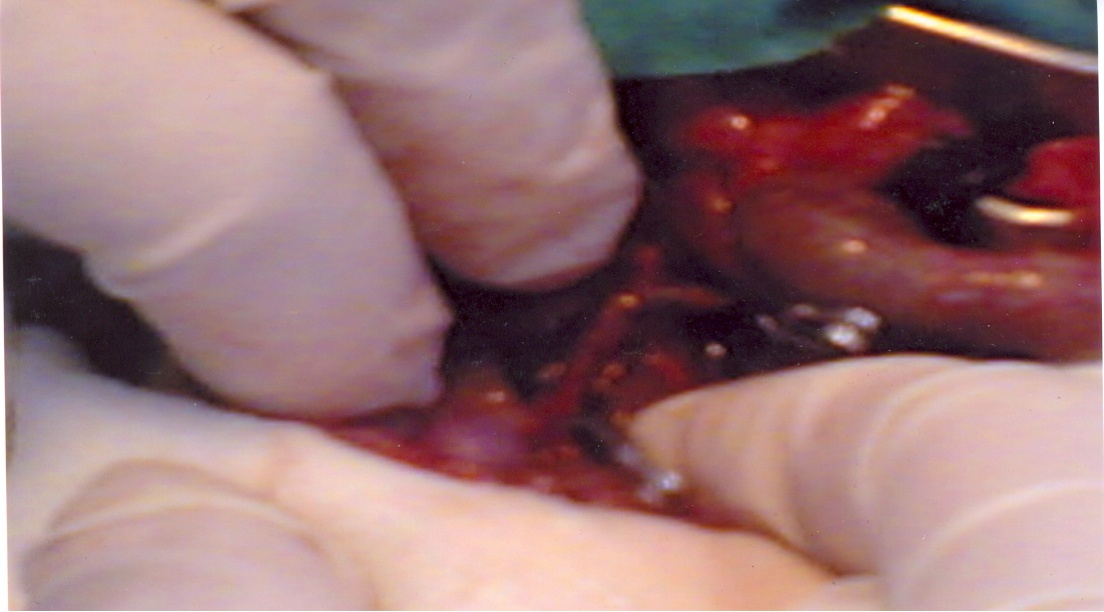
Sham grubu (n:5) : Noniskemik medulla spinalis kontrol grubu



Resim 3.1: Ratın preop hazırlığı.



Resim 3.2: Distal aortun bulunması.



Resim 3.3: Klibe Edilmiş distal aortun görünümü.

3.4. Fizyolojik Parametreler

Parsiyel arteriyel karbondioksit basıncı (PaCO_2), parsiyel arteriyel oksijen basıncı

(PaO₂) ve pH için arteriyel kan alınarak kan gazı analizleri yapıldı; hematokrit (Htc) ve glukoz ölçümleri için venöz kan alındı. Fizyolojik parametrelere, denekler sakrifiye edilmeden önce bakıldı.

3.5. Nörolojik Değerlendirme

Çalışmaya alınan bütün deneklerin postoperatif 24. ve 48. saatlerde motor fonksiyonları daha önce Tarlov (198) tarafından tarif edilen nörolojik muayene sınıflandırmasına göre yapıldı (Tablo 3.1). İzlem sırasında kas tonusunun ve kontraksiyonlarının olmaması parapleji olarak kabul edildi.

Tablo 3.1. Tarlov Skalası.

Grade 0- Hiçbir hareket yok.
Grade 1-Eklemlerde minimal hareket mevcut.
Grade 2-Eklem hareketleri var, ancak ayağa kalkamıyor.
Grade 3-Ayağa kalkıyor, yürüyor.
Grade 4-Tam iyileşme.

3.6. SEP Kaydı

Nörolojik iyileşmeyi ölçmek üzere, abdominal aorta oklüzyonu yapılmadan ve reperfüzyondan 24 saat sonra SEP monitörizasyonu yapıldı. Uyarılmış potansiyellerin ölçümünde EMG cihazı (Neuropack 2, NIHON KOHDEN marka) kullanıldı. Tüm ölçümler iğne elektrodları yardımı ile yapıldı. Kayıt elektrodları, sol siyatik sinire ve paryetal lob hizasında kafa derisine implante edildi. SEP kaydetmek için sol siyatik sinir, bipolar elektrodlarla 2Hz'ten verilen yaklaşık 12mA şiddetinde 50ms süreyle stimuluslarla uyarıldı. Kayıtlar karşı taraf paryetal lobdan yapıldı. 200 yanıtın elde edildiği her rattan ikinci negatif pik (N₁₈) tepe latansları ortalaması alındı. İskemi prosedürü öncesi ve 24 saat sonrasındaki N₁₈ latansları ile karşılaştırıldı.

3.7. Spinal Kord Histopatolojisi

Reperfüzyon sonrasında 48. saatte yapılan son nörolojik muayeneden sonra ratlar, yüksek doz ketamin ile sakrifiye edildi. Medulla spinalis L₅ seviyesinden çıkarılarak %10 formalin içinde fikse edildi. Fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra spinal doku, L₅ seviyesinden makroskobik transvers kesitleri alınarak parafin bloklara gömüldü. Lumbal 5 düzeyine uyan spinal kord bölgesinden alınan ve standart patolojik yöntemle hazırlanan 5 µm kalınlıktaki ardışık kesitler, hematoksilin-eosin ile boyandıktan sonra ışık mikroskopisi ile incelendi. Kesitlerde spinal kord ventral gri cevher alanındaki iskemik nöronlar, sitoplazmik eosinofili, Nissl substans'ının kaybı ve piknotik nükleus varlığı değerlendirilerek saptandı (31, 199, 200).

Bu üç kriteri taşıyan motor nöronlar iskemik hasarın olduğu “ölü”, taşımayanlar ise “canlı” hücreler olarak değerlendirildi. İskemik motor nöron yoğunluğuna göre histopatolojik incelemede; kesitlerde spinal kord ventral gri cevher alanındaki hiç iskemik motor nöron gözlenmeyen olgular noniskemik, az sayıda iskemik motor nöron bulunan olgular hafif iskemik ve motor nöronların çoğunluğunda iskemi saptanan olgular ise şiddetli iskemik olarak değerlendirildi. Histopatolojik değerlendirme, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim görevlisince yapıldı.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadan elde edilen verilerde gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis, ANOVA testi, grupların preop-postop yönünden kendi içlerinde karşılaştırılmasında Student's-t Paired testi ve anlamlı olan grupların kendi içlerinde karşılaştırılmasında Student's-t Independent (Unpaired) testleri kullanıldı. Sonuçlar, ortalama $\pm$ standart sapma biçiminde verildi; $p < 0.01$ ve $p < 0,001$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Tablo 4.1 incelendiğinde her üç grupta bakılan ortalama kan glukozu, arteriyel kan gazları, pH ve hematokrit değerleri açısından anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 4.1, Grafik 4.1).

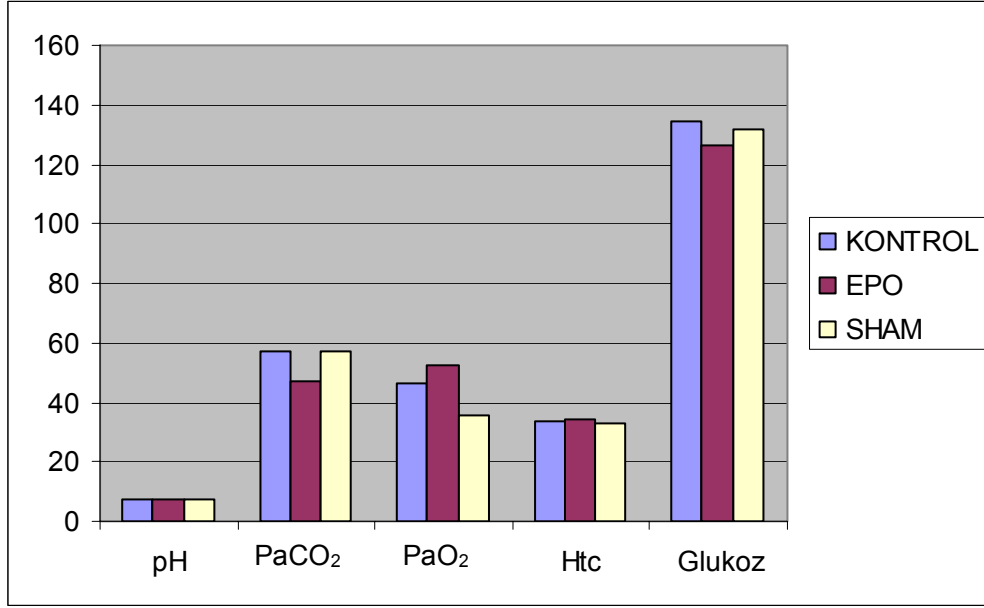
Tablo 4.1. Gruplar arası ortalama fizyolojik parametreler (ortalama $\pm$ standart sapma).

	PH	PaCO ₂	PaO ₂	Htc	Glukoz
KONTROL	7,43 $\pm$ 0,04	57,30 $\pm$ 16,32	46,20 $\pm$ 21,40	33,74 $\pm$ 2,70	134,71 $\pm$ 64,49
EPO	7,40 $\pm$ 0,05	46,90 $\pm$ 10,73	52,70 $\pm$ 21,19	34,58 $\pm$ 3,13	126,49 $\pm$ 18,79
SHAM	7,38 $\pm$ 0,05	57,00 $\pm$ 9,97	35,60 $\pm$ 9,93	32,65 $\pm$ 2,98	131,79 $\pm$ 29,69

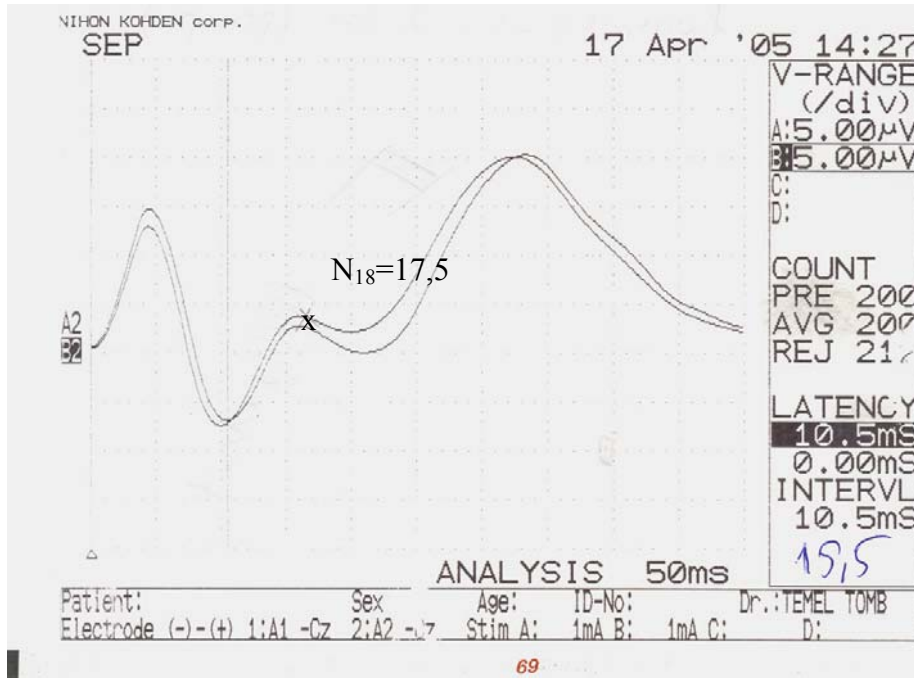
Grafik

4.1.

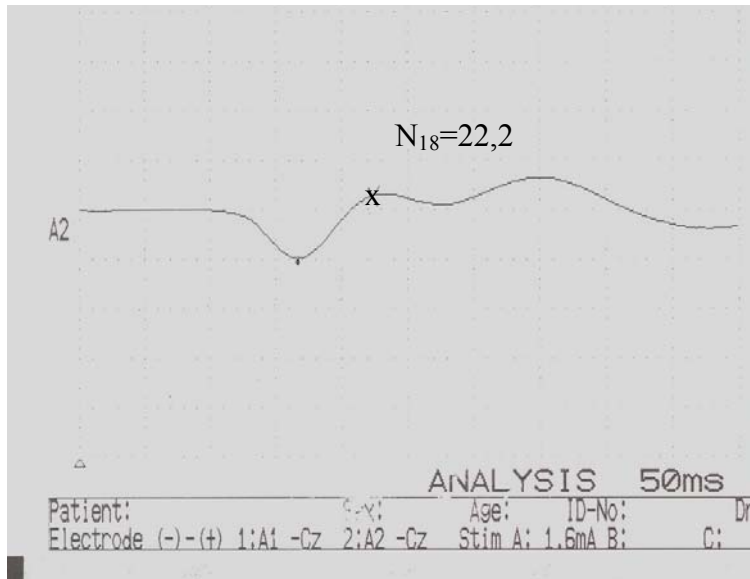
Gruplar arası ortalama fizyolojik parametrelerin karşılaştırılması



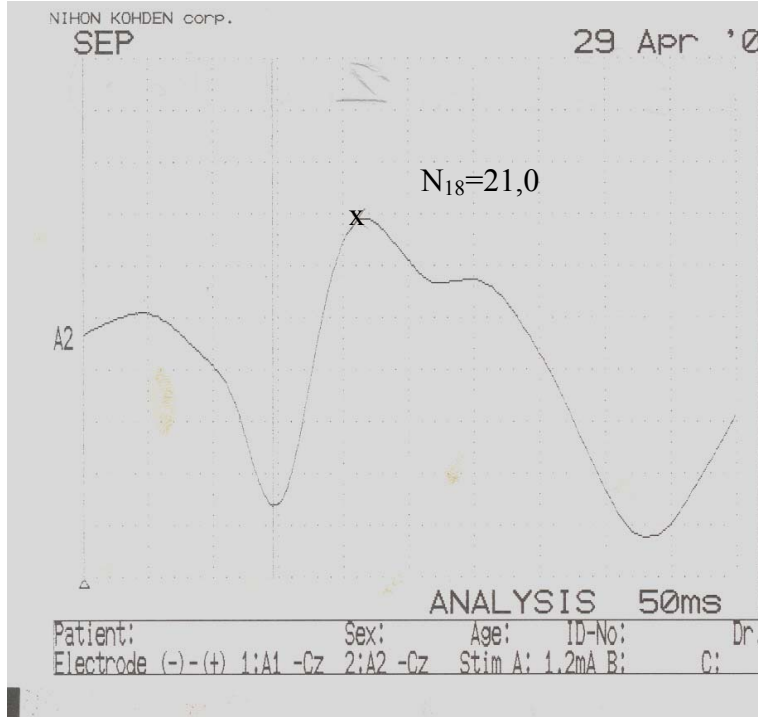
Spinal kordda iskemi oluşturulduktan sonra 24. saatte kontrol grubunda ve EPO verilmiş deneklerin oluşturduğu her iki grupta da, somatosensoriyel uyarılmış potansiyel kayıtlarında değişiklikler gözlenmiştir. Bu değişiklikler, uyarılmış potansiyel kayıtlarında N₁₈ latanslarda uzama şeklinde olmuştur. 24. saatte yapılan SEP kayıtlarında N₁₈ latans ortalama değerleri açısından izotonik ve EPO verilen denekler arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1a; 4.1b; 4.2a; 4.2b).



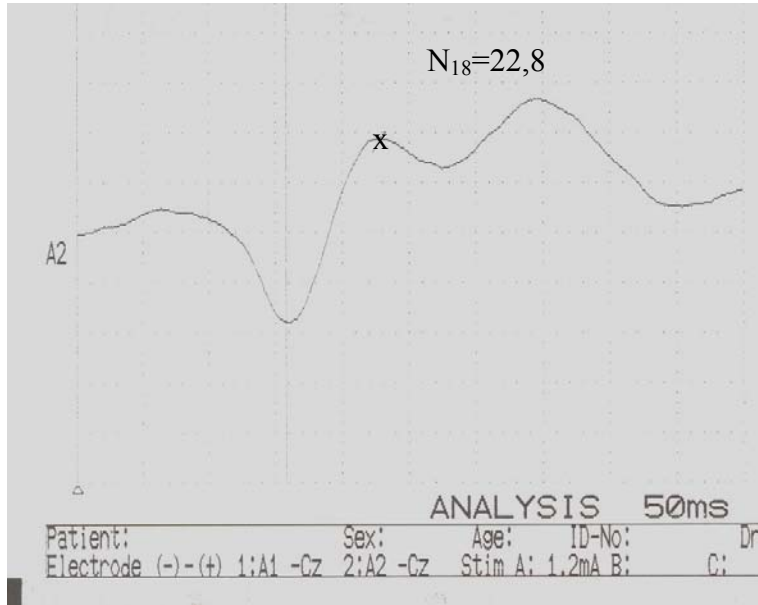
Şekil 4.1a: İzotonik verilmiş ratta SEP kaydı (preop).



Şekil 4.1b: İzotonik verilmiş ratta SEP kaydı (postop)



Şekil 4.2a: EPO verilmiş ratta SEP kaydı (preop)



Şekil 4.2b: EPO verilmiş ratta SEP kaydı (postop)

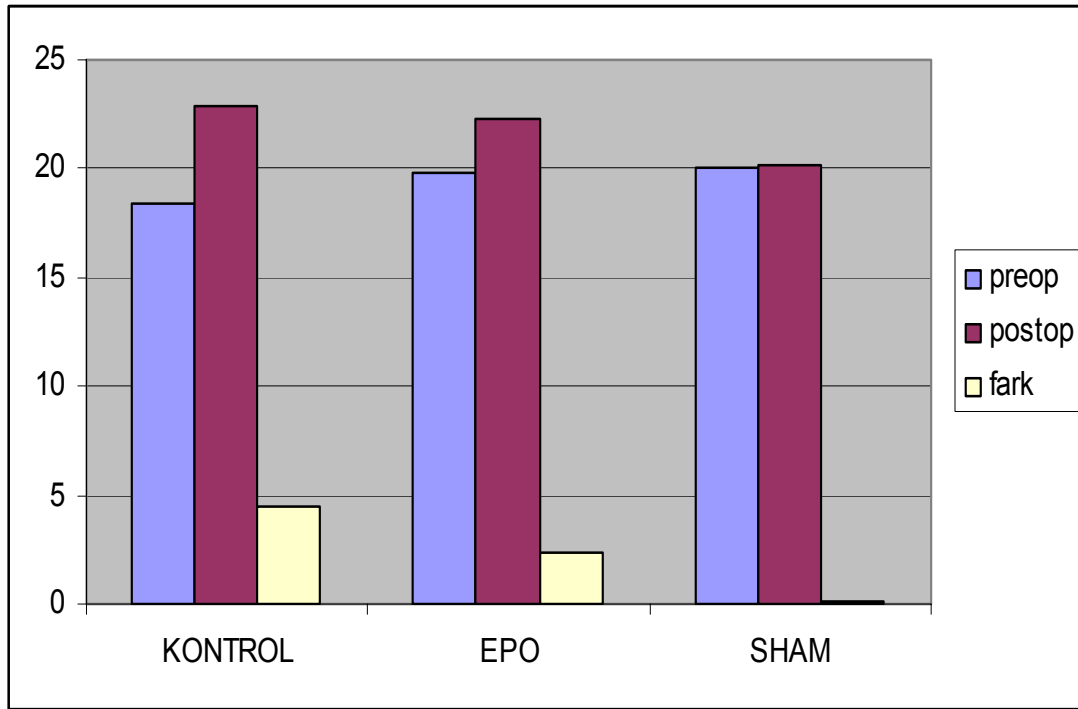
Tablo 4.2. İzotonik ve EPO verilmiş ratların SEP kayıtlarındaki N₁₈ ortalama latans değerleri (msn) (ortalama $\pm$ standart sapma).

GRUP	Preop	Postop	Fark
KONTROL	18,38 ± 2,32	22,92 ± 2,45*	4,54 ± 1,53**
EPO	19,87 ± 1,23	22,28 ± 1,11*	2,41 ± 1,11**
SHAM	20,08 ± 1,33	20,16 ± 1,35	0,08 ± 0,00

* : p < 0,001

** : p < 0,01

Grafik 4.2. İzotonik ve EPO verilmiş ratların SEP kayıtlarındaki ortalama latans değerlerinin karşılaştırılması



Somatosensoriyel uyarılmış potansiyel kayıtları sonucunda elde edilen distal latans değerleri, Student's-t Paired testi ile değerlendirilerek istatistiksel anlamlılığı araştırılmıştır. İskemi sonrasında 24. saatte yapılan SEP kayıtlarında kontrol grubunda distal latans süresinde belirgin uzama gözlenirken (preop: 18,38±2,32 postop: 22,92±2,45), EPO grubunda latanslardaki uzamanın daha az olduğu (preop: 19,87±1,23 postop: 22,28±1,11) izlenmiştir (p<0,001). Kontrol grubunda postop-preop latans değerleri arasındaki fark 4,54±1,53 olarak

bulunmuşken, EPO grubunda bu fark $2,4 \pm 1,11$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre kontrol grubu ile EPO grubu arasında latans değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p < 0,01$) gözlenmiştir. Bu değerler tablo 4.2 ve grafik 4.2’de gösterilmiştir.

Deneklerin uyanmalarını takiben yapılan nörolojik değerlendirmeleri, daha önce Tarlov tarafından tarif edilen nörolojik muayene sınıflandırmasına göre yapılmıştır (Tablo 4.1). Buna göre kontrol grubunda 24. ve 48. saatlerde deneklerden 1’inin Grade-1; 3’ünün Grade-2 ve 6’sının Grade-3 olduğu gözlenmiştir. EPO verilen deneklerde ise Grade-0, Grade-1 ve Grade-2 hiçbir deneye rastlanmaz iken, 24. saatte 3 denenin Grade-3 ve 7 denenin Grade-4 olduğu saptanırken, 48. saatte 2 denenin Grade-2, 8 denenin ise Grade-4 olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3). Bu verilere göre 24. ve 48. saatlerdeki nörolojik değerlendirme sonuçlarında, EPO grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğu saptandı.

Tablo 4.3. Deneklerin uyandırılmalarını takiben yapılan nörolojik değerlendirme sonuçları.

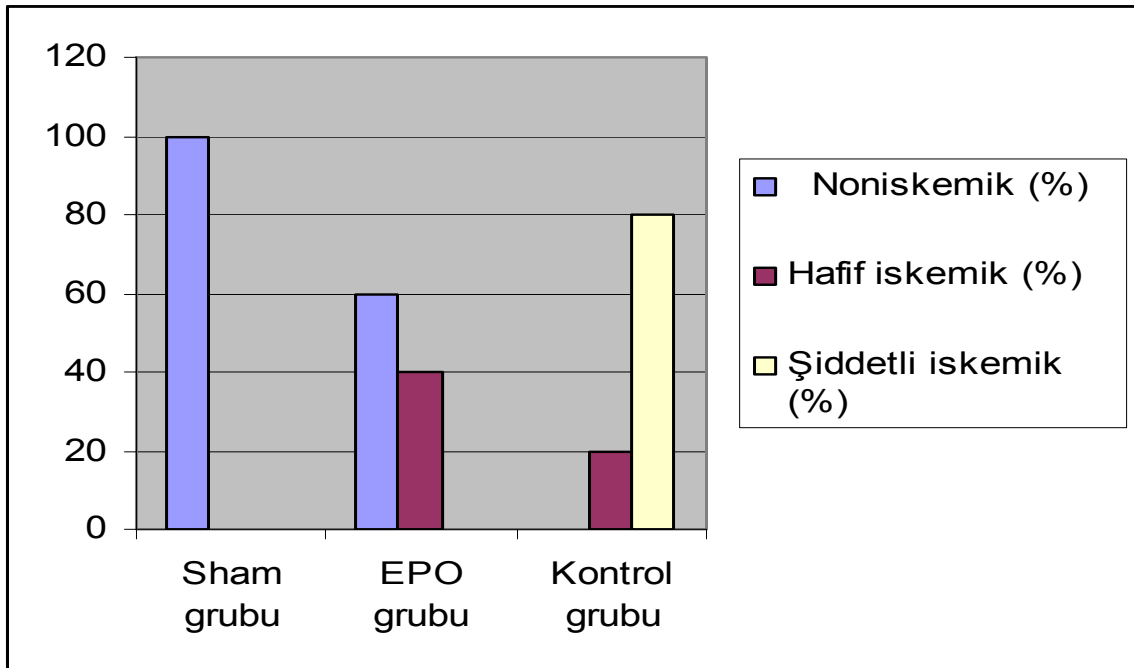
	KONTROL GRUBU		EPO GRUBU	
	24. saat	48. saat	24. saat	48. saat
Grade 0	-	-	-	-
Grade 1	1	1	-	-
Grade 2	3	3	-	-
Grade 3	6	6	3	2
Grade 4	-	-	7	8

Histopatolojik değerlendirme sonuçları açısından tablo 4.4’te de belirtildiği üzere sham grubundaki deneklerin %100’ünün, EPO grubundaki deneklerin ise %60’ının noniskemik grupta dağılım gösterdiği belirlendi. Kontrol grubundaki deneklerin %80’inin şiddetli iskemi, %20’sinin ise hafif iskemi grubunda dağılım gösterdiği saptandı. EPO grubundaki deneklerin ise %40’ının hafif iskemi grubunda dağılım gösterdiği gözlemlendi (Tablo 4.4, Grafik 4.3).

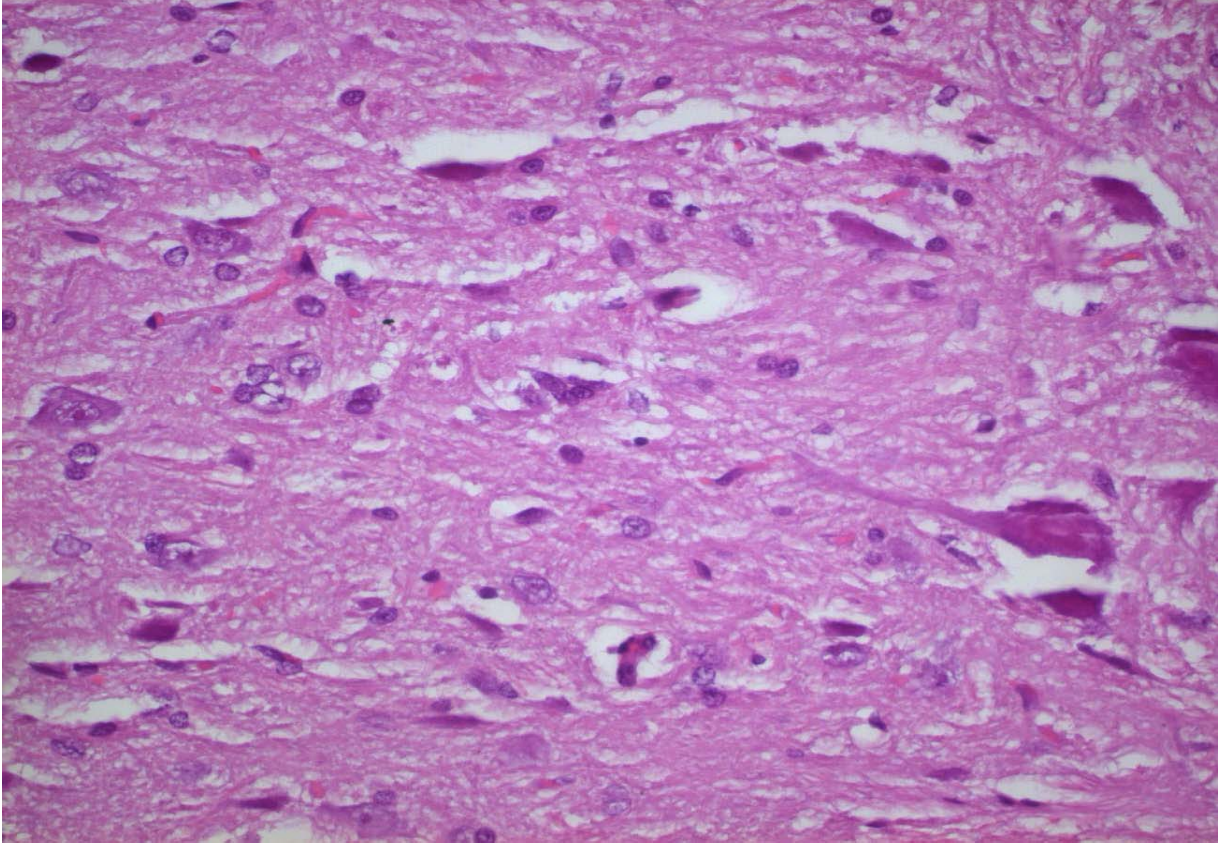
Tablo 4.4. Gruplara göre histopatolojik değerlendirme sonuçları.

	Noniskemik (%)	Hafif iskemik (%)	Şiddetli iskemik (%)
Sham grubu	100	–	–
EPO grubu	60	40	–
Kontrol grubu	–	20	80

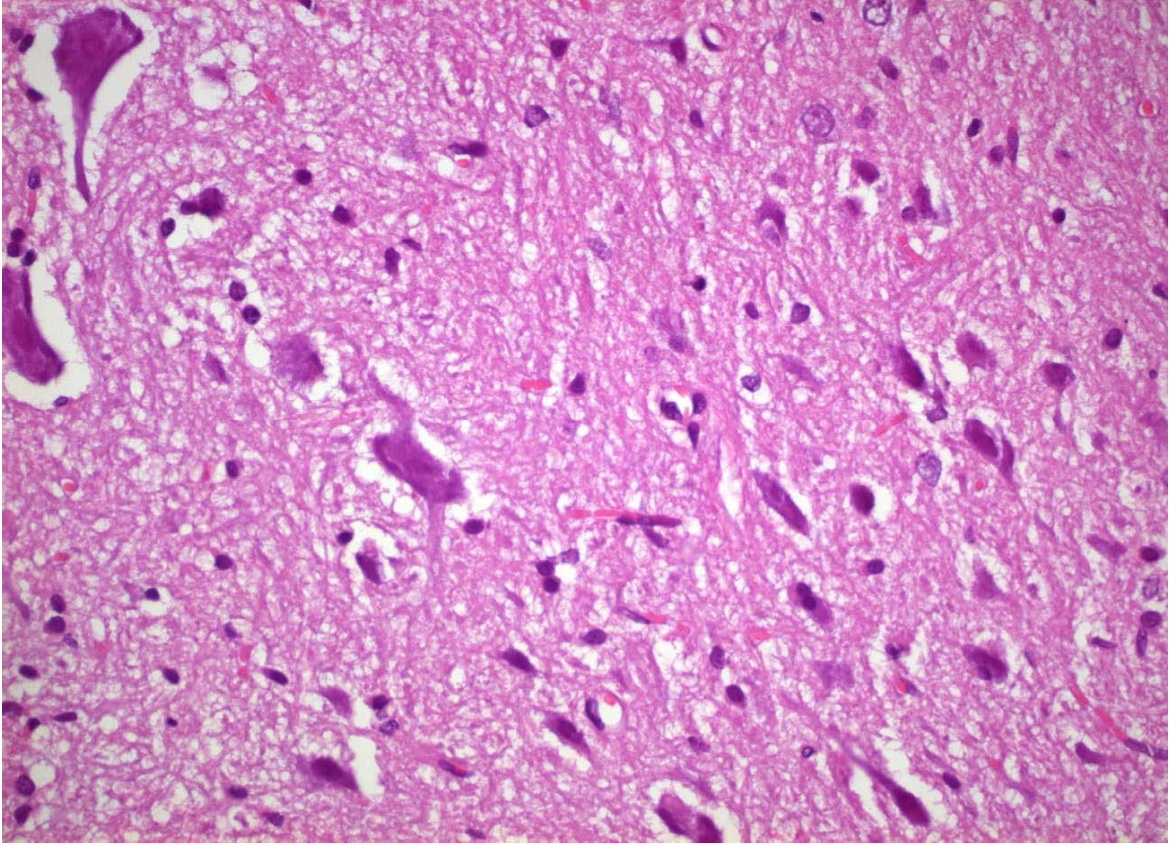
Grafik 4.3. Gruplara göre histopatolojik değerlendirme sonuçlarının karşılaştırılması



Resim 4.1, 4.2, 4.3: Histopatolojik değerlendirmede Lumbal 5 seviyesinden alınan kesitlerin hematoksilen-eosin ile mikroskobisinde x200 büyütmedeki görünümüdür.

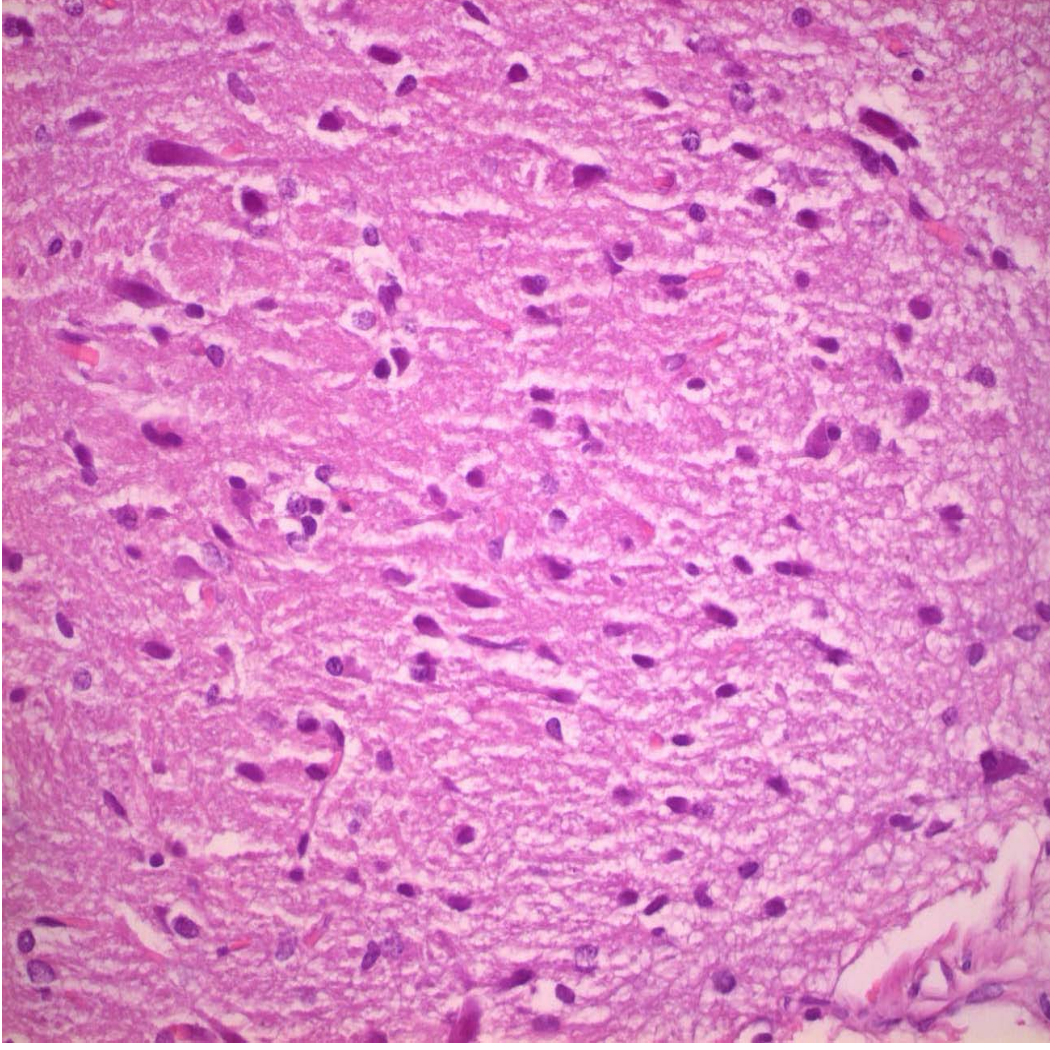


Resim 4.1: Noniskemik görünüm.



Resim 4.2: Hafif iskemi.

Birkaç nöronun iskemi kriterlerini (stoplazmik eosinofili, Nissl substansının kaybı ve piknotik nükleus varlığı) taşıdığı görülmektedir.



Resim 4.3: Şiddetli iskemi.

Nöronların büyük çoğunluğunda iskemi kriterlerinin (stoplazmik eosinofili, Nissl substansının kaybı ve piknotik nükleus varlığı) belirgin olduğu görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Akut omurilik yaralanması; toplumda görülme sıklığının yüksekliği, fiziksel, psikososyal ve ekonomik açıdan oluşturduğu hasarın büyüklüğü ve evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün düzenlenememiş olması nedeniyle günümüzde halen önemini sürdürmektedir. Bununla bağlantılı olarak, özellikle travma sonrası oluşan nöral hasarın azaltılması ve motor fonksiyonların korunmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar devam etmektedir (18).

Geliştirilmeye çalışılan etkin farmakolojik tedavi yöntemleri, travma sonrası gelişen süreçlerin patofizyolojisinin iyi anlaşılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Yaralanma sonrasındaki ilk birkaç gün içerisinde omurilikte oluşan lezyonun patolojik görüntüsündeki dramatik değişiklikler, klinik ve deneysel gözlemlerin en önemli noktasını oluşturmaktadır (61). İlk olarak 1911 yılında Allen'in köpeklerde oluşturduğu kontüzyon tipi omurilik hasarı sonrası uygulanan myelotomi ve posttravmatik hematomyelinin kaldırılmasının nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağlaması, daha önce bu konu ile ilgili yapılan deneysel çalışmaların belirli kriterlere bağlanmasını sağlamış ve aynı zamanda sekonder hasar konseptinin de öncülüğünü yapmıştır (7, 12, 59, 201). Medulla spinalise darbe olduğu ilk anda nöronlarda oluşan hasar, primer yaralanma olarak adlandırılmakta ve primer yaralanmanın tetiklediği birçok mekanizmayla oluşan nörolojik hasar ise sekonder yaralanma olarak tarif edilmektedir (63).

Son yıllarda serbest radikal hasarının, nöral doku iskemisini takiben meydana gelen patolojik değişikliklerden sorumlu olduğu gösterilmiştir (55). Geçen 10 yıl içerisinde iskemi-reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikallerinin rolü, ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, intestinal sistem ve diğer dokular üzerinde serbest oksijen radikallerinin etkileri hakkında geniş bilgiler elde edilmesine rağmen, spinal kord üzerine olan etkileri konusundaki bilgiler sınırlı kalmıştır. Spinal kord hasarının yalnızca iskemi sırasında değil, aynı zamanda reperfüzyon fazında da geliştiği düşünülmektedir (202).

Reperfüzyon hasarı, moleküler oksijenin toksik metabolitleri ile oluşur. Normalde oksijen, karbondioksit ve suya metabolize olur. Hipoksi sonucu, elektron transport sisteminde bozulmaya bağlı olarak, reperfüzyon döneminde ani olarak artan oksijen, su ve karbondioksit yerine sitotoksik serbest oksijen radikallerine dönüşmeye başlar (203). Aerobik hücrelerde oluşan en önemli sitotoksik oksijen metabolitleri, süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve serbest hidroksil radikalidir ($OH^\cdot$). Serbest oksijen radikallerinin membran

lipidlerinin peroksidasyonuna neden olarak membranın kompozisyonunu, morfolojisini ve fonksiyonunu bozduğu düşünölmektedir (204, 205).

Deneyssel akut spinal kord yaralanması sonrasında, deneklerin değeriendirilmesinde pek çok kriter kullanılmaktadır. Bunlar klinik muayene, histolojik değeriendirme (ışık ve elektron mikroskopik değeriendirme), görüntöleme (örn. Manyetik rezonans), anjiyografi, spinal kord kan akımı, biyokimyasal tetkikler, nörofizyolojik testler (uyarılmış potansiyeller) olarak sayılabilir. Ancak bunlar arasında histolojik değeriendirme, spinal kord kan akımının ölçölmesi (206, 207, 208), nörofizyolojik testler en değerieli ve objektif testleri oluştururlar.

Bu çalışmada deneklerin deney sonrası değeriendirilmesinde klinik muayene, biyokimyasal tetkikler, histolojik değeriendirme ve nörofizyolojik testler (somatosensoriyel uyarılmış potansiyel kayıtları) uygulanmıştır.

Sistemik kan basıncı, kan glukoz ve laktat düzeyi, hematokrit, vücut sıcaklığı, karbondioksit ve oksijen parsiyel basınçları ve kullanılan anestezik ajanlar gibi birçok faktör, spinal kord kan akımını etkilemektedir (35). Çalışmamızda hemodinamik veriler arasında kan glukoz, pH, PaO₂, PaCO₂ ve hematokrit değerielerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

İnsan spinal kordunda ve tavşanlarda yapılan çalışmalar sonucunda, aortanın sol subklavian arter çıkışında klipe edilmesi sonucu spinal kordda üst torakal bölgeden başlayan ve aşağı lomber bölgeye doğru uzanan tarzda iskemi ve bunun sonucu olarak parapleji geliştiğı gösterilmiştir (121). Yine kardiovasküler cerrahi pratiğinde, torakal aorta cerrahisi sırasında, aort koarktasyonu gibi daha basit ameliyatlarda %2-3, daha uzun süren geniş ameliyatlarda ise aortanın bu seviyede kapatılmasını takiben %40'a varan oranlarda postoperatif komplikasyon olarak parapleji geliştiğı belirtilmiştir. Yapılan deneyssel çalışmalar sonucunda aortanın otuz dakikanın altındaki kross-klemp sürelerinin genellikle güvenli olduğı bildirilmiştir (98).

Akut spinal kord travmasında iskeminin takibinde, somatosensoriyel evoked (uyarılmış) potansiyel (SEP) kayıtlarının önemli bir yeri vardır. Bugün için artık deneyssel aşamalardan geçerek klinik kullanıma girmiştir. Akut spinal kord iskemisinde somatosensoriyel uyarılmış potansiyellere bakılması yöntemin non-invazif, objektif, tekrarlanabilir olması nedenleri ile tercih edilmektedir. Somatosensoriyel uyarılmış potansiyeller spinal cerrahide, torakoabdominal aorta cerrahisinde aortik oklüzyon süresince intraoperatif monitörizasyonda veya nörolojik hastalıklara uygulanan medikal tedaviye olan yanıt derecesinin ölçümünde kullanılmaktadır. SEP'lerin en önemli dezavantajı, assendan sensoriyel traktuslardaki elektriksel iletimi ölçmeleri, motor fonksiyonları göstermemeleri

olarak söylenebilir. Ancak bazı çalışmalar, SEP'lerin spinal kordun anterolateral kısmındaki iletimi de gösterdiğini belirtmektedir (113, 114).

Bu çalışmada EPO'nun gross olarak spinal kord iskemisindeki koruyucu etkisi ölçülmek istendiği için, iskemi sonrası dorsal kolon hücrelerinin de diğer hücreler gibi aynı oranda hasara uğradığı düşünülerek SEP kayıtlarına bakılmıştır.

Latans ve amplitüd, bu teknikte izlenen iki önemli parametredir. Daha önceki çalışmalarda amplitüdde %15-20 oranında azalmanın, SEP değişiklikleri için anlamlı kriter olarak alınabileceği gösterilmiştir (33, 111, 115). SEP'de oluşan değişiklikler, distal latans süresinde uzama ve amplitüdlere azalma şeklinde olmaktadır (116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136). Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz SEP kayıtlarındaki distal latans sürelerinde uzama EPO grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermiş olup, bu bulgular EPO'nun spinal kord iskemisindeki nöroprotektif etkisini doğrulamıştır.

Matsumoto ve ark., transient spinal kord iskemisi uygulanan tavşanlarda oluşan spinal kord hasarının şiddeti ile nörolojik durum arasında ilişki olduğunu gösterdiler (26). Bu çalışmada histopatolojik inceleme ile tespit edilen spinal iskemi sonrası oluşan gri cevher nekrozunun yaygınlığının, Tarlov skorları ile uyduğu ve SEP kayıtlarının bu bulguları desteklediği gözlenmiştir.

EPO, kemik iliğinde eritroid progenitör hücreleri uyaran ve eritrositlerin diferansiyasyonunu sağlayan bir hematopoietik büyüme faktörüdür (209). Temel olarak böbrek ve karaciğerden salgılanan, glikoprotein yapısında olan bir hormondur (154). Sentezlenmesi sürekli ve vücutta depo formu yoktur. Eritroid prokürsör hücre yüzeylerindeki reseptörlerine (EPOR) bağlanarak, onları apoptozise karşı korur ve proliferasyon ve diferansiyasyon için uyarır (161, 210). EPO, hipoksiye yanıt olarak sentezlenir ve hormonun birikimi olmaması nedeniyle gerekli miktarı plazmada ve sadece biyolojik olarak aktif formda bulunur. Dolaşımdaki EPO seviyesinin artmasının, bu hormonun üretimi üzerine negatif etkisi bulunmamaktadır (169). EPO'nun en sık kullanım alanı kronik böbrek yetmezliğine bağlı anemi ve prematüre anemidir. Ayrıca, renal fonksiyonları normal olan anemiler, romatoid artrit, orak hücreli anemi, multiple myeloma, hemolitik anemi, myelodisplazi, kemoterapiye bağlı anemiler, aplastik anemi, hematolojik malignansiler ve kazanılmış immün yetmezlik sendromu diğer kullanım alanlarıdır (182).

Son zamanlarda, EPO'nun ekstra renal ve ekstra hepatik olarak beyinde (182, 211), endotelial hücrelerde (184, 212), uterus (213), plasental trofoblastik hücrelerde, embriyoda gelişmekte olan sinir sistemi hücrelerinde (214), yolk sakta (215), dalak ve akciğerde (216)

sentezlendiğine ilişkin raporlar vardır. EPO reseptörleri ise; insan plasentasında, vasküler endotel hücrelerinde, beyinde, böbrek hücrelerinde, rat gastrik epitel hücrelerinde ve rat leydig hücrelerinde gösterilmiştir (179). EPO-mRNA ve EPO reseptörlerinin yaygın dağılımı, EPO'nun parakrin bir faktör olduğunu desteklemektedir (217). Bu sonuçlarla ilişkilendirildiğinde, EPO'nun eritropoezis dışında rolü olduğu düşüncesi doğmaktadır.

Krantz ve arkadaşları 1991'de yaptıkları çalışmada, EPO üretiminin böbrek, karaciğer ve beyinde hipoksiye bağlı olarak gerçekleştiğini belirtmişlerdir (161).

EPO'nun en bilinen etkisi, eritrositlerin yapımını uyarmak suretiyle hematokriti arttırması ve polisitemiye neden olmasıdır. Ancak 5 yıl öncesine kadar genel olarak kabul edilen bu dogma, diğer birçok organda EPO üretimi ve reseptörlerinin saptanması sonucunda non-eritroid hücrelerin de yaşamını sürdürmesi ve proliferasyonu konusunda EPO'nun katkısının olduğuna dair bir konsensus ile yer değiştirmiştir (218). Yapılan hayvan deneylerinde EPO'nun in vivo olarak fokal ve global beyin iskemisine karşı nöronları koruduğu gösterilmiştir (44, 219, 220). EPO'nun nöroprotektif etkisini, glutamik asit toksisitesine aracılık eden nitrik oksit'in fazla yapımını önlemek ve hipoksik-iskemik beyin hasarının patofizyolojisinde rol oynayan serbest oksijen radikallerini azaltmak yoluyla yaptığı belirtilmektedir (221, 222). İn vitro bulgular da bunu desteklemektedir (223). Burada açıklanması gereken diğer konu, hipoksi-iskemi neticesinde apoptozis veya nekrozis ile ortaya çıkan hücre ölümü üzerine EPO'nun etkisidir. EPO'nun non-nöronal hücreler üzerinde anti-apoptotik etkisi vardır (224). EPO'nun in vitro olarak oluşturulan hipoksi modelinde, nöronlardaki apoptotik hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir (225). Aydın ve arkadaşları yaptıkları hayvan çalışmasında, in vivo olarak EPO'nun beyinde gelişen hipoksi-iskemiye karşı koruyucu olduğunu belirtmişlerdir (223). Sakanaka ve arkadaşları, beyinde oluşturulan nöronal iskemi öncesinde EPO verilen grupta nöronların yaşamını neredeyse tama yakın olarak devam ettirebildiklerini göstermişler ve sonuçta, EPO'nun nöronlarda iskemiye bağlı hücre ölümüne karşı önemli koruyucu etkisi olduğunu belirtmişlerdir (220).

Junk ve arkadaşları, EPO'nun bu nöroprotektif etkisinden hareketle, geçici global retinal iskemi-reperfüzyon oluşturdukları hayvan modelinde EPO'nun etkisini araştırmışlar ve sonuçta, iskemik retina üzerinde koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Yakın bir zamanda bu hastalıkların tedavisinde daha yaygın kullanılacağını ancak, EPO'nun eritropoezis dışındaki etkilerinin aydınlatılması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu ifade etmişlerdir (226). Benzer olarak Siren ve arkadaşları (227), EPO'nun serebral iskemi sonrası anti-apoptotik etki göstererek hücre kaybı ve nekrozu önlediğini, Solaroğlu ve arkadaşları (228), intrauterin serebral iskemi-reperfüzyon oluşturmuş

oldukları ratlarda verilen EPO'nun, oksidatif hasarı önlemek suretiyle nöroprotektif etki gösterdiğini, Calapai ve arkadaşları ise beyin iskemisinde EPO'nun nöroprotektif etkisinin olduğunu ve bu etkisinin nitrik oksit formasyonunun inhibisyonu aracılığıyla gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir (229).

EPO'nun iskemi üzerine etkisi ile ilgili olarak miyokard ve böbrekte de çalışmalar yapılmıştır. Calvillo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, miyokardda iskemi-reperfüzyon oluşturulmuş hayvan modelinde EPO'nun tedavi sürecindeki etkisini araştırmışlardır. Sonuçta, EPO'nun kardiomyosit kaybını %50 oranında azalttığını ve miyokardın bir hafta içerisinde normal hemodinamik fonksiyonuna döndüğünü belirtmişlerdir. Tedavide uygulanan EPO'nun sadece apoptozisi önleyerek miyokardiyal iskemiyi önleme, enfarkt sonrası normal hemodinamiye dönüşü hızlandırma gibi etkilerinin yanı sıra, diğer organlarda da bir doku koruyucu sitokin olarak davrandığını rapor etmişlerdir (230). Yang ve arkadaşları, böbrekte oluşturulan geçici iskemi-reperfüzyon hayvan modelinde EPO'nun etkisini araştırmışlardır. EPO'nun, oldukça güçlü bir şekilde iskemi-reperfüzyona uğramış rat böbreğini koruduğunu ve EPO'nun böbreğin iskemiye karşı olan toleransının artmasında önemli bir rolü olduğunu rapor etmişlerdir (231).

Sadamato ve ark. (44), geçici serebral arter oklüzyonu oluşturdukları ratlarda EPO'nun kortikal enfarkt, talamik dejenerasyon, yer ve yön bulma bozukluğunu düzelttiğini göstermişlerdir. Ayrıca EPO reseptör sayısındaki artışın, nöronlarda EPO'nun sinyal geçişini kolaylaştırdığını ve hasarlı alanın genişlemesini önlediğini düşündüren serebrokortikal enfarkt periferinde EPO-mRNA'sında artış olduğu da gösterilmiştir.

Sakanaka ve ark. (220), gerbillerde oluşturdukları serebral iskemi modelinde lateral ventriküle solübl EPO reseptör infüzyonu yaptıkları bir çalışmada, EPO'nun nöron yaşamını arttırdığını bildirmişler, solübl EPO reseptör infüzyonunun EPO'ya yanıt latans süresini ve nöron hücre dansitesini anlamlı derecede azalttığını saptamışlardır.

Böbrek yetmezliği nedeniyle diyaliz uygulanan hastalarda aneminin tedavisi için klinikte subkutan, intravenöz yollarla kullanılan EPO, deneysel çalışmalarda intraperitoneal, intraserebroventriküler, intravenöz yollarla uygulanarak iskemiye karşı nöron koruyucu etkisi araştırılmaktadır (229). Marti ve ark. (232) EPO'nun kan beyin bariyerini (KBB)'ni geçemediğini, serum ve BOS EPO konsantrasyonları arasında bir ilişki bulunmadığını, KBB bütünlüğü bozulduğunda BOS EPO miktarlarında artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir. İskemi-hipoksi, travma, immünite aracılığı ile oluşan enflamasyon ve aşırı nöronal eksitasyon gibi çeşitli hasarlayıcı durumlarda periferik yolla enjekte edilen r-hEPO, beyin dokusunda koruyucu etki oluşturabilmektedir. EPO'nun kan beyin bariyeri (KBB)'nden nasıl geçtiği tam

olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, KBB'nin anatomik lokalizasyonundaki kapillerlerde EPO reseptörlerinin bulunması, biyotinlenmiş r-hEPO'nun periferik enjeksiyonun sonrasında büyük damarlar dışında sadece KBB'deki kapillerlerde yoğunlaştığının gözlenmesi ve EPO saturasyonuna dayalı spesifik bir transport mekanizmasının varlığı, EPO'nun beyine spesifik reseptör aracılı bir transport ile geçtiğini düşündürmektedir. Travma sonrasında meydana gelen enflamatuvar yanıt, KBB'de permeabilite artışına ve hasarlanan sahada nonspesifik transportun başlamasına neden olmaktadır. Ayrıca KBB'de nonspesifik transportun bulunduğu ortaya çıkması nedeniyle, minimum efektif doz olarak belirlenen 450 Ü/Kg EPO dozuna karşıt görüşler oluşmuştur. İntratekal EPO uygulamalarında çok küçük miktarlara ve çok daha düşük dozlara gereksinim duyulmaktadır. İntratekal yolun klinik uygulamada pratik olmaması ve etki lokalizasyonunun sınırlı kalması nedeniyle, sistemik EPO uygulamaları daha yaygın kullanılmaktadır. Ayrıca orta serebral arter modelinde r-hEPO'nun sistemik uygulanması ile nöron koruyucu etkinin 6 saat kadar sürdüğü bildirilmiştir (233).

Deneyisel çalışmalarda EPO, ratlara iskemik hasarı önlemek amacıyla genellikle intraperitoneal olarak 500-5000 Ü/kg dozunda uygulanmıştır (226, 234, 235, 236, 237). Juul ve ark. (238) ise EPO'yu 200-1000 Ü/kg oral, intraperitoneal (İP) veya subkutan (SC) vererek, EPO'nun trofik etkilerinin veriliş yoluna bağlı olup olmadığını araştırmışlar ve EPO'nun hem enteral, hem de parenteral (SC-İP) yolla ince bağırsaklara trofik etki ettiğini görmüşlerdir. Bernaudin ve ark. (42), orta serebral arter oklüzyonu ile fokal iskemi oluşturdukları farelerde, rekombinant fare eritropoetini (r-FEPO)'nin 0.4 µg/kg dozunda oklüzyondan 24 saat önce ve oklüzyon ile aynı zamanda intraventriküler uygulanmasının enfarkt volümünü anlamlı derecede azalttığını bildirmişlerdir. Buemi ve ark. (239) tarafından deneyisel subaraknoid kanama oluşturulan tavşanlarda, r-hEPO verilmesinin fonksiyonel iyileşmeyi düzelttiği ve mortalite oranını azalttığı saptanmıştır. Alafaci ve ark. (240), tavşanlarda deneyisel subaraknoid kanama (SAK) ile oluşturulan serebral iskemide r-hEPO'nun etkisini araştırdıkları bir çalışmada, BOS'da EPO konsantrasyonunun artışının kortikal nekrotik nöron sayısında anlamlı derecede azalmaya neden olduğunu saptamışlar, SAK'ın erken döneminde sık görülen serebral iskeminin tedavisinde r-hEPO kullanımının etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Morishita ve ark. (43), hipokampal ve kortikal nöron kültürlerinde glutamat ile indüklenen hücre ölümünün EPO ile, uygulanan doza bağlı olarak önlendiğini bildirmişlerdir. Kültür hücreleri 3 pmol EPO'ya maruz bırakıldıklarında, kontrol grubuna göre yaşayan hücre sayısında anlamlı derecede artış gözlemlendiği, kültür ortamında 30 pmol EPO bulunmasının

hücrelerde glutamat toksisitesine karşı tam bir koruma sağlandığı, 300 pmol EPO varlığında ortamda 30 pmol EPO varlığında elde edilene benzer sonuç alındığı, hücrelerde glutamat etkisine karşı tam bir rezistans gelişmesi için rölatif olarak daha uzun bir inkübasyon periyodu (8 saat) gerekmesine rağmen EPO ile kısa süreli inkübasyon periyodunun (5 dk) da glutamat toksisitesine karşı nöron koruyucu etkinin indüklenmesinde yeterli olduğunu bildirmişlerdir (43). Sinor ve ark. (241) tarafından kortikal nöron kültürlerinde oluşturulan amino hidroksi metil izoksazol propionik asit (AMPA) toksisitesinde, EPO'nun nöronlar üzerinde koruyucu etkisinin bulunduğu saptanmıştır. Siren ve ark. (227), primer rat spinal motor nöron kültürlerinde kainik asit uygulaması ile oluşturulan apoptozisin EPO ile önlendiğini ve EPO'nun hücre yaşayabilirliğini arttırdığını bildirmişlerdir. EPO'nun hücre koruyucu etkisinin hem nöron/glia, hem de pürifiye motor nöron kültürlerinde ortaya çıkmasının nöronlarda direkt olarak EPO reseptörleri aracılığı ile oluşan EPO etkisini gösterdiğini bildirmişlerdir.

NT2 hücre kültürlerinde nöronal hücrelerde hipoksi ile EPO reseptör ekspresyonunun spesifik olarak indüklenebileceği gösterilmiştir. Hipoksi ile EPO ekspresyonunun ve üretiminin, kan beyin bariyerindeki astrositler ve nöronlar (183) tarafından sağlanması EPO'nun iskemik ve hipoksik olaylarda nöron koruyucu etkisini ayrıca desteklemektedir. Kültür ortamında EPO bulunmadığı durumlarda NT2 hücreleri hipoksiye maruz bırakıldıklarında, EPO reseptör ekspresyonunda artış gözleendiği bildirilmiştir. Hipoksik koşullarda kültür ortamına EPO eklenmesiyle, hücre büyüme ve gelişiminin iyileştiği saptanmıştır. Hipoksi ile birlikte NT2 hücrelerinde EPO reseptörlerinde gözlenen artış, bu hücrelerin EPO'ya sensitivitelerini arttırmaktadır ancak, hipoksi yokken EPO'nun hücre gelişimi üzerinde etkisi azalmakta ya da bulunmamaktadır. Bu veriler, EPO'nun hipoksiye karşı koruyucu etkisi bulunduğunu düşündürmektedir. Primer nöronlarda ve hücre kültürlerinde hipoksi veya glutamat hasarlanmasına karşı EPO reseptörleri, EPO'ya koruyucu tarzda yanıt oluşturmakta (43) ve EPO reseptörleri hipoksi ile 100 katına kadar indüklenmektedir (242).

Yukarıda özetlenen çalışmalardan anlaşılacağı üzere, EPO'nun oluşturulan iskemi-reperfüzyon modellerinin tümünde hücre koruyucu etki gösterdiği, apoptozisi ve nekrozu önlediği ve miyokard modelinde normal fonksiyona dönüşü hızlandırmada etkili olduğu anlaşılmaktadır. Ratlarda spinal kordda oluşturulan iskemi-reperfüzyon modeline EPO'nun etkisine yönelik olarak yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada EPO'nun nöroprotektif etkisi araştırıldı. Çalışmamızda geçici spinal iskemi sonrasında reperfüzyon başlangıcında intraperitoneal verilen r-hEPO'nun, kontrol grubuna oranla tedavi

grubunda paraparezi şiddetini ve spinal iskemiye izleyen 48. saatte sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen spinal kordun histopatolojik değerlendirmesinde iskemik motor nöron hasarını azalttığı gösterilmiştir. r-hEPO kullanılarak tedavi uygulanan grupta, iskemik motor nöron hasarının şiddetinde, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalma saptanmıştır. Bulgularımız, daha önceki çalışmalardakilere benzer şekilde EPO'nun iskemik spinal motor nöron hücre hasarını önlediğini göstermiştir.

Deneyssel hayvan çalışmalarından elde edilen veriler, insanlarda gestasyonun 7. ve 24. haftaları arasında fetüste beyin ve spinal kordda, gestasyonun 5. ve 9. haftalarında SSS dokularından elde edilen primer hücre kültürlerinde ve postmitotik, insan nöronal hücre hatlarında ve onların diferansiye olmamış prekürsörlerinde EPO ve EPO reseptörlerine ait mRNA varlığı gösterilmesi ile anlam kazanmıştır (183). Preterm infantlar ve yenidoğanların SSS'de, erişkin beyinde ve travmatik beyin hasarlanması olan hastaların BOS'unda, serum EPO düzeyleri ile ilişkili olmayan bir şekilde EPO'ya rastlanmıştır (232). Sonuçlar, beyinde küçük miktarlarda EPO reseptör ekspresyonunun, SSS'de anlamlı fizyolojik fonksiyona aracılık etmede yeterli olduğunu düşündürmektedir.

Beyindeki EPO ekspresyonu ve hipoksi ile üretiminin indüklenmesi (183), EPO ve EPO reseptörlerinin hipoksi veya iskemiye karşı oluşturulan yanıtta nöroprotektif rol oynayabileceğini düşündürmektedir (42). Farelerde yapılan çalışmalarda embriyonik nöral dokularda ve beyinde EPO reseptör gen ekspresyonunun gelişimsel bir süreç içinde düzenlendiği, EPO ve EPO reseptörlerinin nonhematopoetik hücrelerin de yaşama kabiliyetini etkileyebileceği, aynı zamanda insan SSS gelişiminde, adult insan, kemirgen ve fare beyinde, hipokampusta, kortekste ve serebellumda EPO reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (43, 186, 242, 243).

Spinal iskemi nedeniyle oluşan paraplejiyi önlemek veya tedavi etmek için birçok çalışma vardır. Spinal kordun iskemiye toleransını arttırmak ve oluşan reperfüzyon hasarını düzeltmek için nöroprotektif ilaçlar denenmektedir. Bu çalışmada, spinal iskemi oluşturulan ratlarda, daha önce herhangi bir nöroprotektif etkisi bilinmeyen Eritropoetin kullanılarak nöronal hasarda azalma sağlanabildiği gösterilmiştir. 2000 Ü/kg EPO uygulanan hayvanlarda daha iyi nörolojik sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızdaki sonuçlar, EPO'nun spinal kord iskemisinden sonra hücre ölümünü azaltıcı etkisinin olabileceğini, paraplejinin spinal kord gri cevher alanındaki motor nöron hasarlanması ile açıklanabileceğini ve iskemik motor nöron hasarının önlenebileceğini ya da şiddetinin azaltılabileceğini düşündürmektedir. Son on yıl içinde r-hEPO'nun yan etki profilinin minimal ve klinik kullanımda güvenilir olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle,

insanlarda SSS'de EPO'nun patofizyolojik olaylardaki rolünün açıklığa kavuşturulması klinikte kullanımını hızlandıracaktır. Ancak EPO'nun SSS iskemisinde nöron koruyucu etki mekanizmalarının aydınlatılması için, geniş serilerde oluşturulacak deneysel çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

6. SONUÇ

Akut omurilik yaralanmaları gerek meydana getirdiği sonuçlar, gerekse etkin bir tedavi protokolünün oluşturulamamış olması nedeniyle önemli bir sorun olma özelliğini devam ettirmektedir. Günümüzde buna yönelik tedavi denemelerinde, özellikle travma sonrası oluşan ilerleyici hasarın engellenmesinde birçok hedefe yönelik tekli ilaç protokolleri önem kazanmıştır. Eritropoetin, son zamanlarda in vivo ve in vitro çalışmalarda, travma sonrası nöroprotektif etkisi konusunda ön plana çıkmıştır.

Bu çalışmamız sonucunda, deneysel olarak spinal kord iskemisi geliştirilen deneklerde yapılan somatosensoriyel uyarılmış potansiyel kayıtları, histopatolojik değerlendirmeler ve nörolojik muayene sonuçlarında, serum fizyolojik verilen denekler ile EPO verilen denekler arasında anlamlı farklılık olduğu ortaya konmuştur.

Gruplar arasında ortalama kan glukozu, arteriyel kan gazları, pH ve hematokrit değerleri açısından bir fark görülmemiştir.

İskemi sonrasında 24. saatte yapılan SEP kayıtlarında kontrol grubunda distal latans süresinde belirgin uzama gözlenirken (preop: $18,38 \pm 2,32$ postop: $22,92 \pm 2,45$), EPO grubunda latanslardaki uzamanın daha az olduğu (preop: $19,87 \pm 1,23$ postop: $22,28 \pm 1,11$) izlenmiş olup ($p < 0,001$), iki grup arasında anlamlı farklılık olduğu (izotonik grubu: $4,54 \pm 1,53$ EPO grubu: $2,41 \pm 1,11$) gözlenmiştir ($p < 0,01$).

Distal latans değerleri arasında EPO ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p < 0.001$). Sham grubunda prosedür sonrasında pik değerler sabittir.

Nörolojik değerlendirmede sham grubundaki ratlar, prosedür sonrasında tam bir nörolojik iyileşme göstermiştir. İskemi sonrası 24. ve 48. saatte EPO ve kontrol grubundaki motor fonksiyon skorları Tablo 4.3'tedir. Tüm iskemik hayvanlarda nörolojik defisit görülmüştür. İskemi sonrasındaki 24. ve 48. saatte EPO grubunun ortalama motor skoru, kontrol grubununkinden anlamlı olarak daha iyidir ($P < 0.01$).

Spinal kordun histopatolojik bulguları, nörolojik bulgularla koreledir. Yüksek motor skoru olan ratlarda gri madde yapısı değişmemiştir ve minimal nekroz görülmüştür. Düşük motor skoru olan deneklerde ise merkezi gri maddede çeşitli boyutlarda tipik enfarktlar vardır.

Sonuç olarak bu çalışmada, ratlarda oluşturulan geçici spinal iskemisi modelinde r-hEPO'nun, reperfüzyon döneminde oluşan spinal motor nöron hasarını azalttığı kanısına

varılarak, travma sonrası r-hEPO uygulamasının klinik ve histopatolojik değerlendirmelerde düzelme meydana getirdiği tespit edilmiş, tekli ya da kombine tedavilerin bir parçası olarak omurilik yaralanmasına uğramış kişilerde faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Marion D.W.: Head and spinal cord injury, *Neurol.Clin.*; 16(2):485-502, 1998.
2. Dumont A.S., Dumont R.H., Oskouian R.: Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention, *Current Opinion in Neurology*; 15:713-720, 2002.
3. Legos H.H., Gopez H.H, Young W.F.: Non-surgical management of spinal cord injury, *Expert Opin. Investtig. Drugs.*; 11(4):469-482, 2002.
4. Kraus H., Franti C.E., Riggins R.S.: Incidence of traumatic spinal cord lesions, *H. Chronic Dis.*; 28:471-492, 1975.
5. Gutierrez P.A., Young R.R., Vulpe M.: Spinal cord injury. An overwiev, *Urol. Clin. Nort. Am.*; 20(3):373-382, 1993.
6. Anderson D.K.: Chemical and celluler mediators in spinal cord injury, *H. Neurotrauma*; 9(2):143-145, 1992.
7. Amar A.P., Levy M.L.: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury, *Neurosurgery*; 44(5):1027-1040, 1999.
8. Schitteck A., Bennick W.E., Cooley D.A., Langford L.A.: Spinal cord protection with intravenous nimodipine. A functional and morphologic evaluation, *The J. Thoracic Cardiovascular Surg.*; 104:1100-1105, 1992.
9. Ueno T., Furukawa K., Katayama Y., Suda H., Itoh T.: Spinal cord protection: Development of a paraplegia-preventive solution, *Ann Thorac. Surg.*; 58:116- 120, 1994.
10. Schwab M.E.: Repairing the injured spinal cord, *Science*; 295:1029-1031, 2002.
11. Fehlings M.G.: Summary statement: The use of methylprednisolone in acute spinal cord injury, *Spine*; 26:S55, 2001.
12. Tator C.H., Fehlings M.G.: Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms, *H. Neurosurg.*; 75:15-26, 1991.
13. Anderson D.K., Hall E.D.: Pathophysiology of spinal cord trauma, *Ann. Emerg. Med.*; 22(6):987-992, 1993.
14. Fehlings M.G.: Role of sodium in the pathophysiology of secondary spinal cord injury, *Spine*; 20(20):2187-2191, 1995.
15. Tator C.H.: Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord

injury, *Brain Pathol.*; 5(4):407-413, 1995.

16. Hanssen L., Hansebout R.R.: Pathogenesis of spinal cord injury and newer treatments, *Spine*; 14:23-32, 1989.
17. Barut Ş., Canbolat A., Bilge T., Aydın Y., Çokneşeli B., Kaya U.: Lipid peroxidation in experimental spinal cord injury: Time-level relationship, *Neurosurgery Rev.*; 16:53-59, 1993.
18. Dumont R.H., Verma S., Okonkwo D.O., Hurlbert R.H.: Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy, *Clin. Neuropharmacology*; 24(5): 265-279, 2001.
19. Abraham V.S., Swain J.A., Forgash A.J., Williams B.L., Musulin M.M.: Ischemic preconditioning protects against paraplegia after transient aortic occlusion in the rat, *Ann Thorac. Surg.*; 69:475-479, 2000.
20. Eckard D.A., Purdy P.D., Girson M.S., Samson D., Kopitnik T., Batjer H., Murkin J.M.: Intraarterial papaverin for relief of catheter-induced intracranial vasospasm. *A.J.R.*; 158:883-884, 1992.
21. Gharagozloo F., Larson J., Dausmann M.J., Neville R.F., Gomes M.N.: Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic aorta, *Chest*; 109:799-809, 1996.
22. Herold J.A., Kron I.L., Langenburg S.E., Blackburne L.H., Tribble C.G.: Complete prevention of postischemic spinal cord injury by means of regional infusion with hypothermic saline and adenosine, *The J. of Thoracic and Cardiovascular Surg.*; 107:536-540, 1994.
23. Hirose K., Okajima K., Taoka Y., Uchiba M., Tagami H., Nakano K., Utoh J., Okabe H., Kitamura N.: Activated protein C reduces the ischemia/reperfusion-induced spinal cord injury in rats by inhibiting neutrophil activation, *Ann Surg.*; 232:272-280, 2000.
24. Kaku Y., Yonekawa Y., Tsukahara T., Kazekawa K.: Superselective intraarterial infusion of papaverin for the treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.*; 77:842-847, 1992.
25. Kassell N.F., Helm G., Simmons N., Phillips C.D., Cail W.S.: Treatment of cerebral vasospasm with intra-arterial papaverin, *J. Neurosurg.*; 77:848-851, 1992.
26. Matsumoto M., Lida Y., Wakamatsu H., Ohtaka K., Nakakimura K., Xiong L., Sakabe T.: The effects of N^G-Nitro-L-Arginine-Methyl Ester on neurologic and histopathologic outcome after transient spinal cord ischemia in rabbits, *Anesth.*

Anal.; 89:696-70, 1999.

27. Miyamoto T.A.: A word of caution in extrapolating the riluzole spinal cord injury protective effects obtained in a rabbit model under ketamine anesthesia, *The J. Thoracic Cardiovascular Surg.*; 118:1156-1157, 1999.
28. Miyamoto T.A.: A word of caution in extrapolating the spinal cord protective effects of memantine obtained in a rabbit model under ketamin anesthesia, *The J. Thoracic Cardiovascular Surg.*; 118:770-771, 1999.
29. Miyamoto T.A.: A word of caution in interpreting the ischemic time causing apoptosis in spinal cord ischemia, *The J. Thoracic Cardiovascular Surg.*; 117:1038-1039, 1999.
30. Pallan T.M., Wulkan I.A., Abadir A.R., Flores L., Chaudhry M.R., Gintautas J.: Incompatibility of isovue 370 and papaverin in peripheral arteriography, *Radiology*; 187:257-259, 1993.
31. Rokkas C.K., Sundaresan S., Shuman T.A., Palazzo R.S., Nitta T.: Profound systemic hypothermia protects the spinal cord in a primate model of spinal cord ischemia, *The J. Thoracic Cardiovascular Surg.*; 106:1024-1035, 1993.
32. Woloszyn T.T, Marini C.P., Coons M.S., Nathan I.M., Basu S., Acinapura A.J., Cunningham J.N.: Cerebrospinal fluid drainage and steroids provide spinal cord protection during aortic cross-clamping than does either treatment alone, *Ann Thorac Surg.*; 49:78-83, 1990.
33. Baltalarlı A., Coşkun E., Ortaç R., Önem G., Göksin İ., Sirin B.H.: Protective effects of trimetazidine in transient spinal cord ischemia, *Res. Exp. Med.*; 200:43-51, 2000.
34. Coskun K., Attar A., Tuna H., Sargon M.F., Yüceer N., Türker R.K., Egemen N.: Early protective effects of iloprost after experimental spinal cord ischemia in rabbits, *Acta Neurochir.*; 142:1143-1150, 2000.
35. Ehrlich M., Knolle E., Ciovia R., Böck P., Turkof E., Grabenwöger M., Zumelzu F.C., Kocher A., Pockberger H., Fang W.C., Wolner E., Havel M.: Memantine for prevention of spinal cord injury in a rabbit model, *The J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*; 117:285-291, 1999.
36. İlhan A., Koltuksuz U., Ozen S., Uz E., Ciralık H., Akyol O.: The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits, *Eur. J. of Cardio-Thoracic Surg.*; 16:458-463, 1999.
37. Lazdunski L.L., Heurteaux C., Vaillant N., Widman C., Lazdunski M.: Riluzole

- prevents ischemic spinal cord injury caused by aortic cross-clamping, *The J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*; 117:881-889, 1999.
38. Lips J., Haan P., Bodewits P., Vanicky I., Dzoljic M., Jacobs M.J., Kalkman C.R.: Neuroprotective effects of rilusole and ketamine during transient spinal cord ischemia in the rabbit, *Anesthesiology*; 93:1303-1311, 2000.
 39. Mackey M.E., Wu Y., Hu R., DeMaro J.A., Jacquin M.F., Kanellopoulos G.K., Hsu C.Y., Kouchoukos N.T.: Cell death suggestive of apoptosis after spinal cord ischemia in rabbits, *Stroke*; 28:2012-2017, 1997.
 40. Wakamatsu H., Matsumoto M., Nakakimura K., Sakabe T.: The effects of moderate hypothermia and intrathecal tetracaine on glutamate concentrations of intrathecal dialysate and neurologic and histopathologic outcome in transient spinal cord ischemia in rabbits, *Anesth. Analg.*; 88:56-62, 1999.
 41. Bernaudin M., Bellail A., Marti H.H., Yvon A., Vivien D., Duchatelle I., MacKenzie E.T., Petit E.: Neurons and astrocytes express EPO mRNA: Oxygen-sensing mechanism that involve the redox-state of the brain, *GILA*; 30:271-278, 2000.
 42. Bernaudin M., Marti H.H., Roussel S., Divoux D., Nouvelout A., MacKenzie E.T., Petit E.: A potential role for erythropoietin in focal permanent ischemia in mice, *J. Cereb Blood Flow Metab.*; 19(6):643-651, 1999.
 43. Morishita E., Masuda M., Nagao M., Yasuda Y., Sasaki R.: Erythropoietin receptor is expressed in rat hippocampal and cerebral cortical neurons and erythropoietin prevents in vitro glutamate-induced neuronal death, *Neuroscience*; 76(1):105-116, 1997.
 44. Sadamoto Y., Igase K., Sakanaka M., Sato K., Otsuka H., Sakaki K., Masuda S., Sasaki M.: Erythropoietin prevents place navigation disability and cortical infarction in rats with permanent occlusion of the middle cerebral artery, *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 253:26-32, 1998.
 45. Zaman K., Ryu H., Hall D., O'Donovan K., Lin K.I., Miller M.P., Marquis J.C., Baraban J.Y., Semenza G.L., Ratan R.R.: Protection from oxidative stress-induced apoptosis in cortical neuronal cultures by iron chelators is associated with enhanced DNA binding of hypoxia-inducible factor-1 and ATF-1/CREB and increased expression of glycolytic enzymes, p21 waf1/cip1 and erythropoietin, *J. Neurosci.*; 19(22):9821-9830, 1999.
 46. Kaplan A., Alaittin E.: *Anatomi. 2. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara*, s:209, 1997.

47. Kayhan Z., Akpek E.A.: Spinal Cerrahide Anestezi. Keçik Y., Ünal N. (Ed) Nöroanestezi, I. Baskı, Atlas Kitapçılık LTD. ŞTİ, Ankara, 235-282, 2000.
48. Weisberg L.A.: Vascular Disease of the Spinal Cord. In Rowland LP(ed) Merrit's Textbook of Neurology, 10th Ed., Williams & Wilkins, Newyork, pp:271-274, 2000.
49. Sliwa J.A., Maclean I.C.: Ischemic myelopathy: A rewiev of spinal vasculature and related clinical syndromes, Arch. Phy. Med. Rehabil.; 73:365-372, 1992.
50. Dommise G.F.: The blood supply o the spinal cord. A critical vascular zone in spinal surgery, J. Bone Joint. Surgery; 56:225-235, 1974.
51. Svenson L.G., Crawford E.S.: Pathophysiology of aortic crossclamping and influence of spinal cord anatomy. In: Svenson L.G., Crawford E.S., eds. Cardiovascular and vascular disease of the aorta, U.S.A W.B. Saunders Company; 226-247, 1997.
52. Wadouh F., Lindemann E.F., Arndt C.M. et al: The arteria radicularis magna anterior as a decisive factor influencing spinal cord damage during aortic occlusion, Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery; 88:1-10, 1984.
53. Christopherson T.J.: Spinal cord anatomy and blood supply. In Anesthesiology Review Second Edition, Faust RJ edt, Churchill Livingstone, NewYork USA, pp:209-211
54. Odar I.V.: Damarlar. Anatomi Ders Kitabı, 7. Baskı.,Hacettepe Taş Kitapçılık LTD. ŞTİ., Ankara, 2.Cilt. syf:426-462, 1986.
55. Dumont R.H., Okonkwo D.O., Verma S., Hurlbert H.: Acute spinal cord injury. Part I: Pathophysiologic Mechanisms, Clin. Neuropharmacology; 24(5): 254-264, 2001.
56. Bohiman H.H., Ducker T.B.: Spine and spinal cord injuries, in Rothman R.H., Simeone F.A. (eds): The Spine, 3fd. ed., WB Saunders Comp., Philadelphia; pp:973-1104, 1992.
57. Montane I.: Historical perspectives of spinal trauma. in Errico T.J., Bauer R.D., Waugh T. (eds): Spinal Trauma, JB Lippincott comp., Philadelphia, pp:1-9, 1991.
58. Allen A.R.: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report, JAMA; 57:878-880, 1911.
59. Kwon B.K., Oxland T.R., Tetzlaff W.: Animal models used in spinal cord regeneration research, Spine; 27(14):1504-1510, 2002.
60. Xarchas K., Bourandas H.: Injuries and disease of the spine in ancient times. Spine;

28(13):1481-1484, 2003.

61. Tator C.H. in. Wilkins R.H., Rengachary S.S. (ed): Neurosurgery, McGraw-Hill, 2nd edition; pp:2847-2859, 1996.
62. Collins W.F.: A review and update of experimental and clinical studies of spinal cord injury, Paraplegia; 21:204-219, 1983.
63. Tator C.H.: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects, Neurochirurgie; 37:291-302, 1991.
64. Hall E.D.: Pathophysiology of spinal cord trauma, Ann Emerg. Med.; 22:987-992, 1989.
65. Young W.: Secondary injury mechanisms in acute spinal cord injury, H. Emerg. Med.; 11:13-22, 1993.
66. Blight A.R., Young W.: Central axons in injured cat spinal cord recover electrophysiological function following remyelination by schwann cells, H. Neurol Sci.; 91:15-34, 1989.
67. Kiss Z.H.T., Tator C.H.: Neurogenic shock. In:Geller E.R., ed. Shock and Resuscitation, McGraw-Hill, New York; 421-440, 1993.
68. Geisler F.H.: Neuroprotection and regeneration of the spinal cord, in Menezes A.H., Sonntag V.K.H. (eds): Principles of spinal surgery, McGrawHill, New York; pp: 769-784, 1996.
69. Koyonagi I., Tator C.H., Lea P.H.: Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury, Neurosurgery; 32:260-268, 1993.
70. Wallace M.C., Tator C.H., Frazee P.: Relationship between posttraumatic ischemia and hemorrhage in the injured rat spinal cord as shown by colloidal carbon angiography, Neurosurgery; 18:433-439, 1986.
71. Dohrmann G.H., Wagner F.C., Bucy P.C.: The microvasculature in transitory traumatic paraplegia: An electron microscopic study in the monkey, H. Neurosurg.; 35:263-271, 1971.
72. McCord J.M.: Oxygen derived free radicals in postischemic tissue injury, The New England Journal of Medicine; 312(3):159-163, 1985.
73. Simpson P.J., Lucchesi B.R.: Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury, Journal of Laboratory and Clinical Medicine; 110(1):13-30, 1987.
74. Grace P.A.: Ischemia-reperfusion injury, British Journal of Surgery; 81:637-647, 1994.
75. Granger D.N., Korthuis R.J.: Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury,

Annals Review of Physiology; 57:311-332, 1995.

76. Maxwell S.R.J., Lip G.Y.H.: Reperfusion injury: A review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options, *International Journal of Cardiology*; 58:95-117, 1997.
77. Ross S., Foex: Protective effects of anaesthetics in reversible and irreversible ischaemia-reperfusion injury, *British Journal of Anaesthesia*; 82:622-632, 1999.
78. Zimmerman B.J., Granger D.N.: Mechanism of reperfusion injury, *American Journal of Medical Science*; 307:284-292, 1994.
79. Ferrari R., Ceconi C., Curello S., et al.: Oxygen free radicals and myocardial damage: Protective role of thiol-containing agents, *The American Journal of Medicine*; 91(Suppl 3C):95-105, 1991.
80. Horton J.W., Walker P.B.: Oxygen radicals, lipid peroxidation and permeability changes after intestinal ischemia and reperfusion, *Journal of Applied Physiology*; 74(4):1515-1520, 1993.
81. Konya L., Benesath P., Szenasi W., et al.: Lack of effect of antioxidant therapy during renal ischemia and reperfusion in dogs, *Experientia*; 49:235-237, 1993.
82. Minor T., Isselhard W., Yamamoto Y., et al.: The effects of allopurinol and SOD on lipid peroxidation and energy metabolism in the liver after ischemia in a aerobic/anaerobic persufflation, *Surgery Today*; 23:728-732, 1993.
83. Prasad K., Kalra J.: Cardiac depressant effects of oxygen free radicals, *Angiology*; 44:257-270, 1993.
84. Salaris S.C., Barbs C., Voorhees W.D.: Methylene blue as an inhibitor of superoxide generation by xanthine oxidase, *Biochemical Pharmacology*; 42(3):499-506, 1991.
85. Xiaobing F., Huiming T., Dewen W., et al.: Multiple organ injuries and failures caused by shock and reperfusion after gunshot wounds, *Journal of Trauma: Injury, Infection and Critical Care*; 40(3):135-139, 1996.
86. Freeman B.A., Crapo J.D.: Free radicals and tissue injury, *Circulation*; 47:412- 426, 1982.
87. Myers M.L., Bolli R., Lekich R.F.: Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free-radical scavengers after reversible regional ischemia, *Circulation*; 72:915-921, 1985.
88. Fuji S.: The role of glutathione peroxidase in the anti-oxidant system of erythrocytes, *British Journal of Haematology*; 68:262-271, 1988.

89. Lemasters Thurman R.: The many facets of reperfusion injury, *Gastroenterology*; 108:1317-1320, 1995.
90. Mao G.D., Panakkezhum D., Thomasd G.D.: Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates, *Journal of Biology and Chemistry*; 268:416-420, 1993.
91. Gelman S.: Pathophysiology of aortic cross-clamping, *Acta Anesthesiologica Scandinavica*; 40:41-42, 1997.
92. Simon R.J., Gregory Y.H.: Reperfusion injury: A review of the pathophysiology, clinical manifestation and therapeutic options, *International Journal of Cardiology*; 58:95-117, 1997.
93. Steward J.R., Blackwell W.H., Crute L.S., et al.: Inhibition of surgically induced ischemia/reperfusion injury by oxygen free radical scavengers, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*; 86:262-272, 1983.
94. Sela S., Shasha S.M., Mashiasch E.: Effect of oxygen tension on activity of antioxidant enzymes and on renal function of the postischemic reperfused rat kidney, *Nephron*; 63:199-206, 1993.
95. Takemoto Y., Uchida M., Nagasue N.: Changes in calcium content of the liver during hepatic ischemia-reperfusion in dogs, *Journal of Hepatology*; 21:743-747, 1994.
96. Vlesis A.A., Melariker L.: Potential role of mitochondrial calcium metabolism during hepatic ischemia-reperfusion in dogs, *Journal of Hepatology*; 21:743-747, 1994.
97. Chaves R.E., Desola P.G., Romero P., et al.: Ischemia and reperfusion injury of the rat liver: The role of nimodipine, *Journal of Surgical Research*; 60:199-206, 1996.
98. Gelman S.: The pathophysiology of aortic cross-clamping and unclamping, *Anesthesiology*; 82:1026-1060, 1995.
99. Kobayashi H., Toshiaki N., Kurokawa T., et al.: Mechanism and prevention of ischemia-reperfusion induced liver injury in rats, 51:240-244, 1991.
100. Kawasaki S., Sugiyama S., Ishiguro N.: Implication of superoxide radicals on ischemia-reperfusion induced skeletal muscle injury in rats, *European Surgical Research*; 25:129-136, 1993.
101. Welbourn R., Goldman W., Kobzik L., et al.: Role of neutrophil adherence receptors (CD 18) in lung permeability following lower torso ischemia, *Circulation Research*; 71:82-86, 1992.
102. Sare M., Bozkurt S., Onuk E.: The effects of indomethacin, NDGA, allopurinol

- and superoxide dismutase on prostaglandin E2 and leukotriene C4 levels after mesenteric ischemia-reperfusion injury. *Prostaglandins, Leukotriens and Essential Fatty Acids*, 55:379-383, 1996.
103. Öz B.: Medulla spinalis yaralanmalarında patoloji, In Hancı M.; Medulla spinalis yaralanmaları, pp:137-142, 2000.
 104. Kakulas B.A., Taylor H.R.: Pathology of injuries of vertebral column and spinal cord. Frankel H.L., ed. *Handbook of clinical neurology*, Vol.61, Els. Sci. Pub.;pp:21-51, 1992.
 105. Kakulas B.A.: Pathology of spinal injuries, *Cent Nerv. Syst. Trauma*; 1 (2):117-129, 1984.
 106. Ducker T.B., Kindt G.W., Kepme L.G.: Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *H. Neurosurg.*; 35:700-708, 1971.
 107. West N., Collins G.H.: Cellular changes during repair of a cryogenic spinal cord injury in rat, *H. Neuropathol*; 48:94-108, 1989.
 108. Fried L., Goodkin R.: Microangiographic observations of the experimentally traumatized spinal cord, *H. Nerosurg.*; 35:709-714, 1971.
 109. Anderson T.: Spinal cord contusion injury: Experimental dissociation of hemorrhagic necrosis and subacute loss of axonal conduction, *H. Neurosurg.*; 62:115-119, 1985.
 110. Gelman S., Khazelli M.B., Orr R., Henderson T.: Blood volume redistribution during crossclamping of the descending thoracic aorta, *Anesth. Analg.*; 78:219-224, 1994.
 111. Mongan P.D., Peterson R.E., Williams D.: Spinal evoked potentials are predictive of neurologic function in a porcine model of aortic occlusion, *Anesth. Analg.*; 78:257-266, 1994.
 112. Mutch WAC., Thompson I.R., Tskey J.M., Thiessen D., Rosenbloom M.: Phlebotomy reverses the hemodynamic consequences of thoracic aortic cross-clamping: Relationships between central venous pressure and cerebrospinal fluid pressure, *Anesthesiology*; 74:320-324, 1991.
 113. Simpson R.K., Blackburn J.G., Martin H.F., Katz S.: The effect of spinal cord injury on somatosensory evoked potentials produced by interactions between afferent pathways, *Neurol. Research*; 5:39-56, 1983.
 114. Simpson R.K., Blackburn J.G., Martin H.F., Katz S.: Peripheral nerve fiber and spinal cord pathway contributions to the somatosensory evoked potential, *Exp.*

Neurol.; 73:700-715, 1981.

115. Robertson C.S., Foltz R., Grossman R.G., Goodman J.C.: Protection against experimental ischemic spinal cord injury, *J. Neurosurg.*; 46:633-642, 1986.
116. Baskin D.S., Simpson R.K.: Corticomotor and somatosensory evoked potential evaluation of acute spinal cord injury in rat, *Neurosurgery*; 20:871-877, 1987.
117. Chabot R., York D.H., Watts C., Waugh W.E.: Somatosensory evoked potentials evaluated in normal subjects and spinal cord-injured patients, *Journal of Neurosurgery*; 63:544-551, 1985.
118. Cunningham J.N., Laschinger J.C., Spencer F.C.: Monitoring of somatosensory evoked potentials during surgical procedures on the thoracoabdominal aorta. IV-Clinical observations and results, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*; 94:275-285, 1987.
119. D'Angelo C.M., VanGilder J.C., Taur A.: Evoked cortical potentials in experimental spinal cord trauma, *Journal of Neurosurgery*; 38:332-335, 1973.
120. Dinner D.S., Luders H., Lesser R.P., Morris H.H., Barnett G., Klem G.: Intraoperative spinal somatosensory evoked potential monitoring, *Journal of Neurosurgery*; 65:807-814, 1986.
121. Grossi E.A., Laschinger J.C., Krieger K.H., Nathan I.M., Colvin S.B., Weiss R.M., Baumann F.G.: Epidural-evoked potentials: A more specific indicator of spinal cord ischemia, *Journal of Surgical Research*; 44:224-228, 1988.
122. Kai Y., Owen J.H., Allen B.T., Dobras M., Davis C.: Relationship between evoked potentials and clinical status in spinal cord ischemia, *Spine*; 19:1162-1168, 1994.
123. Katifi H.A., Sedgwick E.M.: Somatosensory evoked potentials from posterior tibial nerve and lumbosacral dermatomes. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*; 65:249-259, 1986.
124. Laschinger J.C., Cunningham J.N., Cooper M.M., Baumann F.G., Spencer F.C.: Monitoring of somatosensory evoked potentials during surgical procedures on the thoracoabdominal aorta, I-Relationship of aortic cross-clamp duration, changes in somatosensory evoked potentials, and incidence of neurologic dysfunction, *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*; 94:260-265, 1987.
125. Laschinger J.C., Cunningham J.N., Baumann F.G., Isom O.W., Spencer F.: Monitoring of somatosensory evoked potentials during surgical procedures on the thoracoabdominal aorta, II-Use of somatosensory evoked potentials to assess adequacy of distal aortic bypass and perfusion after aortic cross-clamping,

Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery; 94:266-270, 1987.

126. Laschinger J.C., Cunningham J.N., Baumann F.G., Cooper M.M., Krieger K.H., Spencer F.C.: Monitoring of somatosensory evoked potentials during surgical procedures on the thoracoabdominal aorta, III-Intraoperative identification of vessels critical to spinal cord blood supply, Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery; 94:271-274, 1987.
127. Levy W., McCaffrey M., York D.: Motor evoked potential in cats with acute spinal cord injury, Neurosurgery; 19:9-19, 1986.
128. Nashold B.S., Ovelmen-Levitt J., Sharpe R., Higgins A.C.: Intraoperative evoked potentials recorded in man directly from dorsal roots and spinal cord, Journal of Neurosurgery; 62:680-693, 1985.
129. Poncelet L., Michaux C., Balligand M.: Somatosensory potentials in dogs with naturally acquired thoracolumbar spinal cord disease, American Journal of Veterinary Research; 54:1935-1941, 1993.
130. Ross I.B., Tator C.H.: Spinal cord blood flow and evoked potential responses after treatment with nimodipine or methylprednisolone in spinal cord injured rats, Neurosurgery; 33:470-477, 1993.
131. Thompson S.E., Moore M.P., Lincoln J.D., Person M.W., Barbee D.D., Barnes C.D.: Intraoperative monitoring of ischiatic nerve function with sensory evoked potentials, Veterinary Surgery; 19:276-282, 1990.
132. Whittle I.R., Johnston I.H., Besser M.: Recording of spinal somatosensory evoked potentials for intraoperative spinal cord monitoring, Journal of Neurosurgery; 64:601-612, 1986.
133. Whittle I.R., Johnston I.H., Besser M.: Spinal cord monitoring during surgery by direct recording of somatosensory evoked potentials, Journal of Neurosurgery; 60:440-443, 1984.
134. Wiederholt W.C.: Early components of the somatosensory evoked potential in man, cat and rat, Progresses in Clinical Neurophysiology, Desmedt JE Edit., Karger, Basel, Vol.7., pp:105-117, 1980.
135. Yiannikas C., Shaham B.T.: The origins of lumbosacral spinal evoked potentials in human using a surface electrode recording technique, Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry; 51:499-508, 1988.
136. Zileli M., Schramm J.: Motor versus somatosensory evoked potential changes after acute experimental spinal cord injury in rats, Acta Neurochirurgica; 108:140-147,

1991.

137. Ducker T.B., Zeidman S.M.: Spinal cord injury. Role of steroid therapy, *Spine*; 19:2281-2287, 1994.
138. Tuma R.F., Vasthare U.S., Arforks K.E., Young W.F.: Hypertonic saline administration attenuates spinal cord injury, *H. Trauma*; 42:54-60, 1997.
139. Levy M.L., Gans W., Wijesinghe H.S.: Use of methylprednisolone as an adjunct in the management of patients with penetrating spinal cord injury, *Neurosurgery*; 39:1141-1149, 1996.
140. Rhoney D.H., Luer M.S., Hughes M.: New pharmacological approaches to acute spinal cord injury, *Pharmacotherapy*; 16:382-392, 1996.
141. Hall E.D.: Effects of the 21-aminosteroid U-74006F on posttraumatic spinal cord ischemia in cats, *H. Neurosurg.*; 6:176-179, 1988.
142. Kaptanoğlu E., Tator C.H.: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma strat., In Zileli M.; Omurilik ve omurga cerrahisi, 2nd ed. pp:813-832, 2002.
143. Hall E.D., Wolf D.L., Althaus H.S.: Beneficial effects of the alpha opioid recep. Antagonists, *Brain Res.*; 435:174-180, 1987.
144. Faden A.I., Takemore A.E., Portogese T.S.: Alpha selective opiate antagonists norbinaltorphimine improves outcome after spinal cord ischemia, *H. Neurosurg.*; 64:951-961, 1986.
145. Imanaka T., Hukuda S., Maeda T.: The role of GM-1 ganglioside in the injured spinal cord of rats, *H. Neurotrauma*; 13:163-170, 1996.
146. Faden A.I.: Therapeutic approaches to spinal cord injury, *Adv. Neurol.*; 72:377-386, 1997.
147. Hall E.D., Braugler H.M.: Role of lipid peroxidation in posttraumatic spinal cord degeneration, *CNS Trauma*; 3:281-293, 1987.
148. Weir B.: Calcium antagonists, cerebral ischemia and vasospasm, *Can. H. Neu.*; 11:239-246, 1984.
149. Suzer T., Coskun E., Islekel H., et al.: Neuroprotective effects of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury, *Spinal Cord*; 37:480-484, 1999.
150. Teng Y.D., Wrathall H.R.: Local blockade of sodium channels by tetrodotoxin ameliorates tissue loss and long term functional deficits resulting from experimental spinal cord injury, *H. Neurosci.*; 17:4359-4366, 1997.
151. Shwartz G., Fehlings M.G.: Evaluation of the neuroprotective effects of sodium

- channel blockers after spinal cord injury: Improved behavioral and neuroanatomical recovery with Riluzole, *H. Neurosurg.*; 94: 245-56, 2001.
152. Katzung B.G.: Basis and clinical pharmacology, Stamford: Appleton-Lange; 304-317, 1998.
 153. Arnold P.M., Citrom B.A., Ameenuddin S. et al.: Caspase-3 inhibition is neuroprotective after spinal cord injury, *H. Neurochem.*; 74:811-829, 2000.
 154. Woodman D.D.: Erythropoietin, *Comparative Haematology International*; 2:1-7, 1992.
 155. Dordal M.S., Wang F.F., Goldwasser E.: The role of carbohydrate in erythropoietin action, *Endocrinology*; 116:2293, 1985.
 156. Miyake T., Kung CKH. and Goldwasser E.: Purification of human erythropoietin, *J. Biol. Chem.*; 252:5558-5564, 1977.
 157. Wang F.F., Kung CKH., Golwasser E.: Some chemical properties of human erythropoietin, *Endocrinology*; 116:2286, 1985.
 158. Fisher J.W.: Erythropoietin, In Massry S.G., Glassock R.J., *Textbook of Nephrology*, 3rd Edition, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland USA,; 191-197, 1995.
 159. Annable L., Cotes P.M., Mussett M.V.: The second international reference preparation of erythropoietin, human, urinary, for bioassay, *Bull Org. Mond. Sante*; 47:99-112, 1972.
 160. Fried W., Barone-Varelas J., Morley C.: Factors that regulate extrarenal erythropoietin production. *Blood Cells*; 10:287, 1984.
 161. Krantz S.B.: Erythropoietin, *Blood*; 77(3):419-434, 1991.
 162. Naughton B.A., Birnbach D.L., Liu P., et al.: Erythropoietin production and kupffer cell alterations following nephrectomy, hypoxia or combined nephrectomy and hypoxia, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*; 160:170-174, 1979.
 163. Jacobson L.O., Goldwasser E., Fried W., Plzak L.: Role of the kidney in erythropoiesis, *Nature*; 179:633, 1957.
 164. Caro J., Erslev A.J., Silver R., Miller O., Birgegard G.: Erythropoietin production in respons to anemia or hypoxia in the newborn rat, *Blood*; 60(4):984-988, 1982.
 165. Giger U.: Erythropoietin and its clinical use, *Comp. Continuing Education Article*; 14(1):25-34, 1992.
 166. Beru N., McDonald J., Lacombe C., Goldwasser E.: Expresion at the erythropoietin gene, *Mol. Cell. Biol.*; 6:2571, 1986.

167. Schuster S.J., Wilson J.H., Erslev A.J. and Caro J.: Physiologic regulation and tissue localization of renal erythropoietin messenger RNA, *Blood*; 70(1):316-318, 1987.
168. Koury S.T., Koury M.J., Bondurant M.C.: The biogenesis of erythropoietin in vivo, in Erslev A.J., Adamson J.W., Eschbach J.W., Winearls C.G. (eds): *Erythropoietin*, MD, Johns Hopkins University, Baltimore, 1990.
169. Spivak J.L.: Recombinant human erythropoietin and the anemia of cancer, *Blood*; 84(4):997-1004, 1994.
170. Lacombe C., Da Silva J.L., Bruneval P., Fournier J.G., Wendling F., Casadevall N., Camilleri J.P., Bariety J., Varet B. and Tambourin P.: Peritubular cells are the site of erythropoietin synthesis in the murine hypoxic kidney, *J. Clin. Invest.*; 81:620-623, 1988.
171. Rodgers G.M., Fisher J.M., George W.J.: The role of renal adenosine 3', 5'-Monophosphate in the control of erythropoietin production, *Am. J. Med.*; 58:31-38, 1975.
172. Zanjani E.D., Poster J., Burlington H.: Liver as a primary site of erythropoietin formation in the fetus, *J. Lab. Clin. Med.*; 89:640, 1977.
173. Cotes P.M.: *Erythropoietin hormones in blood*, 3rd Ed., Vol.4, Academic Press Inc., London; 195-211, 1983.
174. Spivak J.L. and Watson A.J.: Hematopoiesis and the Kidney *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, Second Ed., Raven Press, Ltd., New York; Chapter 42, 1553-1593, 1992.
175. Browne J.K., Cohen A.M., Egrie J.C., Lai P.H., Lin F.K., Strickland T., Watson E., Stebbing N.: Erythropoietin, gene cloning protein structure and biological properties, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*; 51:693-702, 1986.
176. Rich I.N., Hert W., Kubanek B.: Extrarenal erythropoietin production by macrophages, *Blood*; 60:1007, 1982.
177. Goldwasser E., et al.: The effect of interleukin-3 on hemopoietic precursor cells. In: *Normal and neoplastic hematopoiesis*, Alan R. Liss, New York; pp: 301-309, 1983.
178. Youssoufian H., Longmore G., Neumann D., Yoshimura A., Lodish H.F.: Structure, function and activation of the erythropoietin receptor, *Blood*; 81:2223-2236, 1993.
179. Sawyer S., Krantz S.B., Sawada K.: Receptors for erythropoietin in mouse and

- human erythroid cells and plasenta, *Blood*; 74(1):103-109, 1989.
180. Sawada K., Krantz S.B., Dai C.H., Koury S.T., Horn S.T., Glick A.D., Civin C.: Purification of human blood burst-forming units-erythroid and demonstration of the evolution of erythropoietin receptors, *J. Cell Physiol.*; 142:219, 1990.
 181. Sawyer S.T.: Receptors for erythropoietin. Distribution, structure and role in receptor-mediated endocytosis in erythroid cells, In Harris JR (ed): *Blood Cell Biochemistry*, vol I, New York, NY, Plenum; pp:365, 1990.
 182. Erslev A.J.: Erythropoietin, *N. Eng. J. Med.*; 324(19):1339-1344, 1991.
 183. Juul S.E., Yachnis A.T., Rojiani A.M., Christensen R.D.: Immunohistochemical localization of erythropoietin and its receptor in the developing human brain, *Pediatric and Developmental Pathology*; 2:148-158, 1999.
 184. Anagnostou A., Liu Z., Steiner M., Chin K., Lee E.S., Kessimian N., Noguchi C.T.: Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 91:3974-3978, 1994.
 185. Anagnostou A., Lee E.S., Kessimian N., Levinson R., Steiner M.: Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on erythro-endothelial cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 87:5978-5982, 1990.
 186. Chin K., Yu X., Cokic B.B., Liu C., Shen K., Mohrenweiser H.W., Noguchi C.T.: Production and processing of erythropoietin receptor transcripts in brain. *Molecular Brain Research*; 81:29-42, 2000.
 187. Koury M.J., Bondurant M.C.: Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells, *Science*; 248:273, 1990.
 188. Wintrobe M.M.: *Clinical Hematology*, Lea-Febiger, Philadelphia; 690, 1981.
 189. Spivak J.L., Hogans B.B.: The in vivo metabolism of recombinant human erythropoietin in the rat, *Blood*; 73:90-99, 1989.
 190. Naets J.P., Wittek M.: A role of the kidney in the catabolism of erythropoietin in the rat, *J. Lab. Clin. Med.*; 84:99-106, 1974.
 191. Fu J.S., Leria J.J.L., Rice J.C., Fisher J.W.: Pharmacokinetics of erythropoietin in intact and anephric dogs, *J. Lab. Clin. Med.*; 111:669-676, 1983.
 192. Piroso E., Erslev A.J., Flaharty K.K. et al.: Erythropoietin life span in rats with hypoplastic and hypoplastic bone marrows, *Am. J. Haematol.*; 36:105-110, 1991.
 193. Dilek İ., Uysal V.A., Üstün C.: Rekombinant Human Eritropoietin ve klinik uygulamaları, *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi*; 7(2):1-7, 1997.
 194. Fisher J.W.: Erythropoietin: Physiology and pharmacology update, *Exp. Biol.*

Med.; 228(1):1-14, 2003.

195. İşlek İ., Albayrak D.: Eritropoietin, O.M.U. Tıp Dergisi; 10(1-2):65-72, 1993 .
196. Macdougall I.C.: Optimizing the use of erythropoietic agents-pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations, Nephrol. Dial. Transplant.; 17(5):66-70, 2002.
197. Johnson C.A., Wakeen M., Taylor C.A., Zimmerman S.W., Burkart J., Bhattacharya A., Kosorok M.R.: Comparison of intraperitoneal and subcutaneous epoetin alfa in peritoneal dialysis patients, Peritoneal Dialysis International; 19(6):578-582, 1999.
198. Tarlov I.M.: Acute spinal cord compression in paralysis, J. Neurosurg.; 36:10-20, 1972.
199. Matsumoto M., Lida Y., Sakabe T., Sano T., Ishikawa T.: Mild and moderate hypothermia provide better protection than a burst-suppression dose of thiopental against ischemic spinal cord injury in rabbits, Anesthesiology; 86:1120-1127, 1997.
200. Sakurai M., Hayashi T., Abe K., Itoyama Y., Tabayashi K.: Cyclin D₁ and Cdk₄ protein induction in motor neurons after transient spinal cord ischemia in rabbits, Stroke; 31:200-207, 2000.
201. Allen A.R.: Remarks on the histopathological changes in the spinal cord due to impact. An experimental study, H. Nerv. Dis.; 41:141-147, 1914.
202. Hollier L.H.: Protecting the brain and spinal cord, J. Vasc. Surg.; 5:524-528, 1987.
203. Kirshner D.L., Kirshner R.L., Heggeness L.M., De Weese J.A.: Spinal cord ischemia: An evaluation of pharmacologic agents in minimizing paraplegia after aortic occlusion, J. Vasc. Surg.; 9:305-308, 1989.
204. Plaa G.L., Witschi H.: Chemicals, drugs and lipid peroxidation, Ann. Rev. Pharmacol.; 26:203-217, 1976.
205. Majewska M.D., Strosznajder J., Lazarewicz J.: Effect of ischemia, anoxia and barbiturate anesthesia on free radical oxidation of mitochondrial phospholipids, Brain Res.; 158:423-434, 1978.
206. Bingham W.G., Goldman H., Friedman S.J., Murphy S., Yashon D., Hunt W.E.: Blood flow in normal and injured monkey spinal cord, Journal of Neurosurgery; 43:162-170, 1975.
207. Dow-Edwards D., DeCrescito V., Tomasula J.J., Flamm E.S.: Effect of aminophylline and isoproterenol on spinal cord blood flow after impact injury, Journal of Neurosurgery; 53:385-390, 1980.

208. Griffiths I.R.: Spinal cord blood flow after acute experimental cord injury in dogs, *Journal of the Neurological Sciences*; 27:247-259, 1976.
209. Kurtz A.: Erythropoietin: Structure, function, origin, *Advances in nephrology*; 16:371-378, 1987.
210. Koury M.J., Bondurant M.C.: Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells, *Science*; 248(4953):378-381, 1990.
211. Marti H.H., Wenger R.H., Rivas A., Straumann U., Digicaylioglu M., Henn V., Yonekawa Y., Bauer C., Gassmann M.: Erythropoietin gene expression in human, monkey and murine brain, *Eur. J. Neurosci.*; 8(4):666-676, 1996.
212. Haller H., Christel C., Dannenberg L., Thiele P., Lindschau C., Luft F.C.: Signal transduction of erythropoietin in endothelial cells, *Kidney Int.*; 50(2):481-488, 1996.
213. Yasuda Y., Masuda S., Chikuma M., Inoue K., Nagao M., Sasaki R.: Estrogen-dependent production of erythropoietin in uterus and its implication in uterine angiogenesis, *J. Biol. Chem.*; 273(39):25381-25387, 1998.
214. Yasuda Y., Nagao M., Okano M., Masuda S., Sasaki R., Konishi H., Tanimura T.: Localization of erythropoietin and erythropoietin-receptor in postimplantation mouse embryos, *Develop. Growth and Differ.*; 35:711-722, 1993.
215. Yasuda Y., Okano M., Nagao M., Masuda S., Konishi H., Ueda K., Matsuo T., Tsujiguchi K., Tajima S., Sasaki R., Tanimura T.: Erythropoietin in mouse avascular yolk sacs is increased by retinoic acid, *Dev. Dyn.*; 207(2):184-194, 1996.
216. Fandrey J., Bunn H.F.: In vivo and in vitro regulation of erythropoietin mRNA: Measurement by competitive polymerase chain reaction, *Blood*; 81(3):617-623, 1993.
217. Magnanti M., Gandini O., Giuliani L., Gazzaniga P., Marti H.H., Gradilone A., Frati L., Agliano A.M., Gassmann M.: Erythropoietin expression in primary rat sertoli and peritubular myoid cells, *Blood*; 98(9):2872-2874, 2001.
218. Lappin T.: The cellular biology erythropoietin receptors, *The oncologist*; 8(1):15-18, 2003.
219. Dame C., Juul S.E., Christensen R.D.: The biology erythropoietin in the central nervous system and its neurotrophic and neuroprotective potential, *Biol. Neonate.*; 79(3-4):228-235, 2001.
220. Sakanaka M., Wen T.C., Matsuda S., Masuda S., Morishita E., Nagao M., Sasaki

- R.: In vivo evidence that erythropoietin protects neurons from ischemic damage, *Proc. Natl. Acad. Sci.*; 95:4635-4640, 1998.
221. Delivaria-Papadopoulos M., Mishra O.P.: Mechanisms of cerebral injury in perinatal asphyxia and strategies for prevention, *J. Pediatr.*; 132:30-34, 1998.
222. Iguchi Y., Hattori H., Kume T., Tsuji M., Akaike A., Furusho K.: Increase in nitric oxide in the hypoxic-ischemic neonatal rat brain and suppression by 7-nitroindazole and aminoguanidine, *Eur. J. Pharmacol.*; 342(1):47-49, 1998.
223. Aydın A., Genç K., Akhisaroğlu M., Yörükoğlu K., Gökmen N., Gönüllü E.: Erythropoietin exerts neuroprotective effect in neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain injury, *Brain Development*; 25(7):494-498, 2003.
224. Carlini R.G., Alonzo E.J., Dominguez J., Blanca I., Weisinger J.R., Rothstein M., Bellorin Font. E.: Effect of recombinant human erythropoietin on endothelial cell Apoptosis, *Kidney Int.*; 55(2):546-553, 1999.
225. Juul S.E., Anderson D.K., Li Y., Christensen R.D.: Erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human central nervous system, *Pediatr. Res.*; 43(1):40-49, 1998.
226. Junk A.K., Mammis A., Savitz S.I., Singh M., Roth S., Malhotra S., Rosenbaum P.S., Cerami A., Brines M., Rosenbaum D.M.: Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*; 99(16):10659-10664, 2002.
227. Siren A.L., Fratelli M., Brines M., Goemans C., Casagrande S., Lewczuk P., Keenan S., Gleiter C., Pasquali C., Capobianco A., Mennini T., Heuman R., Cerami A., Ehrenreic H., Ghezzi P.: Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.(PNAS)*; 98(7):4044-4049, 2001.
228. Solaroğlu İ., Solaroğlu A., Kaptanoğlu E., Dede S., Haberal A., Beşkonaklı E., Kılınç K.: Erythropoietin prevents ischemia-reperfusion from inducing oxidative damage in fetal rat brain, *Childs Nerv. Syst.*; 19(1):19-22, 2003.
229. Calapai G., Marciano M., Corica F., Allegra A., Parisi A., Frisina N., Caputi A., Buemi M.: Erythropoietin protects brain against brain injury by nitric oxide Formation, *European Journal of Pharmacology*; 401:349-356, 2000.
230. Calvillo L., Latini R., Kajstura J., Leri A., Anversa P., Ghezzi P., Salio M., Cerami A., Brines M.: Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling, *Proc. Natl.*

Acad. Sci. USA.; 100(8):4802-4806, 2003.

231. Yang C.W., Li C., Jung J.Y., Shin S.J., Choi B.S., Lim S.W., Sun B.K., Kim Y.S., Kim J., Chang Y.S., Bang B.K.: Preconditioning with erythropoietin protects against subsequent ischemia-reperfusion injury in rat kidney, *FASEB J.*; 17(12):1754-1755, 2003.
232. Marti H.H., Gassmann M., Wenger R.H., Kvietikova I., Morganti-Kossmann M.C., Kossmann T., Trentz O., Bauer C.: Detection of erythropoietin in human liquor: Intrinsic erythropoietin production in the brain, *Kidney Int.*; 51:416-418, 1997.
233. Brines M., Ghezzi P., Keenan S., Agnello D., Lanerolle N.C., Cremin C., Itri L.M., Cerami A.: Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*; 97(19):10526-10531, 2000.
234. Kumral A., Baskin H., Gokmen N., Yilmaz O., Genc K., Genc S., Tatli M.M., Ozer E., Ozkan H.: Selective inhibition of nitric oxide in hypoxic-ischemic brain model in newborn rats: Is it an explanation for the protective role of erythropoietin?, *Biol. Neonate.*; 85(1):51-54, 2004.
235. Kumral A., Baskin H., Duman N., Yilmaz O., Tatli M., Özer E., Gokmen N., Genc S., Ozkan H.: Erythropoietin protects against necrotizing enterocolitis of newborn rats by the inhibiting nitric oxide formation, *Biol. Neonate.*; 84(4):325-329, 2003.
236. Moon C., Krawczyk M., Ahn D., Ahmet I., Paik D., Lakatta E.G., Talan M.I.: Erythropoietin reduces myocardial infarction and left ventricular functional decline after coronary artery ligation in rats, *Proc. Natl. Acad. Sci.*; 100(20):11612-11617, 2003.
237. Nemoto T., Yokota N., Keane W.F., Rabb H.: Recombinant erythropoietin rapidly treats anemia in ischemic acute renal failure, *Kidney Int.*; 59(1):246-251, 2001.
238. Juul S.E., Ledbetter D.J., Oyce A.E., Dame C., Christensen R.D., Zhao Y., DeMarco V.: Erythropoietin acts as a trophic factor in neonatal rat intestine, *Gut.*; 49(2):182-189, 2001.
239. Buemi M., Grasso G., Corica F., Calapai G., Salpietro F.M., Casuscelli T., Sfacteria A., Aloisi C., Concetta A., Sturiale A., Frisina N., Tomasello F.: In vivo evidence that erythropoietin has arterio-neuroprotective effect during subarachnoid hemorrhage, *European Journal of Pharmacology*; 392:31-34, 2000.
240. Alafaci C., Salpietro F., Grasso G., Sfacteria A., Passalacqua M., Morabito A.,

- Tripodo E., Calapai G., Buemi M., Tomasello F.: Effect of recombinant human erythropoietin on cerebral ischemia following experimental subarachnoid hemorrhage, *European Journal of Pharmacology*; 406:219-225, 2000.
241. Sinor A.D., Greenberg D.A.: Erythropoietin protects cultured cortical neurons, but not astroglia from hypoxia and AMPA toxicity, *Neuroscience Lett.*; 290:213-215, 2000.
242. Digicaylioglu M., Bichet S., Marti H.H., Wenger R.H., Rivas L.A., Bacer C., Gassmann M.: Localization of specific erythropoietin binding sites in defined areas of mouse brain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*; 92:3717-3720, 1995.
243. Liu C., Shen K., Liu Z., Noguchi C.T.: Regulated human erythropoietin receptor expression in mouse brain, *J. Biol. Chem.*; 272:32395-32400, 1997.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Adapazarı ilinde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi aynı ilde tamamladıktan sonra İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden 1999 yılında mezun oldum. 2000 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji A.B.D.'nda uzmanlık eğitimine hak kazandım. Halen aynı kurumda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım. Evli ve 2 çocuk annesiyim .