

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**171873
DENEYSEL SPİNAL KORD İSKEMİ-REPERFÜZYON
YARALANMASINDA ATORVASTATİNİN
ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Özgür KARDEŞ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Şükrü AYKOL**

ANKARA-2006

TEŞEKKÜR

Uzun ve zorlu Beyin ve Sinir Cerrahisi Uzmanlık Eğitimim sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Şükrü Aykol ve çalışmalarımızı çok daha sağlıklı bir ortamda yürütebilmemizi sağlayan Beyin ve Sinir cerrahisi mikrocerrahi ve araştırma laboratuvarını kliniğimize ve üniversitemize kazandıran Anabilim Dalı Başkanım Prof.Dr. Necdet Çeviker başta olmak üzere Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli hocalarım Prof. Dr. Aydın Paşaoğlu, Prof. Dr. M. Kemali Baykaner, Prof. Dr. Toygun Orbay' a, akademik katkıları yanında her türlü dostça yaklaşımlarından dolayı ağabeylerim Doç.Dr. Fikret Doğulu, Yrd. Doç. Dr. A.Memduh Kaymaz ve Yrd. Doç. Dr. Gökhan Kurt'a, uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalışmaktan büyük zevk aldığım Uzm. Dr. M. Namık Öztanır ve Uzm. Dr. Hakan Emmez' e, mevcut çalışmada biyokimyasal analizleri yapan Fizyoloji AD. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Eser Öz' e, histopatolojik incelemeleri yapan Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Suna Ömeroğlu' na, istatistiksel analizleri yapan Kürşat Kafka' ya, ayrıca Dr. Bülent Çelik başta olmak üzere tüm hekim ve hemşire çalışma arkadaşlarıma esirgemedikleri maddi ve manevi destekleri için sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLolar VE ŞEKİLLER.....	vi
KISALTMALAR.....	ix
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
I. 1. 1. İNSAN SPİNAL ANATOMİSİ.....	3
I. 1. 2. SPİNAL KORD KAN DOLAŞIMI	4
I. 2. SANTRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON FİZYOPATOLOJİSİ.....	8
I. 2. 1. İSKEMİDE ENERJİ EKSİKLİĞİ SONUCU GELİŞEN OLAYLAR	9
A-) Asidoz.....	9
B-) Makromolekül Sentezinin Durması.....	10
C-) İyon Dengesinin Bozulması	10
a. Hücre dışından kalsiyum girişi	12
b. Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınımı	14
c. İntrasellüler kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması	14
* Lipoliz.....	15
** Proteoliz	16
*** Dna Hasarı	17
**** Mitokondrial Elektron Transport Zinciri Hasarı.....	17
D-) ATP Yıkım Ürünlerinin Birikimi	17
I. 2. 2. REPERFÜZYONDA SERBEST RADİKAL ÜRETEN KAYNAKLAR.....	18
1. Mitokondrial elektron transport zincirinden oksijen kaçaklarının artması.....	18
2. Vasküler endotel kaynaklı ksantin oksidaz (XO) reaksiyon	18
3. Lökosit (nötrofil, lenfosit, monosit) aktivasyonu.....	19
4. Plazma ve organel membranlarından kaynaklanan araşidonik asid kaskatı.....	20
5. Nitrik oksid sentaz (NOS) aracılı serbest radikal oluşumu	20
I. 3. 1. AORTİK KROS KLEMPLEMENİN SPİNAL KORD ÜZERİNE ETKİLERİ.....	21
I. 3. 2. SPİNAL KORDU İSKEMİDEN KORUMA YÖNTEMLERİ	23
A. Spinal Kord Kan Akımının Sürdürülmesi	24

Hızlı cerrahi	24
Distal aortik perfüzyon.....	25
İntratekal vazodilatatörler	25
İnterkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu	26
Beyin-omurilik sıvısının (BOS) drenajı.....	26
B. Spinal Kordun İskemiye Toleransının Artırılması.....	27
Kortikosteroidler	27
Kalsiyum antagonistleri	28
Eksitatuvar amino asit antagonistleri	28
Anestezik ajanlar	28
Hipotermi	28
C. Reperfüzyon Hasarının Azaltılması.....	29
I. 4. ATORVASTATİN	29
Farmakolojik Özellikleri.....	30
Farmakodinamik özellikleri.....	30
Farmakokinetik özellikleri ve ilaç metabolizması	32
Statinlerin yararlı etkileri.....	36
Nitrik oksit sentezi.....	38
GEREÇLER VE YÖNTEM	43
II. 1. DENEY GRUBU.....	43
II. 2. ANESTEZİ VE MONİTORİZASYON.....	43
II. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	43
II. 4. CERRAHİ TEKNİK	44
II. 5. FİZYOLOJİK PARAMETRELER.....	46
II. 6. Doku Ve Kan Örneklerinin Alınması	47
II. 7. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME.....	48
Nöronlar;.....	48
Aksonlar:	48
II. 8. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ	49
BULGULAR	53
III. 1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI.....	53

III.2. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI.....	60
III. 2. 1. MDA DOKU	60
III. 2. 2. MDA PLAZMA	61
III. 2. 3. GLUTATYON DOKU	62
III. 2. 4. GLUTATYON PLAZMA	63
III. 2. 5. a. NİTRAT DOKU	64
III. 2. 5. b. NİTRİT DOKU.....	64
III. 2. 6. a. NİTRAT PLAZMA	64
III. 2. 6. b. NİTRİT PLAZMA.....	65
NO (NİTRİT+ NİTRAT).....	65
III. 3. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME (TARLOV SKALASI).....	66
TARTIŞMA VE SONUÇ	68
ÖZET	79
KAYNAKLAR.....	80
EK.....	101

TABLOLAR VE ŞEKİLLER

<i>Tablo 1: Histopatolojik değerlendirme</i>	<i>53</i>
<i>Tablo 2: Doku MDA analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.</i>	<i>60</i>
<i>Tablo 3: Plazma MDA analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>61</i>
<i>Tablo 4: Doku glutatyon analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>62</i>
<i>Tablo 5: Plazma glutatyon analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>63</i>
<i>Tablo 6: Doku nitrat analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>64</i>
<i>Tablo 7: Doku nitrit analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>64</i>
<i>Tablo 8: Plazma nitrat analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>64</i>
<i>Tablo 9: Plazma nitrit analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.....</i>	<i>65</i>
<i>Tablo 10: Doku ve plazma toplam nitrit ve nitratının (NO) analiz sonuçları ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı.....</i>	<i>65</i>
<i>Tablo 11: 6, 12, 48. saatlerde sahip oldukları Tarlov skoruna göre toplam denek sayılarının gruplara göre dağılımı.</i>	<i>66</i>
<i>Şekil 1: Spinal kordun kanlanması. Anterior, posterolateral ve segmental spinal arterler.</i>	<i>5</i>
<i>Şekil 2: Spinal kordun kanlanması. Anterior, posterolateral ve segmental spinal arterler.</i>	<i>5</i>
<i>Şekil 3: Spinal kordun segmental beslenmesi.....</i>	<i>7</i>
<i>Şekil4: Statinlerin nöroprotektif etkileri. sahip oldukları antioksidan, anti trombotik, antiinflamatuvar ve endotel fonksiyonları düzenleyici etkileri nedeniyle serebral iskemi reperfüzyonda statinler nöroprotektif etkilere sahiptir. (nNOS, nöronal NOS; O₂⁻, süperoksit anyon; ONOO⁻, peroksinitrit; RBC, alyuvar)</i>	<i>37</i>
<i>Şekil 5: Nitrik oksid sentezi</i>	<i>39</i>
<i>Şekil 6: Nitrik oksit sentezi ve etkileyen etkenler.....</i>	<i>40</i>
<i>Şekil 7: NOS izoformları ve yer aldıkları patolojiler</i>	<i>42</i>

<i>Resim 1: Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonunda steril sahada operasyona alındı.....</i>	<i>44</i>
<i>Resim 2: Batın tıraş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfekte edildi.....</i>	<i>44</i>
<i>Resim 3: Cerrahi mikroskop altında mikrocerahi yöntemle abdominal aortanın sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm. inferiore doğru diseke edilişi.....</i>	<i>45</i>
<i>Resim 4: Cerrahi mikroskop altında sol renal arter çıkışı altından abdominal aortaya klipaj uygulanması</i>	<i>45</i>
<i>Resim 5: Cerrahi mikroskop altında bifurkasyondan hemen önce aortik klipaj uygulanması.....</i>	<i>45</i>
<i>Resim 6: Postmortem denekte aortun sol renal arter çıkışı altından ve bifurkasyon öncesinde klipajının abdominal aortanın diseksiyonu sonrasında görünüşü.....</i>	<i>46</i>
<i>Resim 7: Prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral geniş orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adalelerin laterallere sıyrılıp torakolomber bileşkeden itibaren sakral segmente kadar total laminektomi ile birlikte tüm posteriyor vertebral elemanlar çıkartıldıktan sonraki görünüm</i>	<i>47</i>
<i>Resim 8: Kordun lumbosakral segmenti jilet kullanılarak L5 düzeyinden transvers olarak kesilerek iki parçaya bölünmüş görünümü.....</i>	<i>47</i>
<i>Resim 9: Medulla spinalis ön boynuzunda bulunan multipolar özellikte motor nöronlar(kalın ok), normal yapıda gri(kırmızı yıldız) ve beyaz (siyah yıldız) cevher görünümü. (H-E x 4 büyütme)</i>	<i>54</i>
<i>Resim 10: Gri cevher ön boynuzda multipolar özellikte bazofilik sitoplazmalı Nissl cisimcikleri ve ökromatik özellikte çekirdek içeren nöronlar(kalın ok) ve az sayıdaki A-M hücre infiltrasyonu (ince ok). (H-E x 40 büyütme).....</i>	<i>54</i>
<i>Resim 11: Normal görünümde beyaz cevher. (H-E x 40 büyütme)</i>	<i>55</i>
<i>Resim 12: Multipolar özelliğini tamamen yitirmiş genellikle trianguler görünümde eozinofilik sitoplazmalı çekirdeklerini yitirmiş motor nöronlar(kalın ok) ve ileri derecede dejenere beyaz cevher(siyah yıldız) ve çok sayıda A-M hücre infiltrasyonu(ince ok)</i>	<i>55</i>
<i>Resim 13: Gri cevherde trianguler görünümde, çekirdeklerini yitirmiş, eozinofilik sitoplazmalı, Nissl cisimciklerini kaybetmiş hasarlı nöronlar(kalın ok) .(H-E x 40 büyütme).....</i>	<i>56</i>
<i>Resim 14: İleri derecede dejenerasyon şişme ve vakuolizasyon içeren aksonların izlendiği beyaz cevher.(H-E x 40 büyütme).....</i>	<i>56</i>
<i>Resim 16: Gri cevher ön boynuzda multipolar özellikte bazofilik sitoplazmalı, Nissl cisimcikleri ve ökromatik özellikte çekirdek içeren nöronlar(kalın ok) ve bir miktar A-M hücre infiltrasyonu (ince ok). (H-E x 40 büyütme).....</i>	<i>57</i>
<i>Resim 17: Glial infiltrasyon içeren büyük oranda korunmuş orta derecede ödem ve vakuolizasyon içeren beyaz cevher (H-E x 40 büyütme).....</i>	<i>58</i>

<i>Grafik 1: Gruplara göre saptanan hasarlı nöron sayılarının dağılımı.....</i>	<i>58</i>
<i>Grafik 2: Saptanan hasarlı akson grade' lerinin gruplara göre dağılımı.....</i>	<i>59</i>
<i>Grafik 3: Saptanan A-M hücre infiltrasyon derecelendirmesinin gruplara göre dağılımı</i>	<i>59</i>
<i>Grafik 4: Histolojik değerlendirme skorlaması sonucunda gruplara göre iskemik hasarın şiddeti .</i>	<i>59</i>
<i>Grafik 5: Ortalama doku MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/gr).....</i>	<i>60</i>
<i>Grafik 6: Ortalama plazma MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml)</i>	<i>61</i>
<i>Grafik 7: Ortalama doku glutatyon değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/gr)</i>	<i>62</i>
<i>Grafik 8: Ortalama plazma glutatyon değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml)</i>	<i>63</i>
<i>Grafik 9: Ortalama doku ve plazma toplam nitrit ve nitratinin (NO) gruplara göre dağılımı</i>	<i>65</i>
<i>Grafik 10: 6, 24 ve 48. saatlerdeki ortalama Tarlov skoru değerlerinin gruplara göre dağılımı.....</i>	<i>66</i>

KISALTMALAR

➤ ADP:	Adenozin difosfat
➤ A-M:	Astrosit-mikroglial hücre
➤ AMPA:	Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoazopropiyonik asid
➤ APC:	Antijen sunan hücreler
➤ ASA:	Anterior spinal arter
➤ ATP:	Adenozin trifosfat
➤ C:	Kompleman
➤ Ca ²⁺ :	Kalsiyum
➤ cGMP:	Guanozin 3,5-siklik monofosfat
➤ cNOs:	Nitrik oksit sentaz
➤ CYP:	Sitokrom
➤ DAG:	Diaçilgliserol
➤ EEG:	Elektroansefalogram
➤ ELAM:	Endotelial lökosit adezyon molekülü
➤ eNOs:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
➤ FMN:	Flavin adenin mononükleotid
➤ GMP:	Granüle membran protein
➤ GSH:	Redükte glutatyon
➤ H ₂ O ₂ :	Hidrojen peroksid
➤ HDL:	Yüksek dansiteli lipoprotein
➤ HMG-CoA:	3-hidroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A
➤ HOCl:	Hipoklorik asid
➤ HOONO:	Hidroksinitrit
➤ HPETE:	Hidroperoksieikozotetraenoik asid
➤ İ/R:	İskemi reperfüzyon
➤ ICAM-1:	İntersellüler adhezyon molekülü-1
➤ IDL:	Orta dansiteli lipoprotein
➤ IL:	İnterlökin
➤ iNOS:	Nitrik oksid sentazın uyarılabilir (inducible) formu
➤ IP ₃ :	İnozitol trifosfat
➤ K:	Kontrol grubu
➤ K ⁺ :	Potasyum
➤ L:	Lökotrien
➤ LAM:	Lökosit adhezyon molekülü
➤ LDH:	Laktat dehidrogenaz
➤ LDL:	Düşük dansiteli lipoprotein
➤ LFA:	Lenfosit fonksiyon-ilişkili antijen
➤ MBP:	Myelin temel protein
➤ MDA:	Malondialdehid
➤ MDF:	Makrofaj farklılaştırıcı faktör
➤ METZ:	Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri
➤ MHC:	Majör doku-uyumu kompleksi
➤ MMP:	Matriks metalloproteinaz
➤ Na ⁺ :	Sodyum

- NMDA: N-metil-D-aspartat
- nNOS: Nöronal nitrik oksit sentaz
- NO: Nitrik oksid
- NOS: Nitrik oksid sentaz
- .OH: Hidroksil radikali
- ONOO⁻: Peroksinitritin
- PAF: Trombosit aktive edici faktör
- Pcr: Fosfokreatin
- PG: Prostaglandin
- PIP2: Fosfotidil inozitol bifosfat
- PLA2: Fosfolipaz A2
- PLC: Fosfalipaz C
- PNL: Polimorfonükleer lökositler
- SDS: Sodyum dodesil sülfat
- SEP: Somatosensoriel uyarılmış potansiyeller
- SYA: Serbest yağ asitleri
- T: Tedavi grubu
- TBA: Tiobütirik asit
- TG: Trigliseridler
- TGF-β: Transforming growth faktör-β
- TNF: Tümör nekroze edici faktör
- TNF-a: Tümör nekroz faktörü a
- VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein
- VSCC: Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları
- XDH: Ksantin dehidrogenaz
- XO: Ksantin oksidaz
- •NO₂: Nitrojen dioksit

GİRİŞ VE AMAÇ

Spinal kord merkezi sinir sisteminin önemli bir bileşenidir. Hayati önem arz eden sempatik parasempatik sistem duyuşal refleks ve hareket fonksiyonları için kaynak ve aracı yolları içerir. Evrim süreci içerisinde öneminin gereğini vurgularcasına kendini kemik bir yapı içerisinde korumaya almıştır. Buna rağmen gelişen dünya şartlarında daha sık karşılaşılan travmalar ve gelişen cerrahi tekniklerle birlikte daha komplike vakalara müdahale edilebilmesi nedeniyle spinal kord yaralanma riski hızla artmaktadır.

Kazalar insan ölüm nedenleri arasında vasküler hastalıklar ve tümörlerden sonra üçüncü sıklıkla gözlenir. Kazalar sonrası gelişen spinal yaralanma ciddi mortalite ve morbidite ile seyreder. Omurilik yaralanmaları nedenleri arasında ilk sırayı motorlu araç kazaları(%46) ve sırasıyla ev ve iş kazaları (%22–27), spor kazaları (%7–23), ateşli silah ve kesici alet yaralanmaları ve diğerleri(%6–12) izlenmektedir. Ülkemizde bu alanda yapılan ciddi bir epidemiyolojik çalışma olmamakla birlikte batılı kaynaklarda spinal kord yaralanma riski milyonda 20–40/ yıl olarak bildirilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir araştırma da her yıl yaklaşık 100.000 spinal kord vakasıyla karşılaşıldığı ve bir hastanın yaşamı boyunca ideal bakımı ve eğitiminin yaklaşık 1.5 milyon dolar masraf gerektirdiğı ve tüm hastalar göz önüne alındığında 300–400 milyon dolar ekonomik gidere ulaştığı tespit edilmiştir.

Spinal kordda iskemik hasar riskini arttıran en önde gelen cerrahileri ise daha çok kalp ve damar cerrahisinin torakal ve abdominal aortaya yönelik girişimleri, spinal arteriovenöz malformasyonlar ve tümörlere yönelik nöroşirürjikal girişimler oluşturmaktadır.

Akut spinal kord travması sonrası dokuyu destrüksiyondan korumak amacıyla kalsiyum kanal blokörleri, opiat antagonistleri, sistemik glukokortikoidler, sistemik kan basıncının arttırılması, antioksidanlar, dimetil sülfoksit, naloxane, TRH, hipotermi, BOS basıncının azaltılması gibi pek çok tedavi şekli denenmiştir.

Yapılan tüm çalışmalara karşın primer hasar oluştuktan sonra nörolojik fonksiyonların korunması ya da mevcut nörolojik tablonun geri döndürülmesi konusunda yüksek doz metil prednizolon tedavisi dışında etkin bir tedavi yöntemi ortaya

konulamamıştır. Primer spinal kord hasarını, çoğu kez ilerleyici yıkıma neden olan biyolojik ve intrasellüler kaynaklı serbest radikallerin oluşumu ile gelişen sekonder hasar izler.

Spinal kordun primer hasara uğradığı durumlarda yapılabilecekler son derece sınırlıyken çaba daha çok nörolojik ve fonksiyonel iyileşmeyi en iyi şekilde sağlamak amacıyla sekonder hasarı önlemeye yönelik olmalıdır. İster dolaşım sal problemlere ister cerrahi girişimlere isterse de travmaya bağlı olsun iskemi, ilgili alanda doku hasarına yol açan bir olaydır. Dokunun iskemiye duyarlılığı ölçüsünde hasarın şiddeti de değişir. Sinir dokusunda iskemiye dayanma süresi anaerobik kapasitelerindeki yetersizlikten dolayı diğer dokulara göre daha azdır. Reperfüzyon ise biyokimyasal mekanizmaların aracılık ettiği sekonder hasara neden olan bir olaydır. Tüm bu nedenlerden dolayı spinal kord ve aort cerrahisi sonrasında hasara engel olmak için iskemi süresi kısa tutulmalı, hızla kan akımı tekrar sağlanmalı ve reperfüzyonun yol açacağı istenmeyen reaksiyonlara engel olunmalıdır. Bu nedenle reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla serbest radikal temizleyicileri, immün sistem düzenleyicileri ve adenosin gibi birçok ajan kullanılmıştır.

Bizde mevcut bilgiler ışığında antioksidan, pleotropik, trombosit agregasyonunu inhibe edici, endotel koruyucu ve antiinflamatuvar etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olan atorvastatini yukarıda bahsi geçen pek çok tedavi modalitesinin farklı özelliklerini içerdiği için spinal iskemi-reperfüzyon hasarında progresi olumlu yönde etkileyeceğini düşünerek tavşanlarda infrarenal aortik oklüzyon modeliyle oluşturmayı planladığımız spinal iskemi-reperfüzyon hasarında çalışmayı uygun gördük. Hasarı değerlendirmek için, spinal kord oksidatif stresinin bir göstergesi olan MDA(malondialdehid), dokuyu oksidatif stresten koruyan GSH(redükte glutatyon) ve stres durumunda miktarı artan NO(nitrik oksid) düzeyleri biyokimyasal olarak ölçölüp, sonuçları birbirleriyle mukayese edildi. Ayrıca histolojik inceleme ve nörolojik muayenelerle de sonuçlar korole edilmeye çalışıldı.

GENEL BİLGİLER

I. 1. 1. İNSAN SPİNAL ANATOMİSİ

Spinal kanal kemik vertebra cisimleri ve arkuslar 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 ana cisim, arkus, eklem çıkıntıları ve eklem yüzeylerinden oluşur. Dört eklem çıkıntısının aşağı ve yukarı çıkıntılar ile oluşturduğu faset eklemler, posterior stabilite yanında vertebranın fleksiyon ekstensiyon ve lateral rotasyonunuda sağlar. Anterior ve posterior ligamentler vertebra ön elemanlarını kafa kaidesini atlastan sakruma uzanarak sararlar ve vertebral kolonun fleksiyon ve ekstensiyonda stabilitesini sağlarlar.

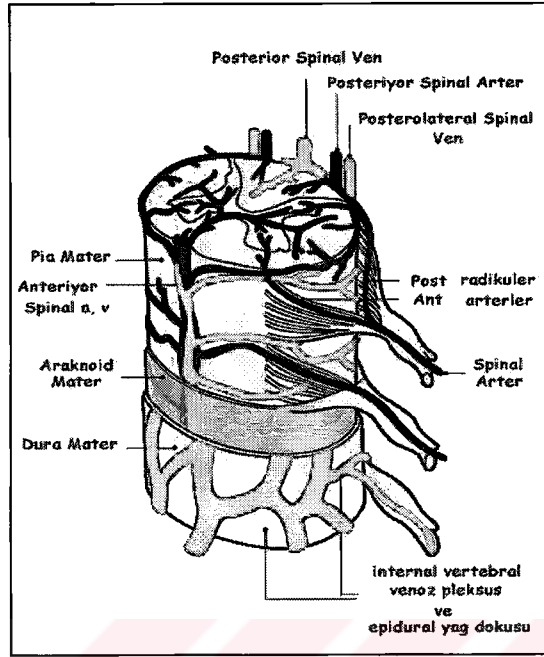
Spinal kord, beyin sapından başlayıp erişkinde L1–2, bebekte L3 seviyesinde bulunan konus medullaris kadar uzanır. Bu düzeyden sonra filum terminale şeklinde 1. koksigeal segmente kadar devam eder. Spinal kord sekiz servikal, 12 torasik, 5 lumbal, 5 sakral ve birkaç koksigeal segment olmak üzere toplam 32-33 segmentten oluşur; segmental spinal sinirler korda her iki taraftan girer ve ayrılırlar. 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. Sekiz servikal sinir ve sadece yedi servikal vertebra olduğu için segmental spinal sinirler 7. servikal vertebraya kadar aynı numaralı vertebranın üzerindeki forameniden, bu seviyenin altında 8. servikal sinir 7. servikal vertebranın altından çıkar(1).

I. 1. 2. SPİNAL KORD KAN DOLAŞIMI

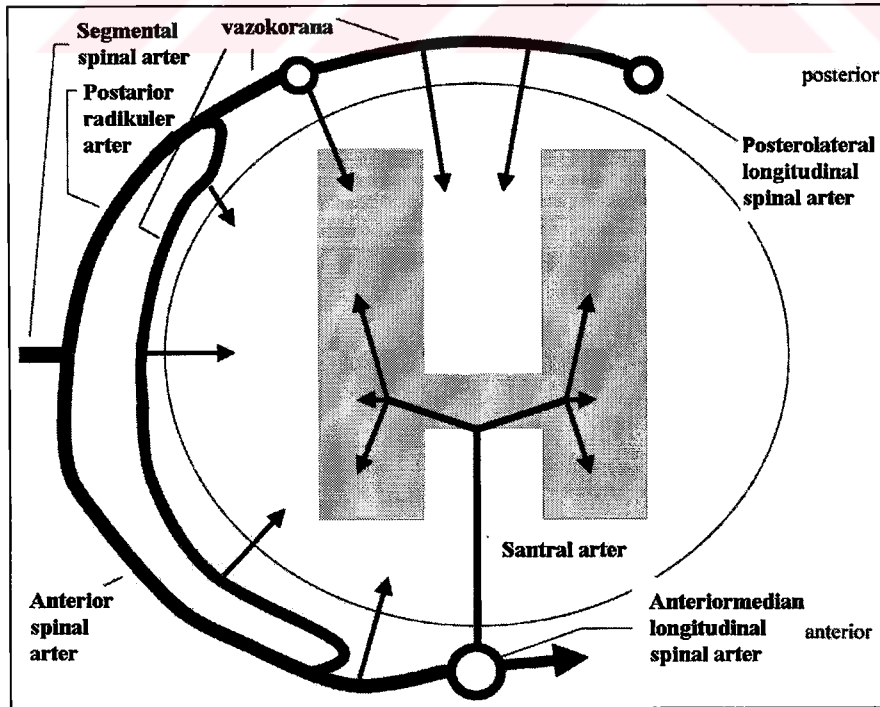
Spinal kord kan akımı, kaynakları ve dağılımı açısından karmaşık bir özellik gösterir. Cerrahi manipülasyon ve enstrümantasyon, direkt travma, bireysel anatomik değişiklikler, anestezi ajan ve teknikler spinal kord kan akımı ve otoregülasyonunu etkileyebilir.

Spinal kord kan akımı serebral kan akımının yaklaşık % 40'ı, servikal ve lumbosakral bölgelerdeki kan akımı ise torakal 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 oto regülasyon 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. 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. Anterior spinal arter (ASA) spinal korda segmental düzeyde bir kan akımı sağlar. Anterior spinal artere sol vertebral arterden, tiroservikal trunkustan, interkostal arterlerden ve sakral arterden segmental formda kan akımı sağlanır(2).

Spinal kord kan akımı ekstrinsik ve intrinsik dolaşım ile sağlanır. Anterior spinal arter (ASA) ve posterior spinal arterler (iki adet) intrinsik dolaşımın komponentleridir (Şekil-1). Ekstrinsik dolaşımda, servikal ve üst torasik spinal kord kan akımı temel olarak vertebral arterlerce sağlanır. Orta torasik ve torakolomber spinal kordda kan akımı interkostal ve lomber arterler aracılığıyla, konus seviyesinde ise hipogastrik arterin dalı olan lateral sakral arterler tarafından sağlanır. Ayrıca radikülomedüller arterler ekstrinsik dolaşımın komponentleridir.



Şekil 1: Spinal kordun kanlanması. Anterior, posterolateral ve segmental spinal arterler.



Şekil 2: Spinal kordun kanlanması. Anterior, posterolateral ve segmental spinal arterler.

ASA, her iki vertebral arterden çıkan birer yan dalın birleşmesi ile oluşur. Spinal kord boyunca anterior medyan sulkusta kaudale doğru seyreder. Distalde, arteriya konus medullaris ile anastomotik bağlantı yapar. ASA spinal kord intrinsik kan dolaşımının en önemli elemanı olup, perforan santral dallar aracılığı ile spinal kord toplam kitlesinin %75-80'ini besler (Şekil-2). Çap ve devamlılık açısından oldukça değişiklik gösterebilir. Tipik olarak üst torasik bölgede iyi gelişmiş olarak seyreder. Orta torasik bölgede çapı azalır ve bazen de devamlılığını kaybeder. Distalde, Adamkiewicz arterinin giriş yerinde çapı genişler ve hemen proksimalindeki segmentten üç kat daha geniş olabilir. ASA, anterior ve lateral beyaz kolonun tamamı ile gri kolonun posterioru dışında büyük kısmını besler.

Posterior spinal arterler iki adet olup, vertebral arter veya posterior serebellar arterlerden köken alırlar (daha çok arteria serebellaris inferior posterior). Medulla oblongatadan başlayarak kaudale doğru, spinal kord posterior kolonları boyunca konus medullaris kadar uzanır. ASA'dan beslenmeyen spinal kord kitlesini, yani posterior beyaz kolonların tamamını ve posterior gri kolonların büyük kısmını beslerler. Bu iki arter arasında arteriyoller vasıtasıyla yaygın bir kollateral bağlantı ağı vardır. Bu nedenle, bu iki arterin beslediği alanlarda iskemi görülme riski çok daha düşüktür.

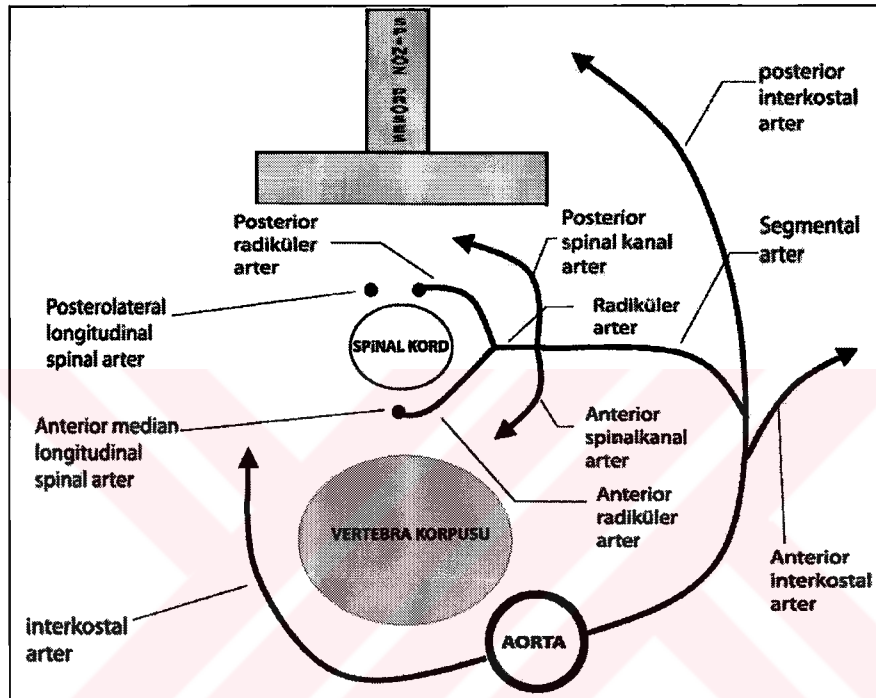
Ekstrinsik dolaşımın komponenti radikülomedüller arterler, her bir segmental seviyede, spinal kord kan dolaşımına düzensiz olarak katkıda bulunurlar. Radiküler arterler sinir kökleri ile birlikte seyrederler, çoğunlukla sol tarafta bulunurlar ve posteriordaki radiküler arterler ile bağlantı yaparlar.

Servikal ve üst torasik spinal kord segmentleri, radikülomedüller arterler aracılığı ile yoğun bir şekilde kanlandırılırken, yaklaşık dört adet radikülomedüller arter bu bölge dolaşımına katkıda bulunur. Orta torasik segment, bir veya iki radikülomedüller arter tarafı metan kanlandırılır. Torakolomber segment çoğunlukla tek, nadir olarak da iki radikülomedüller arter tarafından beslenir.

Torakolomber segmenti besleyen arter, en gelişmiş radikülomedüller arter olup, arteria radikularis magna veya Adamkiewicz arteri olarak isimlendirilir. Adamkiewicz arteri genellikle bir interkostal arterden köken alır, ancak direkt olarak aortadan da çıkabilir.

Vakaların büyük kısmında tekdir ve sol taraftan köken alır. Koshino ve arkadaşları (3) 102 erişkin kadavrasında yaptıkları çalışmada, Adamkiewicz arterinin %91 vakada T8-

L1 vertebral seviyeleri arasından köken aldığını, %70'den fazla vakada sol tarafta bulunduğunu, %26 vakada iki adet olduğunu, %10 vakada da bilateral olduklarını göstermiştir(Şekil 3).



Şekil 3: Spinal kordun segmental beslenmesi

İntrinsik ve ekstrinsik dolaşıma ek olarak, spinal kord kan akımına katkıda bulunan kollateral damarlar da mevcuttur. Spinal kordun servikal ve üst torasik segmenti kostoservikal trunkus, oksipital, derin servikal ve çıkan servikal arterler aracılığı ile de kanlandırılır. Orta torasik ve torakolomber segmentin kollateral dolaşımı, interkostal ve lomber arterler aracılığı ile sağlanır. Ayrıca, Giglia ve arkadaşları(4) deneysel rat modelinde kollateral dolaşıma internal mammarian arterin de önemli katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Spinal kord alt parçasının kollateral dolaşımı, hipogastrik arterin dalları, orta sakral arterler ve iliolumber arterler tarafından sağlanır. Servikal ve üst torasik spinal kord segmentleri, zengin kollateral ağlarla beslenirler. ASA üst torasik segmentte tipik olarak iyi gelişmiş olarak seyrederken, orta torasik segmentte ise inceldir. Ayrıca, torakolomber segmentte spinal kord kan dolaşımına katkıda bulunan tek bir radikülomedüller arter mevcuttur. Bu nedenlerle, aşağı torasik ve lomber segmentler, aortik

kros klempleme esnasında iskemik hasara maruz kalması en muhtemel bölgelerdir. Torasik aorta cerrahisi sonrasında, iskemik spinal kord hasarına sekonder görülen parapleji veya paraparezi, yüzeysel duyu kaybı, rektal ve üriner sfinkter tonus kaybı semptomları topluluğuna anterior spinal arter sendromu denilir(5).

Aortik kros klempleme esnasında, spinal kord kan akımının büyük kısmı muhtemelen ekstrinsik kollateral dolaşım aracılığı ile sağlanır. Bu nedenle, kros klempleme esnasındaki kollateral kan dolaşımının artırılması, iskemik spinal kord hasarını azaltacaktır.

I. 2. SANTRAL İSKEMİ VE REPERFÜZYON FİZYOPATOLOJİSİ

Medulla spinalisin metabolik ihtiyaçları ve bunun için gerekli olan kan akımı arasında hassas bir denge vardır. Bazal şartlarda spinal kordun total kan akımı 30–35 ml./100 gr. doku/ dk.’dır(6). Enerji üretimi için gerekli olan oksijen ve diğer substratların temini, atık maddelerin uzaklaştırılması otoregülasyon mekanizmalarıyla dengede tutulmaktadır. Spinal kord kan akımı 50–135 mmHg. ortalama sistemik arter basıncında yine intrinsek kontrol mekanizmalarıyla güvenli bir şekilde sürdürülmektedir (6, 7).

İskemi gelişmesi için kan akımının, hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altında olması gereklidir. Aerobik koşullarda biyolojik organizmaların çoğu, temel yaşam kaynakları olan oksijen ve metabolik substratlar ortamda bulunamadığında bile canlılıklarını belirli bir süre devam ettirebilmektedirler. Santral sinir sistemi ise, anaerobik metabolizma ve glikojen depolarının kısıtlı olmasından dolayı, iskemiyeye en duyarlı dokulardan biridir. İskemi sırasında hücresel enerji depolarının tükenmesi iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini başlatmaktadır. Enerji eksikliği ile devreye giren iskemik kaskat bir dizi sekonder olayı tetiklerse de iskeminin gidişini etkileyen pek çok faktör nedeniyle hücre ölümü kaçınılmaz sonuç değildir. İskemi sonucunu belirleyen en önemli iki faktör; iskeminin derinliği ve süresidir (35). İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iskemi sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan, ani ve fazla miktarda oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları, iskemik hasara uğramış dokularda, özellikle serbest oksijen radikallerinin oluşması yolu ile ileri hasara yol açmaktadır(8, 9, 10).

I. 2. 1. İSKEMİDE ENERJİ EKSİKLİĞİ SONUCU GELİŞEN OLAYLAR

Hücrel enerji eksikliği iskemik hasarın gelişmesinde merkezi bir rol oynamaktadır. Beyin aerobik glikoliz ile ATP elde etmektedir. Anaerobik glikoliz mekanizması çok az bir oranda işlemektedir. Biyokimyasal ve ultrastrüktürel gözlemler beyinde astrositlerde daha fazla olmak üzere küçük bir miktar glikojen bulunduğunu ortaya koymaktadır (11).

Aerobik koşullarda bir mol glikoz, glikoliz ile iki mol piruvata dönüşürken iki mol ATP elde edilmektedir. Oksijen varlığında iki mol piruvat, piruvat dehidrogenaz (PDH) enzimi ile asetil-KoA' ya metabolize edildikten sonra, Krebs Döngüsü ve ardından indirgen eş değerlerin mitokondriyal elektron transport zincirinde, moleküler oksijenin suya indirgenmesi sırasında 36 mol ATP elde edilmektedir (12).

İskemi sırasında, oksijen yokluğuna bağlı olarak, mitokondriyal elektron transportu ve oksidatif fosforilasyon kapasitesi giderek azalmaktadır(13). Beyinde, ATP sentezi durmasına karşın ATP kullanımı sürmekte ve ATP hidrolizi sonucunda adenosin difosfat (ADP) konsantrasyonu artmaktadır [Reaksiyon 1].



Fosfokreatin (Pcr) depoları tükeninceye kadar kreatin kinaz reaksiyonu ile ATP yapımı bir süre daha devam etmektedir [Reaksiyon 2].



Daha sonra ATP tamamen tükenmektedir (14).

İskemide enerji eksikliği sonucu gelişen olaylar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- A) Asidoz
- B) Makromolekül sentezinin durması
- C) İyon dengesinin bozulması
- D) ATP yıkım ürünlerinin birikmesi

A-) Asidoz

Kısmi iskemide veya iskemi öncesi hiperglisemi durumlarında, oksijen yokluğunda glikoz varlığına bağlı olarak, kısa bir süre için anaerobik glikoliz devreye girmektedir.

Glikoliz sonucu oluşan piruvat, laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi ile laktata indirgenir. Anaerobik glikoliz ile elde edilen ATP de tükenince hücrede tam olarak bir enerji yokluğu ortaya çıkmaktadır. Anaerobik glikolizin bir istenmeyen sonucu da laktat ve H^+ birikimi ile hücre içi ve dışı asidozunun gelişmesidir (12).

Deneysel çalışmalarda, uygulanan iskemi modeline ve iskeminin derinliğine göre hücre içi pH değerleri 6.08 – 6.64 arasında değişmektedir (12, 15). Laktik asid ve düşük pH değerlerinin protein denatürasyonu, enzim fonksiyon kaybı, glial ödem, NADH rejenerasyonunun engellenmesi ve serbest radikallerin oluşumu gibi iskemik hasarı oluşturan etkenlerin gelişmesinde katkısı olduğu gösterilmiştir (16).

B-) Makromolekül Sentezinin Durması

ATP konsantrasyonunun azalması ile hücrenin temel enerji gerektiren makromolekül sentez işlemi giderek yavaşlamaktadır. Fosfolipid, polisakkarid, protein, nükleik asitlerin spontan veya enzim-katalizli degregasyonlarının ardından bu yapı taşlarının yeniden sentezlenememesi nedeniyle hücre bütünlüğü bozulmaya başlamıştır. Yaklaşık aynı zamanlarda başlayan intrasellüler kalsiyum artışı da fosforilaz, lipaz, proteaz ve endonükleaz enzimlerini aktive ederek bu degradasyona katkıda bulunmaktadır (12, 16)

Enerji eksikliği sonucu protein sentezindeki bozukluklar, önceleri üzerinde pek fazla durulmayan bir konu olmasına rağmen, son yıllarda iskemik hasara önemli katkısı ve geri dönüşümlü olmasının nöron canlılığı ile paralellliği üzerinde çalışmalar yoğunluk kazanmaktadır(17). Thilmann (18) ve Heiss (19) ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda iskemi sırasında protein sentezinin azaldığını, bu azalmanın iskemik ataktan sonra hasarsız düzelen hücrelerde geçici olmasına karşın, uzun dönemde nekroza uğrayacak hücrelerde süreklilik kazandığını göstermişlerdir.

C-) İyon Dengesinin Bozulması

Sinir hücresi membranında iyon trafiği başlıca üç tip transport sistemi ile gerçekleşmektedir:

* Aktif transport sistemi: Direkt veya indirekt olarak enerjiye (ATP) bağımlıdır

(Örn: Na^+/K^+ ATPaz pompası)

**** Pasif transport sistemi:** Elektrokimyasal gradientlere bağılı olarak membran kanalları aracılığı ile gerçekleşir. Enerji bağımlı değildir.

***** İyon Kanalları (İyonoforlar):** Reseptör protein yapısında kanallardır (12, 20).

Hücre membranında bulunan Na^+/K^+ ATPaz pompası, ATP hidrolizi ile üç sodyum atomunu (Na^+) iki potasyum (K^+) atomu karşılığında hücre dışına çıkarırken, kalsiyum pompası olan Ca^{2+} ATPaz ise iki hidrojen iyonuna (H^+) karşılık bir kalsiyum (Ca^{2+}) iyonunu hücre dışına çıkarmaktadır. Böylece ekstrasellüler Na^+ ve Ca^{2+} konsantrasyonları hücre içine göre sırasıyla 10 ve 10,000 kat daha fazla olmaktadır. Hücre içi K^+ konsantrasyonu ise hücre dışına oranla 40 kat fazla bulunmaktadır. Primer aktif transport ile sağlanan sodyum gradienti, $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ve Na^+/H^+ antiporterleri için enerji kaynağını oluşturmaktadır. Bu sekonder aktif transport antiporterleri ile kalsiyum ve hidrojen iyonlarının hücre dışına çıkması sağlanmaktadır. Hücre membranının potasyuma olan geçirgenliği nedeniyle potasyum dağılımı temelde konsantrasyon gradiyenti ile oluşmaktadır.

Hücreye enerji sağlandığı sürece aktif ve pasif transport sistemleri uyum içinde çalışarak, iyon dengesini sağlamaktadırlar. İyon dengesi, hücre içi metabolizma ve sinyal iletimi gibi temel fonksiyonlar ile elektrofizyolojik anlamda sinir hücresinde uyarı, iletim fonksiyonu için gerekli olan membran potansiyelinin oluşturulmasında birinci derecede önem taşımaktadır. Sağlıklı polarize bir sinir hücresinde, sözü edilen aktif ve pasif transport sistemleri ile sağlanan ve iyonların membranın iki yüzünde eşit olmayan dağılımı ile oluşturulan 60 mV luk bir membran potansiyeli bulunmaktadır. Sinirsel uyarı iletimi, membranın ardışık olarak depolarizasyon- repolarizasyonu ile gerçekleşmektedir. Sinir hücresinin bu elektriksel aktivitesi de elektroensefalogram (EEG) dalgaları ve somatosensoriel uyarılmış potansiyeller (SEP) ile gösterilebilmektedir (12, 21).

Sinir hücresinde iyon dengesi üç aşamada bozulmaktadır. Temel enerji eksikliğinin henüz başlamadığı ilk dönemde; ekstrasellüler potasyum konsantrasyonu yavaş yavaş yükselmektedir. Aynı dönemde hidrojen iyonunun bir membran katyon kanalından kısmen hücre dışına çıkması, hücre içinde birikmeye başlayan laktik asidin noniyonik difüzyon ile kısmen hücreyi terk etmesi ve karbondioksit birikimine bağılı olarak hücre dışı pH' sı düşmektedir. Bu dönemde ekstrasellüler kalsiyum henüz azalmaya başlamamıştır. İyon dağılımının bozulmasına bağılı olarak EEG traselerinde dalga yüksekliklerinin kaybolması

ve uyarılmış potansiyellerde, yanıt alınamaması şeklinde ortaya çıkan bir elektriksel sessizlik vardır (12).

İkinci dönemde iyon pompalarının bozulmasına bağlı olarak potasyum hızla hücreyi terk ederken sodyum, klor ve kalsiyum iyonları hücre içine alınmaktadır. Symon (21), potasyum atılımındaki artış ile zaten azalmış hücre enerji düzeylerinin daha fazla iyon dengesini sağlayamayacak düzeylere indiğini ve bu noktanın aynı zamanda ekstrasellüler kalsiyum düzeylerinin aniden düştüğü zamana uyduğunu göstermiştir. Bu, ileri enerji eksikliğinin ve membran depolarizasyonunun görüldüğü dönemdir. Depolarizasyonda pompalar devre dışı kalmaya başladıkları için iyon akışı, iyonların konsantrasyon gradienti yönünde basit membran deliklerinden geçişleri ile sağlanmaktadır.

İyon dengesinin bozulmasının üçüncü aşamasında iyon pompalarının bozulmasının yanı sıra hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun yükselmesine bağlı olarak, membran geçirgenliğinin artması ile ortaya çıkan iyon kaçakları oluşmaktadır. İskemi nedeniyle zaten azalmakta olan ATP bu iyon kaçaklarının önlenmesi için daha da fazla kullanılmakta ve bir kısır döngü içinde hızla tüketilmektedir (12).

İskemi-reperfüzyon hasarının gelişmesinde son derece önemli olan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artışı başlıca üç yoldan gerçekleşmektedir:

- I. Hücre dışından kalsiyum girişi
- II. Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınımı
- III. Hücre içi kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması.

a. Hücre dışından kalsiyum girişi

Nöronda presinaptik uçtan kalsiyum girişi ile başlamaktadır. Hücrenin temel enerji kaynağı ATP' nin tükenmesi sonucunda aktif sodyum transport pompaları (Na^+/K^+ ATPaz, $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter ve Na^+/H^+ antiporter) bozulmaktadır. Buna bağlı olarak sodyum konsantrasyonunun hücre içinde artması ile başlayan presinaptik depolarizasyon sinir ucuna ulaşır. Bu uyarı ile presinaptik uçta bulunan voltaja duyarlı kalsiyum kanalları (VSCC-N tipi) açılarak hücre içine kalsiyum girmektedir. Ardından da başta glutamat olmak üzere uyarıcı aminoasitlerin presinaptik uçtan sinaps aralığına salınması gerçekleşmektedir (12).

Değişik hayvan modellerinde iskeminin ilk dakikalarında monoaminerjik nörotransmitter (dopamin, 5 hidroksitriptamin), asetilkolin, uyarıcı aminoasitler (glutamat, aspartat) ve inhibitör aminoasitlerin (glisin, gamma-aminobitürik asitler) salındıkları gösterilmiştir(22,23). Nörotransmitter salınma miktarı, iskeminin derinliğine ve tipine, ayrıca beyinin hangi bölgesini ilgilendirdiğine bağlıdır. Beynin iskemiye özellikle duyarlı bölgelerinde, glutamat reseptörlerinin fazlalığının, duyarlılığın bir nedeni olabileceği düşünülmektedir (24).

Normal koşullarda uyarıcı aminoasitlerin sinaps aralığından geri alınımı sodyum gradiyenti ve membran potansiyeli ile çalışan $2Na^+$ / glutamat kotransporterleri ile gerçekleşmektedir. İskemide uyarıcı aminoasitler için kalsiyum konsantrasyonunun hücre içinde artışı ile presinaptik veziküllerden gerçekleşen salınmanın yanı sıra, $2Na^+$ / glutamat kotransporterleri yönünün değişmesi sonucu geri alım bozukluğu ile meydana gelen bir salınım söz konusudur. Değişik çalışmalar iskemide ikinci yolun daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Böylece iskemide sinaptik aralıkta yüksek konsantrasyonda biriken uyarıcı aminoasitler ileri hasardan kısmen sorumlu olan uyarıcı toksisitesine neden olmaktadır(12).

Nöronda postsinaptik uçtan kalsiyum girişi üç şekilde gerçekleşmekle birlikte en önemli yol glutamat reseptörlerinin bulunduğu agonist ile aktive olan iyon kanallarıdır(25). Bu kanallar, reseptörlerinde maksimum aktivasyonu oluşturan agoniste bağımlı olarak beş sınıfa ayrılmaktadır:

- Yüksek afiniteli kainat reseptörü (K)
- Düşük afiniteli kainat reseptörü (K)
- Amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoazopropiyonik asid (AMPA) reseptörü
- N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü
- Kuiskalat reseptörü (Q)

Bunlar içerisinde AMPA ve NMDA reseptörleri iyon taşınımında en önemli rolleri üstlenmektedir. Karışık bir agonist olan glutamat, presinaptik uçtan salınıncı postsinaptik uçta bulunan, hem AMPA hem de NMDA reseptörlerini aktive etmektedir. AMPA reseptörü Na^+ , K^+ ve muhtemelen H^+ gibi monovalan katyonların taşınması ile ilişkilidir. AMPA reseptörü bulunan iyon kanallarından sodyum girişi ile depolarizasyon postsinaptik

uca iletilmiş olur. NMDA tipi glutamat reseptörlü iyon kanalları hem monovalan katyonların hem de kalsiyumun girişini sağlamaktadır. Postsinaptik uçtan kalsiyum girişinde ikinci yol, depolarizasyon ile postsinaptik uçta bulunan L ve T tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanallarıdır. Son yolda ise; $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter yönünün değişmesine bağlı olarak bozulan sodyum gradiyenti ile oluşan depolarizasyon, normal koşullarda kalsiyumun hücre dışına çıkarılmasında görevli olan $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporterinin yönünü ters çevirerek hücre içinde kalsiyum artışına neden olmaktadır(16). Lazdunski(26) $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ antiporter fonksiyonunun bozulmasında Na^+/H^+ antiporterini stimüle eden hücre içi asidozunun rol oynadığını ileri sürmektedir.

b. Hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyum salınımı

Diğer hücrelerde olduğu gibi, sinir hücresinde de belli uyarılara yanıt olarak hücre içi depolardan hücre membranı reseptörü aracılı kalsiyum salınımı gerçekleşmektedir. Asetilkolin ve bazı peptidler hücre membranında bulunan spesifik reseptörler için uyarıcı agonist görevi yapmaktadırlar. Agonistin G proteini aracılığı ile fosfalipaz C (PLC) ile eşlenmiş olarak bulunan reseptöre bağlanması, fosfotidil inozitol bifosfat (PIP2)' ın diaçilgliserol (DAG) ve inozitol trifosfat (IP3)'a ayrılmasına neden olmaktadır. IP3, endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımını gerçekleştirmektedir(12). Bazı hücrelerde ise glutamat, kuiskalat tipi reseptörlere etki ederek hücre içi depolardan kalsiyum salınımına neden olabilmektedir. Ayrıca hücre içi artmış kalsiyum düzeyi de DAG ile birlikte protein kinaz C yi (PKC) aktive ederek reseptörlerin agonist uyarısına yanıtını artırması yoluyla kalsiyum salınması için bir uyarı oluşturmaktadır(12, 27). Bazı görüşlere göre, iskemide kalsiyum hücre dışından hücre içine girmeden önce hücre depolarından salınmaya başlamaktadır. (28). Bu nedenle hücre içi depolardan kalsiyum salınması ile hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı, iyon dengesizliğinde önemli rolü olan membran geçirgenliğinin artmasına zemin oluşturmaktadır(12).

c. İntrasellüler kalsiyum düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması

Normal koşullarda VSCC ve reseptör agonisti ile işleyen kalsiyum kanalları ile hücre içine giren veya intrasellüler olarak salgılanan kalsiyum iki şekilde tamponlanmaktadır. Bunlardan birincisi kalmodilin gibi efektör bir proteine veya kalsibindin gibi özel bağlayıcı proteine bağlanarak gerçekleşmektedir. Kalsiyumun negatif gruplara bağlanarak tamponlanması, hidrojen iyonunun tamponlanması ile benzerlik gösterdiğinden, Ca^{2+} ve H^+

aynı tampon bölgeleri için yarışa girerler. Bu nedenle, iskemi sonucu gelişen Asidoz da kalsiyum, bu bağlanma bölgelerinden salınmaktadır. Hücre içi kalsiyumun bir diğer tamponlanma şekli de hücre içi organeller tarafından tutulma yoluyla. Kalsiyumun endoplazmik retikulum, mitokondri gibi organellerce tutulması enerji gerektiren bir olaydır. Normal koşullarda, mitokondrinin tutuluma katkısı çok azdır. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu hızla artınca mitokondri büyük miktarlarda Ca^{2+} u tutar. Bunun için mitokondri iç membranının elektriksel potansiyeli gerekmektedir. Bu potansiyel de sadece O_2 ve ATP varlığında oluşturulabilmektedir. Mitokondrinin patolojik miktarlarda Ca^{2+} tutması ileride sözü edilecek olan “mitokondriyal hasarı” oluşturan en önemli nedenler arasındadır (12).

İskemide hücre içi serbest Ca^{2+} konsantrasyonunun artışı erken dönemde fosfolipaz, lipaz, lizozomal enzimlerin de dahil olduğu proteazlar ve endonükleaz gibi degrade edici enzim gruplarının aktivasyonuna neden olmaktadır (29).

İskemide hücre içinde serbest kalsiyum artışı ile birlikte başlıca;

* Lipoliz

** Proteoliz

*** DNA hasarı

**** Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri Hasarı (METZ) görülmektedir.

* **Lipoliz**

Fosfolipazlar sitozol, plazma ve mitokondri membranlarında bulunan enzim ailesidir. Fosfolipidlerden fonksiyonel grupları hidrolize ederler. Böylece, membran fosfolipidlerinin lipolizi ile ortamda serbest yağ asitleri (SYA) artmaktadır. Ca^{2+} ile aktive olan fosfolipaz A2 (PLA2) enziminin, fosfolipidlerin beta pozisyonundan kopardığı araşidonik asid birikimi, bu yağ asidinin reperfüzyon döneminde prostoglandin ve lökotrienlere metabolizmaları sırasında oluşturdıkları serbest radikaller nedeni ile iskemik hasarın ilerlemesindeki temel etiyolojik faktörlerdendir. Siesjo'a (16) göre fosfolipazın Ca^{2+} ile aktivasyonu muhtemelen PLC nin agonist ile aktivasyonuna sekonder olarak gelişmektedir. Normal koşullarda membran fosfolipidleri bir dizi enerji bağımlı reaksiyon ile yenilenmektedir. Bu nedenle intrasellüler SYA konsantrasyonu düşük düzeylerde tutulmaktadır. İskemide yukarıda sözü edildiği gibi enerji depolarının tükenmesi nedeni ile

bu yenilenme gerçekleşmemektedir. Kalsiyum tetikli membran fosfolipid kaybı büyük olasılıkla membran protein/lipid oranlarının bozulmasına bağlı geçirgenlik artışına neden olarak, iskemik hücreye Ca^{2+} girişini daha da hızlandırmaktadır. Bu oranın intrasellüler organellerde de bozulması birçok hücre fonksiyonuna zarar vermekle birlikte, lipoliz ile artan serbest yağ asitlerinin asıl zararlı etkisi, reperfüzyon kısmında söz edileceği gibi zararlı metabolitlerin özellikle, iskemi reperfüzyon hasarının en önemli nedeni olan serbest radikallerin oluşmasına yol açmasıdır (30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37).

Değişik yazarlara göre biriken SYA reperfüzyonda serbest radikal kaynağı olmalarının yanı sıra iskemi döneminde de serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır (36, 38). Katsura ve ark.(39) a göre, derin iskemide SYA konsantrasyonunu artıracak kadar ileri düzeydeki fosfolipid hidrolizi, yaklaşık olarak enerji eksikliğinin membran depolarizasyonunu tetiklediği zamana rastlamaktadır.

**** Proteoliz**

Hücre içi kalsiyum düzeyi artışının hücre hasarına yönelik bir diğer önemli sonucu da proteaz aktivasyonudur. Proteaz aktivasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan değişiklikler şunlardır:

A. Ksantin oksidaz (XO) oluşumu:

Reperfüzyon döneminde en önemli radikal kaynağı olan XO oluşumu, ksantin dehidrogenazın (XDH) Ca^{2+} ile aktive olan proteazlarca XO' a dönüştürülmesi ile gerçekleşmektedir. XDH-XO dönüşümünün iskemik dokuda gerçekleştiği değişik çalışmalarda gösterilmiştir(13, 30, 40, 41, 42). Ancak beyinde ksantin oksidaz miktarının oldukça düşük olması nedeniyle bu yolla proteoliz diğer yollara göre daha sınırlıdır. Özellikle mikrovasküler endotelde ve az miktarda da nöron mitokondrisinde bulunmaktadır (41, 42, 43).

B. Nötral proteazların aktivasyonu:

Kalsiyuma bağımlı nötral proteazlar nöroflamanların ve hücre iskeletinin diğer protein içeren bileşenlerinin yıkılımından, dolayısıyla tübülün bütünlüğünden sorumludur (29). Marimato ve ark. (44) gerbiller üzerinde yaptıkları çalışmalarda, 3 saatlik uzun ve 30 dakikalık kısa iskemi sonunda nötral proteaz aşırı aktivasyonu nedeni ile poliribozomların disagregasyonunu, dolayısıyla polipeptid sentezinin durduğunu gözlemlemişlerdir.

Poliribozomlar kısa süreli iskemiye maruz kalan hayvanlarda normale dönerken, üç saatlik iskemi dönüşümsüz poliribozom disagregasyonuna neden olmuştur.

C. Lizozomal proteaz aktivasyonu:

Lizozomal proteazlar olarak adlandırılan katepsinlerin aktivasyonu ile artan proteolizin özellikle derin ve uzun süreli iskemi ve ardından gelen reperfüzyon sırasında süregelen hücre hasarını hızlandırarak, dönüşümsüz hasar oluşumunda rol oynadığı savunulmaktadır. İşlekel ve ark.(45) sıçan beyinde kısa süreli derin iskemi reperfüzyon sonrasında katepsin L aktivitelerini, penumbral iskemi reperfüzyon ve kontrol gruplarına göre yükselmiş olarak bildirmişlerdir. Seyfried ve ark. (46) iki saatlik a. cerebri media tıkanması ve reperfüzyonu sonucunda katepsin B aktivitesinin ve ekspresyonunun arttığını gözlemlemişler, bunun da nöronal ölüme neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

*** DNA Hasarı

Endonükleazların aktivasyonu ile gelişen DNA fragmentasyonunun, apoptotik hücre ölümüne benzer bir durum olabileceği, bunun da sadece beyin iskemisine özgü olan gecikmiş nöron ölümünden sorumlu olabileceği öne sürülmektedir (47, 48, 29).

**** Mitokondrial Elektron Transport Zinciri Hasarı

Intrasellüler Ca^{2+} artışını tamponlayan mekanizmalar arasında bulunan mitokondride kalsiyum tutulmuşu, iskemi sırasında mitokondrinin Ca^{2+} ile aşırı yüklenmesine neden olmaktadır. İskeminin ilk dakikalarında oksijen konsantrasyonu düşüklüğüne bağlı olarak durma noktasına gelen hücrenin solunum fonksiyonları ve ATP sentezi mitokondrideki bu Ca^{2+} birikimi ile daha da bozulmaktadır. Böylece hücrede ATP eksikliği ile başlayan iskemik kaskatın gelişiminde, intrasellüler Ca^{2+} artışının bir sonucu olarak ATP sentezi giderek azalmakta ve olaylar kısır bir döngü içine girmektedir (12).

D-) ATP Yıkım Ürünlerinin Birikimi

İskemide enerji eksikliği sonucu gelişen olayların bir diğer sonucu da ATP yıkım ürünlerinin birikmesidir. İskemi sırasında ATP rejenerasyonunun bozulmasına karşın, mevcut ATP nin hidrolizi sürmektedir. ATP hidrolizi ile hipoksantin, ksantin gibi pürin metabolitleri hücre içinde birikmektedir. Bu metabolitlerin reperfüzyon sırasında ksantin ile

reaksiyonları, iskemi - reperfüzyon hasarından dokuya göre değişen derecelerde sorumlu tutulan serbest radikallerin en önemli kaynağını oluşturmaktadır (41).

I. 2. 2. REPERFÜZYONDA SERBEST RADİKAL ÜRETEN KAYNAKLAR

İskemide gelişen olaylar, temelde reperfüzyonda oksijen ve kan ürünlerinin yeniden dokuya gelmesiyle oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu için zemin hazırlamaktadır (41). Reperfüzyonda çok çeşitli hücre, organel ve enzimler serbest radikal kaynağını oluşturmaktadır. Bu kaynakları aşağıdaki gibi sıralayabiliriz:

1. Mitokondrial elektron transport zinciri (METZ)
2. Vasküler endotel
3. Kan hücreleri
4. Plazma ve organel membranları
5. Nitrik oksid sentaz (NOS) aktivasyonu

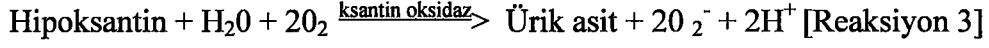
1. Mitokondrial elektron transport zincirinden oksijen kaçaklarının artması

Normal koşullarda METZ' de indirgenen oksijenin %1–5' lik kısmının kısmi indirgenme sonucu serbest radikalleri oluşturduğu belirtilmiştir. Reperfüzyonda gelen ani ve yüksek konsantrasyondaki moleküler oksijenin, iskemi sırasında birikmiş indirgen eşdeğerler (NADH, FADH 2) ile kısmi indirgenmesi sonucunda, serbest radikal üretimi ve oksijen kaçağındaki fizyolojik oran artmaktadır (49, 50, 51).

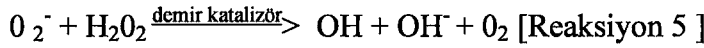
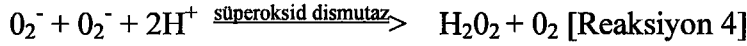
2. Vasküler endotel kaynaklı ksantin oksidaz (XO) reaksiyon

Beyinde XO' ın önemli bir kısmı mikrovasküler endotel hücresi içinde bulunmakla birlikte sinir hücresinde de (özellikle mitokondride) az miktarda bulunduğu savunulmaktadır(41, 42, 43). İskemi döneminde Ca^{2+} bağımlı proteazlarca veya sülfidril gruplarının oksidasyonu ile ksantin dehidrogenazın, ksantin oksidaza dönüşmesi sonucunda dokuda ksantin oksidaz oranı %10 luk fizyolojik oranın üzerine çıkmaktadır. Yine iskemide ATP' nin hidrolizi ile ortaya çıkan pürin metabolitlerinden hipoksantin ve ksantin, XO için substrat oluşturmaktadır. Reperfüzyon ile moleküler oksijenin ani ve fazla miktarda dokuya

girmesi sonucu ksantin oksidaz reaksiyonu ile ürik asid, yan ürün olarak da süperoksit anyon radikali (O_2^-) oluşmaktadır [Reaksiyon 3].



Oluşan süperoksit radikali H_2O_2 ve OH^- i oluşturmaktadır [Reaksiyon 4, Reaksiyon 5] (52, 53, 54, 13)



3. Lökosit (nötrofil, lenfosit, monosit) aktivasyonu

Reperfüzyon hasarının önemli bir nedeni de, iskemik bölgeye lökositlerin, öncelikle de polimorfonükleer lökositler (PNL) olan nötrofillerin infiltrasyonudur. Bilindiği gibi nötrofiller fagositoz olayı ile canlıyı enfeksiyöz ajanlardan koruyan kan hücreleridir (31). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, beyinde iskemik hücrelerin, nötrofil ve trombositlerin vasküler endotele adhezyonuna dolayısıyla yangısal yanıtı açan, kemoatraktan maddeleri ve adezyon molekül aktivatörlerini salgıladıkları gösterilmiştir. Nötrofil kemotaksisine neden olan en önemli etken, XO reaksiyonu sırasında ortaya çıkan süperoksit anyon radikalleridir (29). Reoksjenasyon ile aktive olan ve lökosit akümüülasyonunda görev üstlenen diğer ajanlar ise, kompleman 5a (C5a) kompleman 3a (C3a), araşidonik asid metabolitleri, özellikle lökotrien B₄ (LB₄), nitroz oksid (NO), trombosit aktive edici faktör (PAF), interlökin-1,6,8 (IL-1,6,8), g interferon ve tümör nekroz faktörü a (TNF-a) gibi sitokinlerdir (55, 29). Kemotaktik faktörlerin sentezi ve salınması ile birlikte, hem nötrofil hem de endotel hücresinde lokalize olan adezyon moleküllerinin upregülasyonu da başlamaktadır. Nötrofil-endotel etkileşimini sağlayan adhezyon molekülleri, glikoprotein yapısındadırlar. Nötrofiller üzerinde bulunan bazı adhezyon molekülleri; lökosit β 2 integrinler (CD11/CD18) ve lökosit adhezyon molekülü (LAM-1 veya L-selektin) dır. Endotel hücresi üzerinde bulunanlar ise; intersellüler adhezyon molekülü-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekülü 1 (ELAM-1 veya E-selektin) ve granüle membran protein -140 (GMP-14 veya p-selektin) dır (56).

Nötrofiller, adhezyon molekülleri aracılığı ile etkileşime girdikleri endotel hücreleri arasında ilerleyerek (diapedez olayı) ekstravasküler dokuya doğru göç ederler. Aktive olmuş

nötrofiller, antimikrobiyal savunma sisteminde kullandıkları mekanizma olan NADPH oksidaz enzimi aktivasyonu ile reperfüzyonda gelen moleküler oksijenden seri reaksiyonlar sonucunda süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($\cdot OH$), hipoklorik asit ($HOCl$) ve kloraminleri ($R'RNCl$) oluşturarak, ileri doku hasarına neden olurlar (57, 31).

4. Plazma ve organel membranlarından kaynaklanan araşidonik asit kaskadı

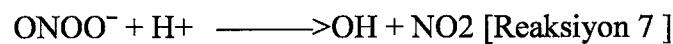
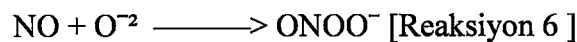
İskemi sırasında membran fosfolipidlerinin artmış lipolizi ile biriken araşidonik asidin reperfüzyonda hızlanmış metabolizması sonucu hidroperoksit prostaglandin G_2 (PGG_2), hidroperoksieikozotetraenoik asit ($HPETE$) ve prostaglandin H_2 (PGH_2) oluşum basamaklarında süperoksit anyon radikali oluşmaktadır (58, 59, 60).

Lipoliz, iskeminin derinliği ve süresiyle ilişkili olarak hem plazma hem de organellerin membranlarında gerçekleşmektedir. İşlekel ve ark. (61) sıçan beyninde derin iskemide lizozomal membranlarda lipoliz ve serbest radikal oluşumu nedeni ile, lizozomal enzimlerden asit fosfataz ve katepsinin sitoplazmaya sızdıklarını göstermişlerdir.

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi hücre içi antioksidanların aktivitelerindeki azalmanın, reperfüzyon ile organel membranlarından ayrılan araşidonik asidin metabolizma ürünleri olan serbest radikallerin hücre içindeki artışına neden olduğu öne sürülmektedir (62, 63).

5. Nitrik oksit sentaz (NOS) aracılı serbest radikal oluşumu

Reperfüzyonda, “inducible” NOS aktivasyonu ile nitrik oksit (NO) yapımı artmaktadır. NO in O_2^- ile reaksiyona girerek oluşturduğu peroksinitritin ($ONOO^-$) parçalanması ile ortaya hidroksil radikali ($\cdot OH$) çıkmaktadır [Reaksiyon 6, 7] (57, 56, 64, 29).



iskemide sonuç

Spinal korddaki iskemi sırasında hücre düzeyinde giderek ortaya çıkan enerji eksikliği, asidoza, fosfolipid, polisakkarid, protein, nükleik asid, gibi makromoleküllerin sentezinin durmasına, hücre membranındaki iyon pompalarının çalışmaması sonucu hücre içi ve dışı iyon dengesinin bozulmasına ve hipoksantin, ksantin gibi ATP yıkım ürünlerinin birikmesine neden olmaktadır. Tüm bu olaylar resirkülasyon sırasında oksijen ve kan ürünlerinin yeniden gelmesiyle oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu için iskemik dokuda uygun bir ortam hazırlamaktadır. Fizyolojik koşullarda organizmadaki oksidan-antioksidan denge sınırları içinde serbest radikal üreten kaynaklar reperfüzyonda ani ve yüksek konsantrasyonda moleküler oksijenin ortama gelmesi ile aşırı miktarda oksijen kaynaklı serbest radikal meydana getirmektedir. Sonuç olarak, spinal kord vasküler ve parankim dokusu iskemi ve reperfüzyonda gelişen olayların kümülâtif etkileri ile ortaya çıkan iskemi-reperfüzyon hasarına uğramaktadır.

I. 3. 1. AORTİK KROS KLEMPLEMENİN SPİNAL KORD ÜZERİNE ETKİLERİ

Aortik kros klemplemenin, normal hemodinamikler ve duyarlı dokularda son organ iskemisi üzerine önemli etkileri vardır, inen torasik aortanın klemplenmesi ile birkaç hemodinamik değişiklik ortaya çıkar. Aortik kros klemp proksimalindeki kan basıncı ani olarak yükselir, distalinde ise düşer. Kalp ard yükündeki ani artışla birlikte, sol ventrikül iş yükü ve ön yük artar, ön yük artışının yansıması olarak, santral venöz basınç ve sağ kalp basınçları artar. Santral venöz basınç yükselmesi, geriye doğru yansıyarak sistemik venlerdeki basıncın ve serebrospinal sıvı basıncının yükselmesine neden olur. Ayrıca aortik kros klemplemenin direkt etkisiyle, klemp altındaki organlarda kan akımı kesintiye uğrar.

Spinal kordda mevcut kan akımı ve metabolik ihtiyaçlar arasında bir denge söz konusudur. Spinal kord kan akımı, oksijen (O_2) ve enerji üretimi için gerekli substrat ihtiyacını temin eder ve zararlı ürünlerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Normal şartlarda, perfüzyon basıncı 60–160 mmHg arasında iken spinal kordda otoregülasyon mevcuttur. Perfüzyon basıncı 60 mmHg' nın altına düşerse kan akımı azalır. Perfüzyon basıncı 160 mmHg' nın üzerine çıkacak olursa, artmış hidrostatik basınç nedeniyle kan-beyin bariyeri zarar görür(65). Spinal kordda normal fonksiyonların korunması, feedback

mekanizmalarının karşılıklı etkileşmesine bağlıdır. Aortik klempleme esnasında, bu feedback mekanizmalarından bir kısmının fonksiyonlarını kaybetmesi sonucu, spinal kord hipoksisi veya iskemisi oluşur. Bu da, iyon dengesinin bozulması ve sitotoksosite ile sonuçlanır.

Radyoaktif hücreler kullanılarak, aortik kros klempleme esnasında spinal kord kan akımı incelenen bir hayvan modelinde, kan akımının spinal kord boyunca aşağıya doğru progresif olarak azaldığı gösterilmiştir (66). Dolayısıyla, kros klempleme sırasında iskemiye en fazla maruz kalan bölge distal lomber bölgedir. Sonraki bir çalışmada ise, spinal kordda O_2 sensörleri ile ölçüm yapılarak, azalmış kan akımının artmış deoksijenasyon ile bağlantılı olduğu da gösterilmiştir (67).

Cerrahi sırasındaki hücre hasarının üç potansiyel kaynağı vardır İskemi, iskemi-reperfüzyon hasarı ve mikrosirkülatur akım disfonksiyonu.

Sinir dokusu iskemiye oldukça duyarlıdır ve sadece birkaç dakikalık hipoksi bile geri dönüşümsüz hasara neden olabilir. Spinal korddaki iskemiye en duyarlı hücreler ise anterior boynuz hücreleri olup, hasarlanmaları durumunda motor kayıp ortaya çıkar. Moore ve Hollier(68). Tavşanlarda, iki dakikalık aortik oklüzyonla tüm deneklerde paralizi geliştiğini, 16 dakika içinde kan akımı yeniden sağlandığında motor fonksiyonlardaki geriye dönüşün kesin olduğunu, 27 dakikalık oklüzyon sonrasında ise paralizinin kalıcı olduğunu göstermişlerdir.

Normalde santral sinir sistemi dokusunda sağlanan enerjinin yaklaşık $2/3$ 'ü, hücre membranından iyon gradienti ve nörotransmitter sentezlenmesi gibi hücresel fonksiyonların sürdürülmesi için kullanılır. Geriye kalan $1/3$ 'lük kısım ise, hücresel homeostazis için kullanılır (69). Kros klempleme sonucu yeterli kan akımı temin edilememesine bağlı oksijen ve metabolik madde ihtiyacı sağlanamaz ve zararlı ürünler uzaklaştırılmaz. Oluşan bu iskemik tablo spinal kordda bir dizi patolojik değişikliğe neden olur. Perfüzyonla sağlanan O_2 ve glikoz miktarı metabolik ihtiyaçları karşılayamaz şekilde düştüğünde, enerji eksikliği sonucu membran gradienti hızla kaybolur. Sodyum ve kalsiyum hücre içerisinde birikirken, hücreden dışarıya potasyum kaybı olur. Bu da hücre ölümü ile sonuçlanır. Ayrıca, iskemik hücrelerin aspartat ve glutamat gibi eksitatör aminoasitleri aşırı miktarda salgıladıkları

bilinmektedir (70). Bunlar kainate, quisqualate ve spinal kordda yaygın olduğu bilinen N-Methyi-D-Aspartate (NMDA) reseptörlerine bağlanırlar.

Reperfüzyon, kan akımının ve böylece de, iskemik kalmış doku oksijenasyonunun yeniden sağlanmasıdır. Reperfüzyonun, enerji-oksijen sağlanması ve hücresel homeostazisin geriye dönmesindeki olumlu etkileri açıktır. Bununla birlikte reperfüzyon, bu olumlu etkisinin aksine mevcut iskemiye ek bir hasara da yol açabilir. Bu fenomen iskemi-reperfüzyon hasarı olarak isimlendirilir. Bu istenmeyen etkiden özellikle serbest oksijen radikalleri sorumludur(71). Bir hayli toksik olan serbest oksijen radikalleri, muhtemelen kan akımının yeniden sağlandığı başlangıç dönemindeki tam olmayan oksijenasyon sırasında oluşurlar. Aortik klempin kaldırılmasından sonra spinal korda ulaşan O_2 , artmış ksantin oksidaz ve düşük enerjili fosfat bileşikleri ile reaksiyona girerek serbest radikal üretimi oluşturabilir(72). Bu toksik ürünler membran lipidleri başta olmak üzere, hücresel yapıları etkilerler. Serbest oksijen radikallerinin hücre hasarındaki temel mekanizması lipid peroksidasyonudur. Poliansatüre yağ asitleri ve fosfolipidlerden oluşan hücre membranı, lipid peroksidasyonu ile ayrışarak araşidonik asit metabolitlerinin salgılanmasına neden olurlar ve sitokin üretimini başlatır. Hücresel permeabilite artışı nedeniyle ödem oluştururlar(73). Endotelin ve tromboksan gibi maddeler aracılığı ile vazospazm görülür(74). Reperfüzyon hasarını takiben nötrofil aktivasyonu da artmıştır.

Mikrosirkülatuar düzeyde bir blokaj sonucu reperfüzyon yetmezliği de görülebilir. Bu blokajın derecesi iskemi süresinin uzunluğu ile orantılıdır. Uzayan iskemik süreçte gelişen vazospazm, platelet agregasyonu ve prekapiller ödem ile bağlantılı olarak doku kanlanması sağlandığında mikrosirkülatuar düzeyde reperfüzyon yetmezliği oluşabilir.

I. 3. 2. SPİNAL KORDU İSKEMİDEN KORUMA YÖNTEMLERİ

A- Spinal kord kan akımının sürdürülmesi: Hızlı cerrahi, distal aortik perfüzyon (gott şantı, femoral ven-femoral arter bypass), intratekal vazodilatatör ajanlar, interkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu, serebrospinal sıvı basıncının azaltılması

B- Spinal kordun iskemiye toleransının artırılması: Hipotermi, anestezi ajanlar, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokerleri, eksitatuar aminoasit antagonistleri

C- Reperfüzyon hasarının azaltılması: Serbest radikal gidericiler, immün sistem modülasyonu, adenozin (75, 76).

A. SPİNAL KORD KAN AKIMININ SÜRDÜRÜLMESİ

Hızlı cerrahi

Hızlı ve becerikli cerrahi ve dolayısıyla kros-klemp zamanında ekibin deneyim eksikliğinden kaynaklanan uzamaların olmaması, iskemik komplikasyonların önlenmesinde belki de ilk adım olacaktır. Daha 1910' larda deneysel aort cerrahisinde kros-klemp zamanının 10–15 dk. arasında olması halinde iskeminin güvenle sonuçlandırılabilceği bildirmiş ve daha sonraki klinik uygulamalarda bu uyarı “clamp and go” tekniği olarak torasik ve torakoabdominal aort anevrizmaların onarımında kullanılan ilk yöntemin adı olmuştur (76).

Livesay ve arkadaşları (77) kros-klemp zamanının 30 dk. yı aşması halinde parapleji riskinin %3' ten %11' e yükseldiğini göstermişlerdir. Svensson ve arkadaşları da (78) spinal kordun hasar görmesinde kros-klemp zamanının tek başına bir aktör olabildiğini bildirmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalar kros-klemp zamanı ile spinal kord iskemik hasarı arasında mutlak ilişki kurulamayacağını, daha kısa kros-klemp zamanında bile parapleji görülebileceğini ya da tersine daha uzun iskemi periyodunda hasar oluşmayabileceğini ileri sürmektedirler. Örneğin Hollier ve arkadaşları (79) 20 dk.'dan daha az kros-klemp uygulamasında 5 olguda parapleji bildirmekte, tersine Najafi(80) 58 dakikalık ortalama kros-klemp zamanında hiç parapleji görülmediğini rapor etmektedir. Sonuçlar arasındaki bu zıtlık, muhtemelen bu çalışmalarda anevrizmanın lokalizasyonu ve Adamkiewicz arteri ile ilişkisinin tam olarak ifade edilmemesinden kaynaklanmaktadır.

Katz ve arkadaşları(81), aortik oklüzyon süresiyle nörolojik defisit sıklığı arasında direkt ve çok önemli bir ilişki olduğunu açık bir şekilde göstermişlerdir. Buna göre 25-30 dk.'lık süre kritik kros-klemp zamanı olup bunun uzaması halinde alt ekstremitelerde nörolojik defisit olasılığı artmaktadır. Kuşkusuz her lezyonu bu kısa sürede onarmak mümkün olamayacağına göre spinal kordu korumak üzere yandaş tedbirlerin uygulanması zorunludur. Birçok olguda “clamp and go” tekniği başarıyla kullanılmıştır, ancak aortik kros-klemp zamanının güvenli bir şekilde 30 dk. üzerine çıkarılması gereken durumlarda çeşitli koruyucu yöntemlere başvurulmaktadır (78, 82, 83, 84).

Distal aortik perfüzyon

Distal aortik kan basıncının 60-70 mmHg. seviyesinde tutulması halinde medulla spinalisin etkin olarak korunduğu deneysel olarak gösterilmiştir (85). Distal aortik perfüzyon, kros-klemp süresince distal aortik perfüzyon basıncını yükselterek medulla spinalis kan akımını artırma amacını güder. Bu tekniklerin çoğunda distal aorta retrograd olarak perfüze edilmektedir. Roller pompa, pasif şantlar veya sentrifugal pompa aracılığıyla atrio-femoral, femoro-femoral bypass düzeneği veya gott şantı kullanarak kros-klempin distalinde kalan aort bölümüne proksimalden kan akımı sağlanmaktadır.

Özellikle atrio-femoral bypass yöntemi giderek daha sık kullanılmaktadır. Distal aortik perfüzyon yöntemleriyle böbrek ve medulla spinalisin etkin şekilde korunduğu gösterilmiştir (78, 86).

İntratekal vazodilatatörler

İntratekal vazodilatatörler hakkında pekçok çalışma yapılmıştır. 100 yıldan fazla bir süredir çeşitli durumlarda kullanılan papaverin bu amaçla intratekal verildiğinde, longitudinal spinal arterleri özellikle de anterior spinal arteri antispazmodik etkisiyle dilate ederek spinal kord hasarının önlenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bu sayede omurilik boyunca antegrad kan akımı sağlanabilmekte ve Adamkiewicz arteri ile beslenen segment güvenlikte olmaktadır. Bu tarz bir koruma distal perfüzyonun etkin olup olmadığına veya Adamkiewicz arterinin orijin aldığı segmentin hangisi olduğuna bağlı değildir. Papaverinin arteriyel dilatasyon sağlamaktan başka etkileri de vardır. Protektif etkisine katkıda bulunduğu düşünülen bu etkilerin arasında, kalsiyum kanal blokajı, oksidatif fosforilasyon esnasında elektron transferinin inhibisyonu, krebs siklusundaki substratların aerobik oksidasyonunun önlenmesi, süperoksit oluşumunun önlenmesi ve pürin siklik nükleotid parçalanmasının blokajı gibi etkiler bulunmaktadır(33, 87). Svensson ve arkadaşları(88), maymun modelinde, Sun ve arkadaşları(87) domuz modelinde intratekal olarak verilen papaverinin spinal kord kan akımını artırdığını ve 60 dk.'lık aort kros-klempi uygulamasından sonra hiç parapleji gelişmediğini rapor etmişlerdir. Maughan ve arkadaşları da (89), köpek modelinde vazodilatatör etkisi bilinen %20 Fluosol-DA ve oksijene perflüorokarbonu intratekal vererek spinal kord hasarını önlediklerini bildirmektedirler.

İnterkostal ve lomber arterlerin reimplantasyonu

Başta Adamkiewicz arteri olmak üzere, inen aortadan çıkan ve spinal kordun kanlanmasına katkıda bulunan arterleri, desenden torasik ve torakoabdominal aort tamirinden sonra, grefte reimplante ederek parapleji komplikasyonunun önlenebileceği, spinal kord iskemisinin paraplejinin esas nedeni olarak kabul edildiği günümüzde, hiç değilse majör damarların reimplantasyonunun gerekli olduğu savunulmaktadır(86). Preoperatif dönemde bu arterlerin tespit edilmesi operasyon esnasında cerraha hem kolaylık sağlar hem de zaman kazandırır. Ancak klinik çalışmalar, preoperatif dönemde anjiyografik olarak bu arterleri tespit etmede teknik sorunlar yaşandığını, bu arterlerin kronik tıkanıklığı ya da stenozu nedeniyle sağlıklı olarak belirlenemeyeceğini göstermektedir. Bu nedenle çoğu zaman bu arterler cerrahın operasyon anındaki gözlemine göre körlemesine reimplante edilmektedir (90). Svensson ve arkadaşları(91) T8-L1 arasındaki segmental arterleri, Hollier ve arkadaşları ise(92) tüm segmental arterleri reimplante etmeyi savunmaktadır. Svensson ve arkadaşları (86) domuz modelinde intraoperatif hidrojen testi ile spinal kordu besleyen arterleri tespit etmişler ve bu arterleri kestiklerinde büyük oranda parapleji veya paraparezi geliştiğini, fakat bu arterleri koruduklarında nörolojik defisit sıklığının önemli oranda düştüğünü göstermişlerdir. Bu nedenle, spinal kordu besleyen damarların izole perfüzyonu veya grefte reimplantasyonu spinal kord hasarı riskini düşürme açısından önemlidir.

Beyin-omurilik sıvısının (BOS) drenajı

Aortaya kros-klemp konunca, klempin proksimalinde intra-aortik basıncın yükseldiği, bunun sonucu kardiyak ard-yükün ve BOS basıncının arttığı bilinmektedir. Blaisdell ve Cooley(93), paraplejinin esas sebebinin kros-klemp konulmasını takiben proksimal aortada kan basıncının aniden yükselmesine paralel olarak intrakranial basıncın süratle artışı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu artış BOS' a yansımakta ve bu da iki yolla medulla spinalisin beslenmesini bozmaktadır.

1-Spinal damarlara ve nöral dokuya kompresyon,

2-Spinal kord perfüzyon basıncında azalma-iskemi.

BOS drenajı, spinal kord perfüzyon basıncını artırdığı gerekçesiyle kullanılmış ve köpek deneylerinde paraplejiyi azalttığı gösterilmiştir(75, 76). “Spinal kord perfüzyon basıncı=ortalama distal aortik basınç-BOS basıncı” formülüne göre, spinal kord perfüzyon

basıncının sayısal değerini artırmak için ortalama distal aortik basıncın yükseltilmesi gerekmektedir. 50mmHg.'lık perfüzyon basıncı, otoregülatuar sistemlerin normal spinal kord kan akımını devam ettirebileceği en alt sınırdır. Bu basıncın 50 mmHg.'dan büyük tutulması gerekir. Bunun yapılamadığı durumlarda, efektif perfüzyon basıncını artırmak için venöz komponent yani santral ven basıncı düşürülmelidir. Torasik aortanın kross-klempi esnasında oluşan proksimal hipertansiyon kafa kaidesinde volüm artmasına ve dural boşluktaki venöz kapasitansta volüm değişikliklerine ve dolayısıyla intrakranial kompartımanlarda kan birikimine neden olup BOS basıncının artmasına neden olmaktadır. Bunun için belli miktarda BOS boşaltılmakta, böylece spinal kordun arteriyel beslenmesinin iyileştirilemediği hallerde daha iyi perfüzyon sağlanması amaçlanmaktadır.

Torasik aortun geçici olarak klempe edilmesi sırasında serebrospinal sıvı drenajı yapılarak spinal kord iskemisinin engellenmesi ilk olarak Miyamoto ve arkadaşları tarafından önerilmiştir(94). Günümüzde yüksek riskli distal aort patolojilerinin cerrahi tedavisinde BOS drenajı standart olarak önerilmektedir(95, 96). Torasik aortanın klempe edilmesi sırasında BOS drenajı sadece perfüzyon basıncının devamı üzerinde etki göstermez. Kross-klemp sırasında BOS içine nörotoksik maddelerin sekresyonu artar. BOS drenajı bu zararlı proteinlerin de beyin omurilik sıvısından uzaklaştırılmasını sağlar (95).

B. SPİNAL KORDUN İSKEMİYE TOLERANSININ ARTIRILMASI

Medula spinalisin iskemiye toleransının artırılması amacıyla bölgesel veya sistemik hipotermi, kortikosteroidler, kalsiyum kanal blokerleri, eksitatuvar aminoasit antagonistleri ve anestezi maddeler kullanılmaktadır.

Kortikosteroidler

Steroidlerin koruyucu etkileri, membran stabilize etme, immün sistem modülasyonu ve serbest radikal temizleyici etkileri ile ilgili olduğu düşünülüyor (76). Fowl ve arkadaşları(97), tavşanlarda 21-amino steroid olan U-74006F vererek spinal kord hasarını önlediklerini rapor etmişlerdir.

Kalsiyum Antagonistleri

Kalsiyum kanal blokerlerinin serebral iskemiden sonra, beyin kan akımını artırdığı ve böylece nörolojik fonksiyonları olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Schitteck ve arkadaşları (98). Bir kalsiyum antagonisti olan nimodipinle spinal kord iskemisini de önlediğini deneysel olarak göstermişlerdir.

Eksitatuvar amino asit antagonistleri

Eksitatuvar amino asit antagonistlerinden n-metil d-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti MK-801' in tavşan spinal kord iskemi modelinde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (75). Tobinaga (99) tavşan modelinde MK-801' i intra-aortik vererek postoperatif spinal kord hasarının önemli ölçüde azaldığını rapor etmiştir.

Anestezik ajanlar

Vasküler düz kasları üzerinde gevşetici etkisi bulunan ve sinaptik iletiyi bloke eden tiopental gibi barbitüratların, membran iyon pompa ve kanallarını inhibe ederek hücre membran stabilizasyonunu sağlayan kokain türevi lokal anestezik ajanların hayvan deneylerinde nöroprotektif oldukları gösterilmiştir (76). Benzer olarak bir opiat reseptör antagonisti olan naloksanın, deney hayvanlarında nöroprotektif olduğu ve iskemik spinal kord hasarını önlemede yararlı olabileceği ileri sürülmektedir (75)

Hipotermi

Hipoterminin iskemik nöral doku ve spinal kord üzerindeki koruyucu etkisi deneysel ve klinik olarak iyi bilinen bir özelliktir(100, 101). Spinal kordun soğutulması, ya tüm vücudun soğutulması şeklinde yani sistemik hipotermi olarak ya da lokal soğutma şeklinde olabilir. Lokal hipotermi, epidural-intratekal soğutma veya intraaortik soğutma şeklinde uygulanabilir (102). Scott ve arkadaşları (103) domuz modelinde aksesör hemiazigoz veninden adenoazin içeren hipotermik isotonik sodyum klorür solüsyonunu retrograd yolla paravertebral ve spinal venlere vererek spinal kord lokal soğuttuklarını ve optimum koruma sağladıklarını gösterdiler. Hipotermi, soğutmanın derecesi oranında nöral dokunun enerji tüketiminde düşme sağlar [23]. Isının her 1°C düşmesinde nöral dokunun O_2 tüketiminin %5 azaldığı gösterilmiştir (100). Hipoterminin koruyucu etkisi, ısı seviyesi ile

ilişkili olarak hücre içi enzimatik reaksiyonları ve nöral dokunun metabolik ihtiyaçlarını azaltması temeline dayanır. Böylece oksijen ve kan ihtiyacı orantılı olarak azalır.(104)

Normotermide yüksek enerjili fosfatlar hızlı bir şekilde tükenir. Bununla beraber Norwood ve arkadaşları(105) hipotermi ile iskemi esnasında ATP ve fosfokreatinin depolarının devam ettiğini ve reperfüzyon esnasında bu depoların hızla rejenere olduklarını gösterdiler. Yine aynı çalışmacılar hipotermi'nin reperfüzyon esnasında oluşan “no reflow” fenomeninin zararlı etkilerini de azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca hipotermi membran stabilizasyonunu sağlar ve eksitatuvar nörotransmitterlerin salınımını azaltır(103). Total kardiopulmoner bypass ve derin hipotermik sirkülatuar arrest yönteminin, desenden torakal ve torakoabdominal aort anevrizmalarının tedavisinde spinal kordun korunması üzere kullanılması önerilmektedir(106). Ancak hemoraji, pulmoner sistem ve sinir sistemi komplikasyonları bu yöntemin yaygın kullanımını sınırlamaktadır(75).

C. REPERFÜZYON HASARININ AZALTILMASI

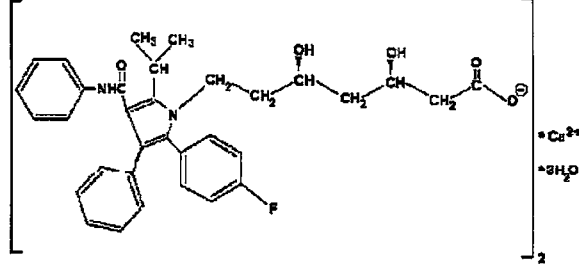
Reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla serbest radikal temizleyicileri, immün sistem düzenleyicileri ve adenosin gibi birçok ajan kullanılmıştır. Aortik kross-klemp uygulaması sırasında, spinal kord kan akımının azalması nedeniyle iskemi ve ardından post-iskemik resirkülasyon hasarının kaçınılmaz olduğu bilindiğine göre, bu hasarı en aza indirmek üzere primer sorumlu ajanların ortamdaki uzaklaştırılması önem kazanmaktadır. Serbest oksijen radikal giderici olarak süperoksit dismutaz gibi enzimler, allopurinol, E vitamini, koenzim q, sistein, glutatyon, albümin, serüloplasmin, transferin gibi çeşitli maddeler mevcuttur. Bu endojen ve eksojen radikal temizleyicisi ve inhibitörleri hakkında literatürde çok geniş bilgi mevcuttur(107, 108).

I. 4. ATORVASTATİN

Sentetik lipid düşürücü ajandır. Kolesterol sentezinde hız sınırlayıcı basamakta katalizör olarak görev alan rol alan 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) redüktaz enzimini inhibe ederek HMG-CoA'nın mavelonat'a dönüşümünü engelleyerek etki gösterir.

Atorvastatin kalsiyum [R-(R*, R*)]-2-(4-fluorophenyl)-β, .-dihydroxy-5(1-methylethyl)-3-phenyl-4-[(phenylamino)carbonyl]-1H-pyrrole-1-heptanoic acid, calcium

salt (2:1) trihydrate şeklinde formülüne edilir. Ampirik gösterimi $(C_{33}H_{34}FN_2O_5)_2Ca \cdot 3H_2O$ şeklindedir.



Atorvastatin beyaz toz kristaller şeklindedir ve pH sı 4 den küçük olan sıvılarda çözülmez. Distile suda PH 7.4 olan fosfatlı tampon mai ve asetonitril de çok az çözünürken etanol de bir miktar, metanol de ise iyi çözünür.

FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Farmakodinamik Özellikleri

Atorvastatin 3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A' nın, kolesterolü de içeren sterollerin bir prekürsörü olan mevalonata dönüşmesinden sorumlu hız sınırlayıcı enzim olan HMG-KoA redüktazın selektif, kompetitif bir inhibitörüdür. Homozigot ve heterozigot familial hiperkolesterolemi, hiperkolesteroleminin non-familiyal tipleri ve karma dislipidemisi olan hastalarda atorvastatin total-K, LDL-K ve apoB' yi düşürür. Atorvastatin ayrıca VLDL-K ve trigliseridi düşürür ve HDL-K' da değişken artışlar meydana getirir. Karaciğerdeki trigliseridler ve kolesterol, VLDL'ye birleşir ve periferik dokulara dağıtım için plazmaya salınır. Düşük dansiteli lipoprotein (LDL), VLDL'den oluşur ve primer olarak yüksek affiniteli LDL reseptörü üzerinden katabolize olur. VLDL' yi de içeren, kolesterol ile zengileşmiş trigliseridlerden zengin lipoprotein, IDL ve kalıntıları, LDL gibi ateroskleroza arttırabilir. Artmış plazma trigliseridleri, sıklıkla, düşük HDL kolesterol seviyeleri ve küçük LDL partikülleri ile beraber üçlü bir ortamda bulunur, bu duruma koroner kalp hastalığı için non-lipid metabolik risk faktörleri eşlik eder. Total plazma trigliseridlerinin tek başlarına koroner kalp hastalığı için bir risk faktörü oluşturduğu gösterilmemiştir. Ek olarak yükselen HDL veya azalan trigliseridlerin koroner ve kardiyovasküler morbidite ve mortalite üzerindeki bağımsız etkileri açığa kavuşturulmamıştır.

Atorvastatin HMG-KoA redüktazı inhibe ederek plazma kolesterolü ve lipoprotein düzeylerini düşürür ve karaciğerdeki kolesterol sentezini azaltır ve ayrıca LDL' nin artmış alımı ve katabolizması için hücre yüzeyindeki hepatik LDL reseptörlerinin sayısını artırır.

Atorvastatin LDL üretimini ve LDL partiküllerinin sayısını azaltır. Atorvastatin dolaşan LDL partiküllerinin kalitesinde yararlı bir değişimle beraber LDL reseptör aktivitesinde çok büyük ve devamlı bir artış sağlar. Atorvastatin normalde lipid düşürme tedavisine yanıt vermeyen bir popülasyon olan homozigot familial hiperkolesterolemili hastalarda LDL' yi düşürmede etkilidir.

Atorvastatinin bir doz yanıt çalışmasında; atorvastatin (10-80 mg) total-K' ü (Kolesterol) (%30-%46), LDL-K' ü (%41-%61), apolipoprotein B' yi (%34-%50) ve trigliseridleri (%14-%33) düşürmüştür. Bu sonuçlar heterozigot familial hiperkolesterolemili, familial olmayan hiperkolesterolemili hastalarda ve insüline bağımlı olmayan diabetes mellituslu hastaları da içeren miks hiperlipidemili hastalarda da geçerlidir.

Atorvastatin izole hipertrigliseridemili hastalarda total kolesterol, LDL kolesterol, VLDL kolesterol, apo B, trigliseridler ve non-HDL kolesterolü düşürür, HDL kolesterolü artırır. Atorvastatin, disbetalipoproteinemili hastalarda IDL kolesterolü (intermediate density lipoprotein) düşürür. 24 kontrollü çalışmada yer alan, Fredrikson Tip II a ve Tip II b hiperlipoproteinemisi olan hastalarda, atorvastatin (10 mg- 80 mg) ile, HDL-K'da taban değerden ortalama yüzde artış, doza bağımlı olmaksızın % 5,1 – 8,7 olmuştur. Ayrıca, toplanan bu verilerin analizi, total kolesterol / HDL-K ve LDL-K / HDL-K oranlarında, sırasıyla % -29 ile % -44 ve % -37 ile % - 55 aralığında değişen, anlamlı, doza bağımlı düşüş göstermektedir.

Atorvastatin ve bazı metabolitleri insanda farmakolojik olarak aktiftir. Atorvastatinin en önemli etki merkezi, kolesterol sentezinin ve LDL klirensinin yapıldığı esas merkez olan karaciğerdir. LDL-K redüksiyonu ilaç dozu ile sistemik ilaç konsantrasyonundan daha fazla ilişkilidir. Terapötik cevap göz önüne alınarak ilaç dozu kişiye göre ayarlanmalıdır.

Farmakokinetik Özellikleri ve İlaç Metabolizması

Emilim:

Atorvastatin oral uygulamadan sonra hızla absorbe olur; maksimum plazma konsantrasyonları 1 ila 2 saat arasında görülür. Emilimin derecesi ve plazma atorvastatin konsantrasyonları, atorvastatin dozuyla orantılı olarak artar. Atorvastatin tabletleri solüsyonlarla kıyaslandığında %95 - %99 biyoyararlılığa sahiptir. Atorvastatinin mutlak biyoyararlılığı yaklaşık %14'dür ve HMG-KoA redüktaz inhibitör aktivitesinin sistemik yararlılığı yaklaşık %30'dur. Düşük sistemik yararlılık gastrointestinal mukozadaki pre-sistemik klirens ve/veya hepatik ilk-geçiş metabolizmasına bağlanır. Yemekler ilaç emiliminin hızını yaklaşık %25 ve miktarını %9 oranında azaltsa da C_{max} ve AUC değerlerine bakılarak değerlendirme yapıldığında, atorvastatinin yemekler ile beraber veya ayrı verilmesi durumunda LDL-K azalmasının benzer olduğu görülür. Plazma atorvastatin konsantrasyonu ilaç akşam kullanıldığında sabah kullanımına göre daha düşük olur (C_{max} ve AUC için yaklaşık %30). Ancak LDL-K azalması ilacın alınma zamanına bağlı olmaksızın aynıdır.

Dağılım:

Atorvastatinin ortalama dağılım hacmi yaklaşık 381 L'dir. Atorvastatin plazma proteinlerine %98 oranında bağlanır. Alyuvar/ plazma oranı yaklaşık 0.25'dir ve bu oran alyuvarlara penetrasyonun zayıf olduğunu gösterir.

Metabolizma:

Atorvastatin büyük oranda sitokrom P450 3A4 enzimi ile orto- ve parahidroksilat türevlerine ve çeşitli beta oksidasyon ürünlerine metabolize olur. İn vitro olarak HMG-KoA redüktazın orto- ve parahidroksilat metabolitleri yoluyla inhibisyonu atorvastatininkine denktir. HMG-KoA redüktaz için dolaşan inhibitör aktivitenin yaklaşık %70'i aktif metabolitlere bağlanır. Atorvastatin ile büyük oranda sitokrom P450 3A4 tarafından metabolize edilen bir bileşik olan terfenadinin beraber uygulanması, terfenadinin plazma konsantrasyonlarını klinik açıdan önemli olarak etkilemez. Bu sebeple atorvastatinin diğer sitokrom P450 3A4 substratlarının farmakokinetiğini önemli olarak değiştirmesi beklenmez.

Atılım:

Atorvastatin ve metabolitleri, hepatik ve/veya ekstrahepatik metabolizmayı takip ederek öncelikle safrada elimine edilir. Bununla birlikte, ilaç anlamlı enterohepatik re-sirkülasyona uğruyor görünmemektedir. Atorvastatinin ortalama plazma eliminasyon yarı-ömrü insanlarda yaklaşık 14 saattir. HMG-KoA redüktaz için inhibitör aktivitenin yarı-ömrü aktif metabolitlerin katkısı nedeniyle yaklaşık 20–30 saattir. Oral uygulanan atorvastatin dozunun %2'sinden daha az kısmı idrarda saptanmıştır.

Atorvastatin plazma konsantrasyonları kadınlarda erkeklerden farklıdır (kadınlarda yaklaşık olarak C_{max} %20 yüksek ve AUC %10 düşüktür). Fakat kadınlar ve erkekler arasında lipid etkileri yönünden klinik olarak anlamlı hiçbir fark olmamıştır.

Böbrek hastalığının atorvastatinin plazma konsantrasyonlarına veya lipid etkilerine tesiri yoktur. Bu sebeple böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda doz ayarlanması gerekli değildir. Atorvastatin plazma konsantrasyonları kronik alkolik karaciğer hastalığı olan hastalarda belirgin olarak artar.

Endikasyonları

Primer hiperkolesterolemi, heterozigot familial ve non-familial hiperkolesterolemi ve kombine (miks) hiperlipidemili (Fredrikson Tip IIa ve IIb) hastalarda yükselen total kolesterol, LDL-kolesterol, apolipoprotein B ve trigliseridlerin düşürülmesinde ve HDL - kolesterolün yükseltilmesinde diyetle yardımcı olmak üzere endikedir.

Yüksek serum trigliserid seviyeleri olan (Fredrikson Tip IV) hastalarda ve tek başına diyetle cevap vermeyen disbetalipoproteinemili (Fredrikson Tip III) hastalarda diyetle yardımcı olmak üzere endikedir.

Ayrıca diyetle ve diğer non-farmakolojik önlemlere yanıtın yetersiz olduğu durumlarda, homozigot familial hiperkolesterolemili hastalarda total kolesterol ve LDL kolesterolün düşürülmesinde endikedir.

Kontrendikasyonları

Bu ilacın herhangi bir komponentine aşırı duyarlılığı olan, aktif karaciğer hastalığı olan veya devamlı olarak normal üst limiti 3 kat aşan açıklanamayan serum transaminaz

yükselmesi olan hastalarda, hamile, emziren ve uygun kontraseptif yöntemleri kullanmayan çocuk doğurma potansiyeli olan kadınlarda kontrendikedir. Atorvastatin, çocuk doğurma yaşında olan kadınlarda, sadece gebe kalması büyük ölçüde mümkün görülmeyenlerde ve fetüse olabilecek potansiyel zararlar konusunda bilgilendirildiğinde kullanılmalıdır.

Uyarılar/Önlemler

Karaciğere etkileri, aynı sınıfa dahil diğer lipid düşürücü ajanlarda olduğu gibi, atorvastatin tedavisini takiben serum transaminazlarında orta derecede yükselmeler (normal (ULN) üst limitinin üç katından daha fazla) rapor edilmiştir. Hem pazarlama öncesi hem de pazarlama sonrasında atorvastatinin 10, 20, 40 ve 80 mg dozları ile yapılan bu klinik çalışmalarda, karaciğer fonksiyonları izlenmiştir. Atorvastatin alan hastaların %0.7' sinde serum transaminazlarında sürekli yükselme gözlenmiştir. Bu anormalliklerin insidansı 10, 20, 40 ve 80 mg dozlar için % 0.2, % 0.2, % 0.6, % 2.3 olmuştur. Atorvastatin dozu azaltıldığında veya ilaç tedavisine ara verildiğinde veya tedavi kesildiğinde transaminaz seviyeleri tedavi öncesi değerlere döner, hastaların çoğu daha düşük dozlarda atorvastatin tedavisine sekelsiz devam edebilir. Tedavinin başlatılmasından önce ve sonra periyodik olarak karaciğer fonksiyon testleri yapılmalıdır. Karaciğer hasarını düşündüren belirti ya da semptomları gelişen hastalara karaciğer fonksiyon testleri yapılmalıdır. Artan transaminaz seviyeleri olan hastalar anormallik(ler) düzelene kadar takip edilmelidir. ALT veya AST'de normal üst sınırın 3 katından fazla bir artışın sürmesi halinde doz azaltılması veya atorvastatinin kesilmesi önerilir. Atorvastatin transaminaz seviyelerinde yükselmeye sebep olabilir. Atorvastatin önemli miktarlarda alkol kullanan ve/veya bir karaciğer hastalığı hikayesi olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır.

Atorvastatin ile tedavi edilen hastalarda miyalji bildirilmiştir. Belirgin olarak yüksek CPK seviyeleri (normal üst limitin (ULN) 10 katından fazla) ortaya çıkarsa ya da miyopati teşhis edilir veya bundan şüphelenilirse, atorvastatin tedavisi kesilmelidir. Miyopati riski bu sınıfa ait ilaçlar ile beraber siklosporin, fibrik asit türevleri, eritromisin, niasin veya azol antifungaller kullanıldığında artar. Bu durumda periodik kreatin fosfokinaz ölçümleri düşünülmelidir. Atorvastatin kreatin fosfokinaz seviyelerinde yükselmeye sebep olabilir. Bu sınıftaki diğer ilaçlar gibi nadir vakalarda, miyoglobüriye sekonder akut böbrek bozukluğu ile beraber rabdomiyoliz bildirilmiştir. Akut miyopatiyi düşündürecek ciddi durumları olan hastalarda veya rabdomiyolize sekonder olarak böbrek yetmezliği oluşma eğilimini artıracak

predispozan bir faktörü (örneğin, ciddi akut enfeksiyon, hipotansiyon, önemli cerrahi müdahale, travma, ciddi metabolik, endokrin ve elektrolit bozuklukları ve kontrol edilemeyen krizler) olan hastalarda atorvastatin tedavisi geçici olarak veya tamamen kesilmelidir.

Yan Etkiler/ Advers Etkiler

Atorvastatin genelde iyi tolere edilir. Advers reaksiyonlar çoğunlukla hafif ve geçici olmuştur. Hastaların %2'sinden azı atorvastatine bağlanabilen yan etkiler nedeniyle klinik çalışmalardan çıkarılmıştır. Atorvastatin ile ilişkili olduğu düşünülen en sık görülen advers olaylar konstipasyon, gaz, dispepsi ve abdominal ağrıdır.

Aşağıdaki advers olaylar nedensel bir ilişki değerlendirmesi yapılmaksızın, klinik çalışmalarda atorvastatin ile tedavi edilen hastalarda bildirilmiştir. Hastalarda <%2 sıklıkta gözlenen advers olaylar şunlardır:

Tüm vücut: Yüz ödemi, ateş, boyun sertliği, halsizlik, fotosensitivite reaksiyonu ve yaygın ödem.

Sindirim sistemi: Gastroenterit, karaciğer fonksiyon testlerinde anormallik, kolit, kusma, gastrit, ağız kuruluğu, rektal kanama, özefajit, eruktasyon, glossit, ağız ülserleri, anoreksi, iştah artışı, stomatit, safra kesesi ağrısı, chelitis, yutma güçlüğü, duodenal ülser, enterit, melena, dış eti kanaması, mide ülseri, tenesmus, ülseratif stomatit, hepatit, pankreatit, kolestatik sarılık.

Solunum sistemi: Pnömoni, dispne, astım, burun kanaması.

Sinir sistemi: Parestezi, uyuklama / uyku hali, unutkanlık, anormal rüya görme, libido azalması, duygusal değişkenlik, koordinasyon bozukluğu, periferik nöropati, torticollis, yüz felci, hiperkinezi, depresyon, hiperestezi ve hipertoni.

İskelet kas sistemi: Bacak krampları, bursit, tenosinovit, kas güçsüzlüğü, tendon kontraktürü, miyozit.

Deri: Kaşıntı, kontakt dermatit, alopesi, cilt kuruluğu, terleme, akne, ürtiker, egzema, sebore, deri ülserleri.

Ürogenital sistem: İdrara çıkmada artış, sistit, hematüri, empotans, ağrılı idrar yapma, böbrek taşı oluşumu, noktüri, epididimit, fibrokistik meme, vajinal kanama,

albüminüri, memelerde büyüme, metroraji, nefrit, üriner inkontinans, üriner retansiyon, idrara sıkışma hissi, anormal ejakülasyon, uterus kanaması.

Özel duyular: Ambilopi, kulak çınlaması, göz kuruluğu, refraksiyon bozukluğu, göz hemorajı, sağırılık, glokom, parosmi, tat alamama, tat almada değişiklik.

Kardiyovasküler sistem: Palpitasyon, vasodilatasyon, senkop, migren, postural hipotansiyon, flebit, aritmi, angina pectoris, hipertansiyon.

Metabolik ve beslenme bozuklukları: Hiperglisemi, kreatin fosfokinaz artışı, gut, kilo alımı, hipoglisemi.

Kan ve lenfatik sistem: Ekimoz, anemi, lenfadenopati, trombositopeni, peteşi.

Atorvastatin tedavisi ile ilgili olarak pazarlama sonrasında bildirilmiş olan, yukarıda listelenmemiş ve nedensel bir ilişki değerlendirmesi yapılmamış advers olaylar arasında anafilaksi, anjiyonörotik ödem, bülloz döküntüler (eritema multiforme, Stevens Johnson Sendromu ve toksik epidermal nekroliz dahil olmak üzere) ve rabdomiyoliz yer almaktadır.

STATİNLERİN YARARLI ETKİLERİ

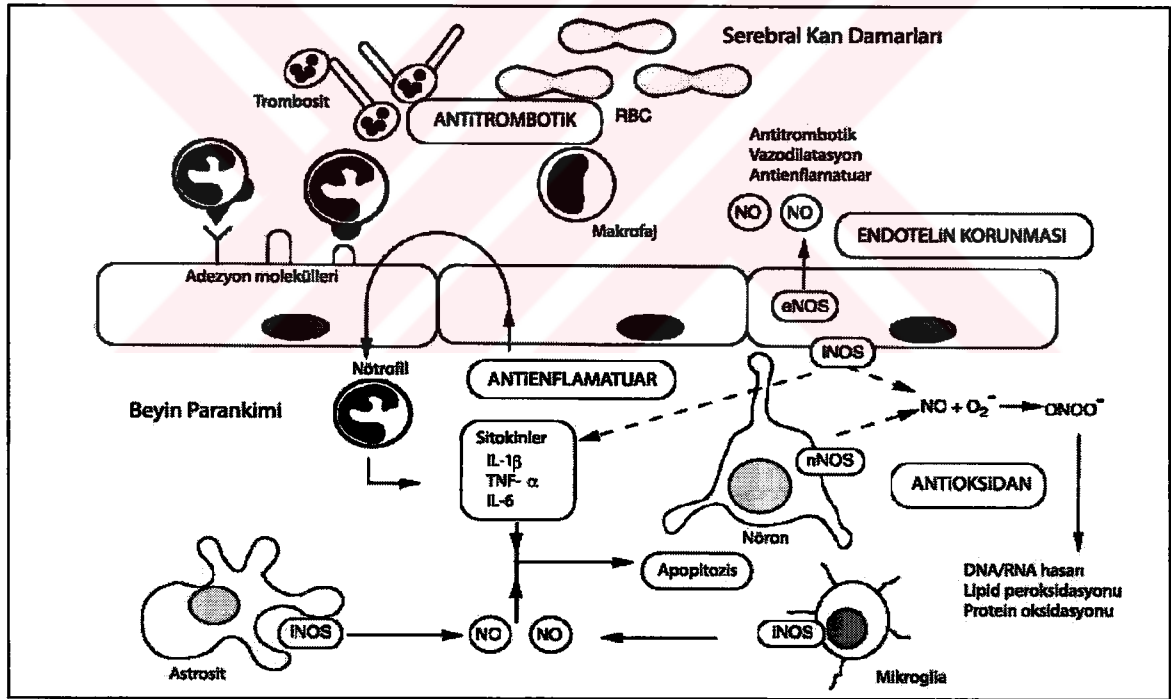
Nöroprotektif etki: statinlerin iskemik nöral dokuda iNOS u azaltıp eNOS u artırarak serebral kan akımını düzenledikleri(109, 110) ayrıca NMDA reseptör fonksiyonlarını düzenleyerek glutamatin yol açtığı eksitotoksiteyi engellediği (111) ve oksidatif stres sonrası(112) ortaya çıkan zararlı medyatörleri azaltarak nöroprotektif etki gösterdiği gösterilmiştir. Tüm bu etkilerin yanı sıra pleiotropik, antitrombotik ve antiinflamatuvar etkileri ile de santral sinir sistemi patolojilerinde oluşacak nöronal hasarı önlemektedir.

Yapılan deneysel serebral iskemi çalışmalarında atorvastatinin gelişen enfarkt hacmini azalttığı ve anlamlı bir fonksiyonel iyileşme sağladığı gösterilmiştir(113, 114, 115, 116, 117).

Statinler kan kolesterol seviyesini düşürüp, endotel fonksiyonlarını düzenleyerek hücrel immünite ve inflamasyon yanıtını azaltıp, lipoprotein oksidasyonuna engel olurlar. Tüm bunlar reoloji ve koagülasyon üzerindeki etkileri ile birlikte statinlerin pleiotropik etkileri olduğunu göstermektedir.

Endotel disfonksiyonu ateroskleroz gelişiminde hiperkolesterolemi tarafından indüklenen ilk basamaktır. Endotelin anti-aterosklerotik fonksiyonlarını düzenleyen nitrik oksittir. Hiperkolesteroleminin nitrik oksidin fizyolojik substratı olan L- Arjinini azaltarak endotel hücrelerince nitrik oksit sentezini azalttığı düşünülmektedir. Statinler ise kolesterolü düşürerek bu olumsuz etkiyi önlerken ayrıca kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarakta eNOS' un endotel hücrelerince sentezini artırarak endotel fonksiyonlarını düzenledikleri gösterilmiştir.

Statinlerin kolesterol düşürücü etkileri yanı sıra endotel fonksiyonunu düzenlemede, plak stabilizasyonunda, hücrel immünite ve inflamasyon üzerine etkili olduğu gösterilmiştir(Şekil: 4)(118).



Şekil 4: Statinlerin nöroprotektif etkileri. sahip oldukları antioksidan, anti trombotik, antiinflamatuvar ve endotel fonksiyonları düzenleyici etkileri nedeniyle serebral iskemi reperfüzyonda statinler nöroprotektif etkilere sahiptir. (nNOS, nöronal NOS; O₂⁻, süperoksit anyon; ONOO⁻, peroksinitrit; RBC, alyuvar)(118)

Nitrik oksit (NO) SSS de oldukça yoğun bulunan vasküler ve nöronal medyatördür. NO astrositlerden salınan NO sentetaz (NOS) ürünüdür. Fazla miktarlarda sitotoksik etkisi vardır ve MS lezyonlarında oldukça fazla bulunur. Uyarılabilir (inducible) formu (iNOS)

IFN-gama ve TNF-alfa gibi pro-inflamatuar sitokinlerle aktive edilirler. Lovastatin ile, fare astrositlerinde, NO üretiminin azaldığı ayrıca iNOS yansira IFN-gama ve TNF-alfa ekspresyonunu da azalttığı ve klinik olarak düzelme izlendiği gösterilmiştir (119)

Kolesterolün myelinojenez, sinaptojenez ve aksonal tamir için gerekli olduğu da göz önüne alındığında teorik olarak statinler kolesterol yapımını engelleyerek MS lezyonlarında remyelinizasyonu ve sinir hücrelerinin tamirini engellemektedir. Ancak beyinin kolesterol metabolizması vücudun geri kalanından farklı olarak işlemekte ve başta astrositler olmak üzere tüm beyin hücrelerinde beyine yetecek kadar kolesterol sentezi yapılmaktadır. Bu nedenle statinlerin sinir dokusunun yıkımını arttırdığı düşünülmemektedir (120, 121)

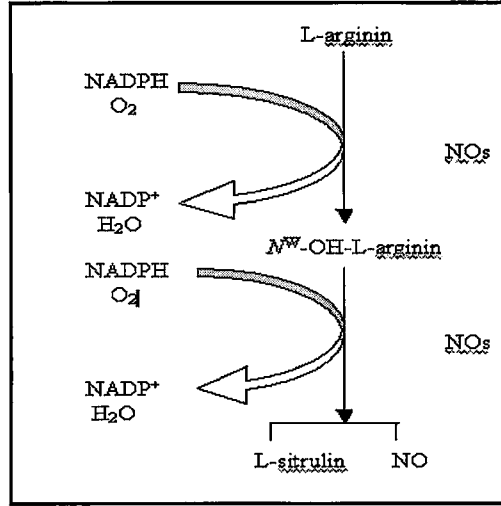
Son çalışmalar iyi bilinen lipid düşürücü ilaçlar olan statinlerin antiinflamatuvar, antitrombotik özelliklerinin de olduğunu ortaya koymuştur.

Statinlerin koroner arter hastalarında CRP, IL-6 düzeylerini önemli ölçüde düşürmesi kardiyovasküler hastalık riskini azaltma amaçlı bu ilaçların kullanımını gündeme getirmiştir. Statinlerin kolesterol düşürücü etkilerinden bağımsız olarak, inflamasyon ve trombus oluşumunu inhibe ederek klinik tedaviye büyük katkılarının olduğu ileri sürülmüştür.(122, 123)

NİTRİK OKSİT SENTEZİ,

Sentezi etkileyen faktörler ve biyolojik rolleri

Otokrin ve parakrin bir hücrel ajan olan NO, normal fizyolojik koşullar ile birçok patofizyolojik durumda homeostazın sürdürülmesinde önemli bir etkidir. İlk kez 1916 yılında memelilerde nitrik oksitin varlığı gösterilmiş, 1985’de aktive olmuş makrofajların NO saldığı bulunmuştur. Sonrasında NO sentezi için L-argininin prekürsör olduğu ve NO sentezinin inhibisyonu için L-arginin bazlı hem analoglarının kullanılabileceği gösterilmiştir. Endotel kaynaklı vazodilatör faktörün NO olduğu belirlendikten sonra bu molekülün beyin ve birçok hücre ve organ sistemlerinde üretilerek fizyolojik ve patofizyolojik olaylarda etkili olduğu ileri sürülmüştür (124).



Şekil 5: Nitrik oksid sentezi

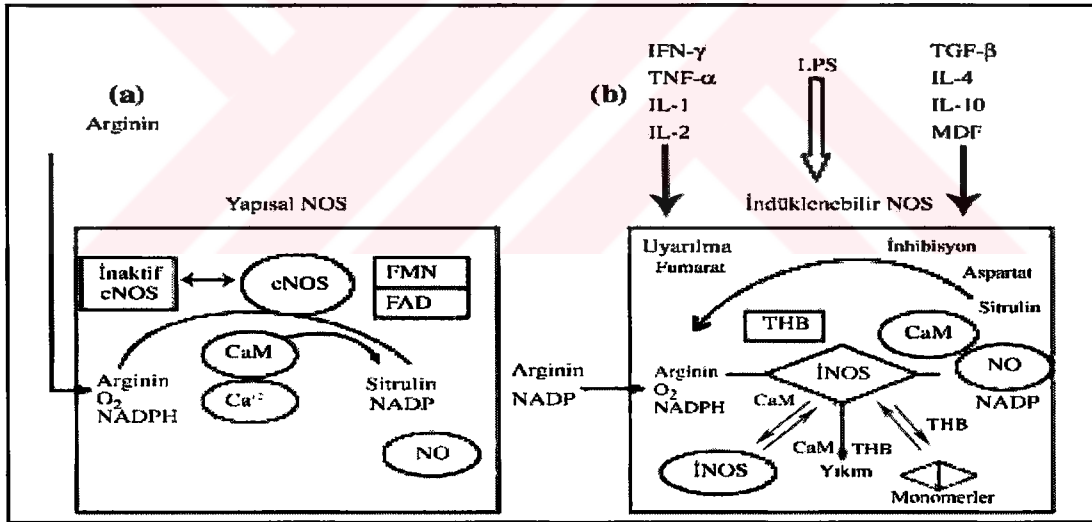
Nitrik oksit, L-argininden sitrulin oluşumu esnasında, L-argininin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile oluşan ara üründür (Şekil 5). Bu reaksiyon bir seri nitrik oksit sentaz (NOs) enzimi tarafından katalize edilir. Nitrik oksit sentaz enzimleri, yapısal nitrik oksit sentaz (cNOs) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOs) olmak üzere temel olarak iki gruba ayrılır.

Yapısal NOs (cNOs) nöronlarda bulunun nöronal nitrik oksit sentaz (nNOs) ve endotel hücrelerinde bulunan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOs)' dır. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz kardiyomyositler, hepatositler, nöronlar, mikroglial hücreler, nötrofiller vasküler endotel ve düz kas hücrelerinde bulunur. Yapısal NOs enzimleri ortamdaki kalsiyum konsantrasyonlarının artışından etkilenirken iNOs etkilenmez (125).

Nitrik oksit, suda ve yağda çözünebilen, solüsyon içinde yarılanma ömrü 30 saniye olan, nitrit ve nitrata okside olabilen renksiz ve stabil bir gazdır (124). Tiol grupları ile reaksiyona girerek gerektiği zamanlarda kullanılmak üzere depolanır (124, 126). Nitrik oksit, pankreasın asinar hücrelerinde guanozin 3,5-siklik monofosfat (cGMP) sentezini düzenler (127). Guanozin 3,5-siklik monofosfat, böbrekler ile beyinde atrial natriüretik faktör, düz kasların gevşemesi, retinada fototransdüksiyon, enterotoksinlerle ilişkili olarak ince barsağa sıvı salgılamasını etkiler (124). Arterlerde venlerden daha fazla NO üretilir (128). Nitrik oksit demir sülfür içeren ve trikarboksilik asit siklusunun enzimi olan cis-akonitaz ile gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazın tiol (-SH) gruplarına bağlanır (124). Normal fizyolojik koşullarda NO konsantrasyonları 100-500 nM düzeylerinde iken endotoksin, γ -

interferon, IL-1, TNF- α gibi ajanlarla iNOs'ın tetiklenmesi sonucunda düzeyleri yaklaşık 10 kat artar. Hastalık ve sonuçlarına bağlı olarak NO zararlı veya yararlı etkiler gösterebilir (129).

NO L-arginininden sitrulin oluşumu sırasında üretilen bir ara üründür. NO sentezi yapısal (cNOs) ve indüklenebilir (iNOs) nitrik oksit sentaz (NOs) enzimleri ile katalize edilir. Flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin adenin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (THB) kofaktörleridir. cNOs humoral, kimyasal ve mekanik olarak uyarılır ve Ca^{2+} ile kalmodüline (CaM) bağımlıdır(Şekil 6(a)). iNOs sentezi endotoksin, γ -interferon, interlökin (IL)-1, IL-2 ve tümör nekroze edici faktör- α (TNF- α) ile uyarılırken, glukokortikoidler, transforming growth faktör- β (TGF- β), makrofaj farklılaştırıcı faktör(MDF), IL-4 ve IL-10 ile inhibe edilir(Şekil 6(b)) (124).



Şekil 6: Nitrik oksit sentezi ve etkileyen etkenler.

Nitrik oksidin serbest oksijen radikalleriyle etkileşimi ve antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Aktif makrofajların mikrobisidal aktivitelerini NO aracılığı ile gösterdikleri ileri sürülmekle birlikte doğru mediatörün NO' ten üretilen nitrojen dioksit ($\cdot NO_2$) gibi ikincil bir oksidan madde olabileceği düşünülmektedir. Ortamda oksijen varsa NO' ten $\cdot NO_2$ ve iki elektronlu oksidanlar olan N_2O_3 ile N_2O_4 oluşur. Nitrik oksit süperoksiti bağladığı için serbest radikalleri temizleyen koruyucu bir faktör olduğu düşünülmektedir. Süperoksit ile NO reaksiyonunun ürünü olan

peroksinitrit (ONOO^-) ise güçlü ve yarılanma ömrü uzun bir oksidandır. Fizyolojik pH'da peroksinitrit, hidroksil radikali gibi davranan hidroksinitrit (HOONO)'e dönüşür. Peroksinitritin parçalanmasıyla yüksek konsantrasyonlarda $^{\bullet}\text{NO}_2$ oluşur (130). Bu reaktif nitrojen bileşikler lipidler DNA, tioller, amino asitler ve metallerle reaksiyona girerek enzim fonksiyonlarını bozar, membran bütünlüğüne zarar verir ve DNA mutasyonuna neden olur (129). Sonuç olarak lipid peroksidasyonu başlar (131).

Biyolojik sistemlerde NOS izoformları birçok patolojide rol oynar (Şekil 7). Üretilen yüksek konsantrasyonlardaki NO'nın zararlı etkileri üç mekanizma ile gerçekleşir. Bunlardan ilki oksijene benzer şekilde hücre içine geçer ve paylaşılmamış elektronu bulunan bir molekül olduğu için hücre içinde proteinlerin yapısında bulunan demir gibi geçiş metallerine bağlanır ve ortama serbest demir salınmasına neden olur. Otooksidasyon ile N-nitrozo bileşiklerini oluşturarak DNA'ya zarar veren N_2O_3 oluşturur. Sonrasında nitrik oksit oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek DNA, proteinler ve hücre membran lipidlerini okside eden peroksinitrit üretir (132). Sepsis gibi patolojik durumlarda mitokondride oksijen kullanımı ve DNA sentezinin değiştiği bilinmektedir (133, 134)

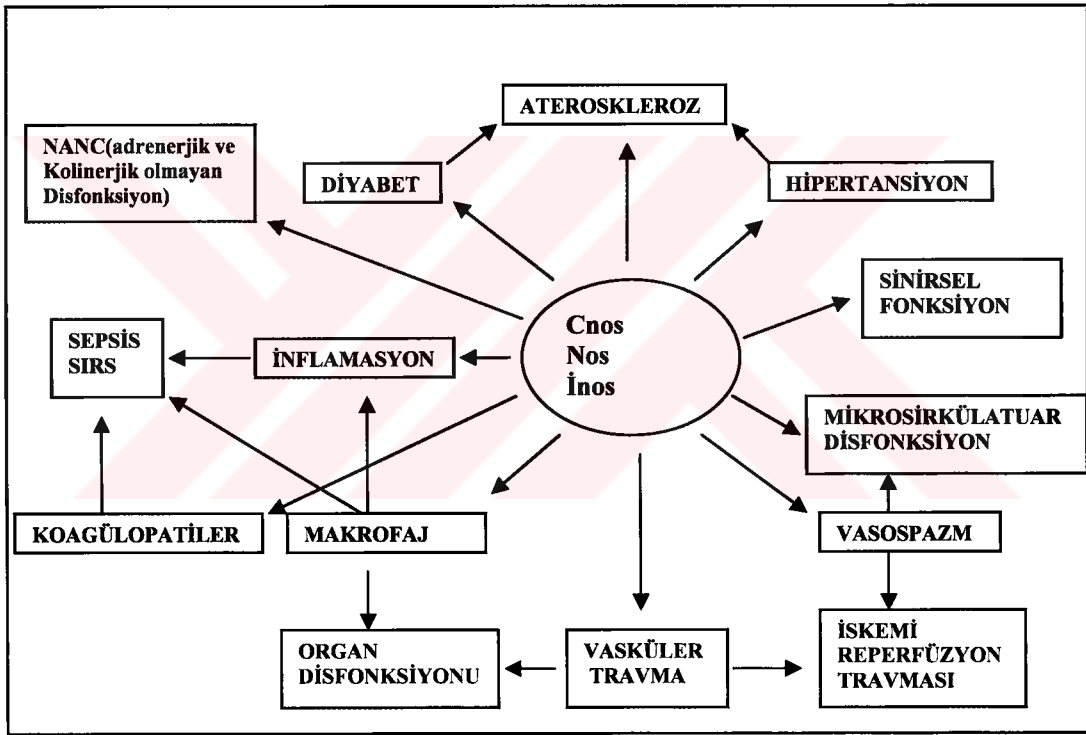
Genel olarak değerlendirildiğinde yalnızca iNOs'ın inhibe edilerek bazal düzeyde NO salınımı sağlanabilirse aşırı üretimin zararlı etkilerine karşı korunma gerçekleşebilir.

Endotel kaynaklı NO'nın damar bütünlüğünün korunması, lökositlerin endotel hücrelerine yapışması ve düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi gibi etkilerinin yanında trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe etme etkileri de vardır. (135, 136)

Sinir sisteminde major izoform olan nNOS tarafından sentez edilen ve merkezi ve periferik sinir sisteminde de aracı madde olarak görev yapan NO, nörokimyasal sistemin önemli bir parçasıdır. NO, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, sinirsel aktiviteler, serebral kan akımının koordinasyonu ve ağrının hafifletilmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonda aracı madde olarak rol alır. Ayrıca hafıza ve öğrenme fonksiyonuyla da ilgili olduğuna dair birçok delil vardır (137, 138). Bunun dışında koku alma ve görme işlevinde de rol aldığı tespit edilmiştir.

Endokrin sistem üzerine yapılan birçok çalışma, NO'nın hipotalamikpitüiter aks'ta hormon salınımını düzenlediğini göstermiştir (137, 138, 139, 140).

Düşük konsantrasyonun aksine, yüksek konsantrasyondaki NO, nörotoksik bir döngüyü başlatır (141, 142). Fokal iskemi’de, strok’ta, Alzheimer ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda, NO’nin N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptörlerini etkileyerek ortaya çıkardığı aşırı miktarda glutamat’ın hücre ölümünde etkili olduğunu gösteren kuvvetli deliller vardır. NMDA’nın aktivasyonu muhtemelen intrasellüler kalsiyumda artışa neden olmakta, bu da glutamat nörotoksitesini başlatmaktadır (143). NO, bu tip nörotoksitenin dışında, merkezi sinir sisteminde oksijen nörotoksitesi, AIDS demansındaki gibi farklı tip nörotoksitelere de kısmen aracılık edebilmektedir. (144, 145).



Şekil 7: NOS izoformları ve yer aldıkları patolojiler

Ayrıca, NO’nin myelin üreten oligodendrositlere de direkt toksik etki yaparak, merkezi sinir sisteminin inflamatuvar rahatsızlıklarında rol oynadığı söylenmektedir. NO’nin bu etkilerine karşı NOS inhibitörlerinin koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir(141, 142, 144, 145, 146).

GEREÇLER VE YÖNTEM

II. 1. DENEY GRUBU

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı deneysel araştırma ve mikrocerrahi laboratuvarında yapıldı. Toplam 30 adet, ortalama ağırlığı 2,0 ile 2,5 kg olan erkek sağlıklı yeni Zellenda türü beyaz tavşan, n=10 olacak şekilde 3 grup oluşturulmak üzere Gazi Üniversitesi deney hayvanları etik kurulundan alınan onayla denek olarak seçildi. Denekler kontrol ((K) n=10), iskemi reperfüzyon ((İ/R) n=10) ve tedavi grubu((T) n=10) olarak üç gruba ayrıldı. n = 10 denek hayvanına (tedavi grubu (T)) Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi hayvan laboratuvarında normal beslenme prosedürü dahilinde gastrik lavaj ile 14 gün boyunca 5 mg kg⁻¹/ gün atorvastatin kalsiyum(ABDİ İBRAHİM İLAÇ San ve Tic. AŞ.) verildi. Diğer deneklerde (n=20) aynı beslenme prosedürü ile aynı ortamda izlendiler. Kontrol grubu deneklere normal cerrahi prosedür uygulanırken klipaj uygulanmadı. İskemi reperfüzyon ve tedavi gruplarına cerrahi prosedür klipaj dahil uygulandı. Klipaj için 50 gr kapanma basıncı olan klipler kullanıldı(YAŞARGİL FE 693). Denekler cerrahiye takiben yaklaşık iki saat süren anesteziden uyanma periyodu sonrası normal olarak beslenmelerine izin verildi. Nörojenik mesane gelişen deneklere günde en az iki kez crede manevrası uygulanılarak mesanelerinin boşaltılması sağlandı. Mesanesi crede manevrası ile boşaltılamayan deneklere silikon lumboperitoneal shunt kateterinden hazırlanan sondalarla trans üretral boşaltma uygulandı. Deneklerin kan ve doku örnekleri cerrahi prosedürü takiben 48 saatlik takip sonrasında alındı.

II. 2. ANESTEZİ VE MONİTORİZASYON

Tüm deneklerde anestezi ketamin HCL 50 mg/ kg ve xylazin 5mg/ kg ile intramusküler olarak uygulandı. Gerekğinde doz ketamin 25 (mg/ kg) ve xylazin (5 mg/ kg) kokteyli olarak tekrarlandı. Anestezi süresince denekler solunum desteğine ihtiyaç duymadan spontan solunumda izlendiler.

II. 3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

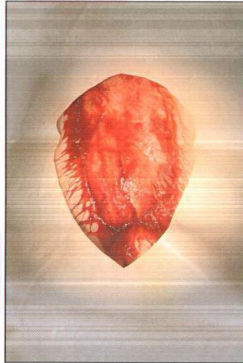
Çalışmamıza ait sonuç verileri Windows için spss istatistik programında bağımsız çift örneklem t testinde değerlendirildi. Tedavi ve kontrol grupları sonuçları arasında anlamlı farkın olmadığına yönelik kurulan **H₀** hipotezi p> 0.05' de kabul edildi.

II. 4. CERRAHİ TEKNİK

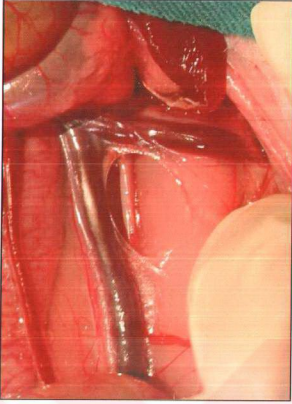
Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonda steril sahada operasyona alındı. Batın tıraş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfeksiyon steril örtüler örtülüp orta hat laparotomi yapıldı(Resim 1-2). Barsaklar sağa deviye edilip retroperitoneal bölgeye ulaşıldı. Cerrahi mikroskop altında mikrocerahi yöntemle retroperitoneal bölgeye ulaşılp abdominal aorta sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm inferiore ve bifurkasyondan yaklaşık 1 cm superiore doğru çevre dokulardan diseke edilerek çepeçevre döndüldü(Resim 3). İntravenöz uygulanan 150 U.kg^{-1} heparin ile antikoagülasyon sağlanıp kontrol grubu dışındaki gruplardaki deneklerde distale ve proksimale aortik klipaj uygulandı(Resim 4-5). Klipajı takiben 30 dakika sonra klibler alınarak laparotomi insizyonu kanama kontrolünü takiben batın kasları ve cilt olmak üzere iki kat olarak 3/0 ipek stür materyali ile kapatıldı.



Resim 1: Denekler anesteziyi takiben supin pozisyonda steril sahada operasyona alındı

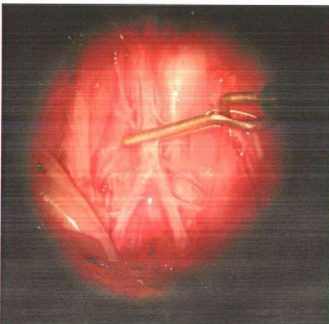
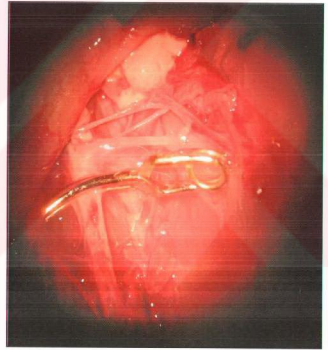


Resim 2: Batın tıraş edildikten sonra %10 povidon iyot solüsyonuyla dezenfekte edildi.

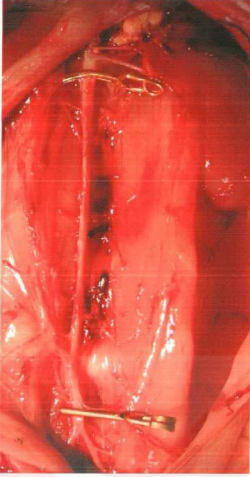


Resim 3: Cerrahi mikroskop altında mikrocerahi yöntemle abdominal aortanın sol renal arter çıkışından yaklaşık 1 cm. inferiore doğru diseke edilişi.

Resim 4: Cerrahi mikroskop altında sol renal arter çıkışı altından abdominal aortaya klipaj uygulanması



Resim 5: Cerrahi mikroskop altında bifurkasyondan hemen önce aortik klipaj uygulanması



Resim 6: Postmortem denekte aortun sol renal arter çıkışı altından ve bifurkasyon öncesinde klipajının abdominal aortanın diseksiyonu sonrasında görüntüsü

II. 5. FİZYOLOJİK PARAMETRELER

Nörolojik değerlendirme reperfüzyonu izleyen 6. 12. ve 48. saatlerde arka bacakların motor fonksiyonları, uygulanan tedaviyi bilmeyen bir araştırmacı tarafından, Tarlov kriterlerine göre(147) değerlendirildi.

TARLOV SKALASI:

0 alt ekstremité de hareket yok (tam parapleji)

1 hafif hareket

2 yardımla oturabiliyor

3 tek başına oturabiliyor

4 yürüyebiliyor ancak normal değil

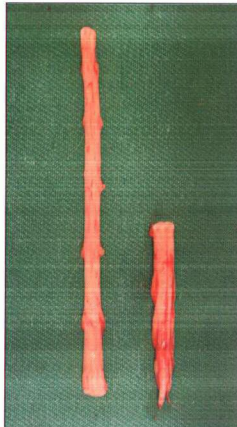
5 normal yürüyebiliyor

II. 6. DOKU VE KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Reperfüzyon sonrası 48. saatte yüksek doz tiyopental (120 mg/kg intraperitoneal) anestezisi altında öncelikle eski laparotomi insizyonu stürleri alınıp açıldıktan sonra barsaklar sağa lateralize edilip retroperitoneal yerleşimli vena kava inferiora ulaşıldı ve 10 cc. kan alındı. Alınan kan örneği diğer araştırmacı tarafından 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumu alınarak ependorflara ayrıldı ve yapılacak biyokimyasal inceleme için -70 derecede muhafaza edildi. Daha sonra prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral geniş orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adeleler laterallere sıyrıldı ve torakolomber bileşkeden itibaren sakral segmente kadar total laminektomi ile birlikte tüm posteriyör vertebral elemanlar çıkartıldıktan sonra rootlar kesilerek spinal kord aynı sınırlardan (L2-S1) kesilerek çıkartıldı(Resim 7-8).



Resim 7: Prone pozisyonuna getirilerek torakolumbosakral geniş orta hat cilt insizyonu yapıp paravertebral adalelerin laterallere sıyrılıp torakolomber bileşkeden itibaren sakral segmente kadar total laminektomi ile birlikte tüm posteriyör vertebral elemanlar çıkartıldıktan sonraki görünüm



Resim 8: Kordun lumbosakral segmentinin jilet kullanılarak L5 düzeyinden transvers olarak kesilerek iki parçaya bölünmüş görünümü

Çıkarılan kord hızla jilet kullanılarak L5 düzeyinden transvers olarak kesilerek iki parçaya bölündü. L2-L5 kord segmenti biyokimyasal inceleme için ivedilikle alimünyum folyoya sarılıp kodlandıktan sonra sıvı azot içine atıldı. L5-S1 segmenti ise sakral kısmı 5/0 ipek iplik ile bağlanmak suretiyle işaretlendikten sonra histopatolojik inceleme için %10'luk fosfat ile tamponlanmış formaldehit solüsyonuna konuldu.

II. 7. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

L5-S1 kord segmenti sakral kısımdan 5/0 ipek iplik ile bağlanarak işaretlendi ve % 10 'luk nötral formalin solüsyonuna 72 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik işlemlerden geçirilen dokular, kesitlerin L5 segmentinden alınmasına olanak sağlayacak şekilde parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alındı ve hematoksisilen-eozin ile boyandı. Boyalı kesitler Leica DM 4000B mikroskopta X4, X10, X40 ve X100'lük büyütmelemlerde incelenerek QWin analiz programıyla değerlendirildi.

Her gruba ait kesitlerde ön boynuzda bulunan randomize seçilen 10 nöron değerlendirmeye tabi tutuldu. Değerlendirmede;

Nöronlar;

Normal nöral yapı: medulla spinalis ön boynuzuna ait substansia griseada bulunan multipolar özellikte, bazofilik sitoplazmalı, Nissl cisimciklerine sahip, ökromatik çekirdekli nöronlar

Hasarlı nöron: medulla spinalis ön boynuzuna ait substansia griseada bulunan multipolar özelliğini yitirmiş, genellikle triangular şekilli, Nissl cisimciklerini kaybetmiş, eozinofilik özellikte nöronlar.

Aksonlar:

Medulla spinalis substansia ablasında yer alan, myelin kılıfla çevrelenmiş aksonlar incelendi. İskemik hasar sonucu akson yapısında meydana gelen dejenerasyon, şişme ve vakuolizasyon, şiddet ve yoğunluklarına göre derecelendirildi.

Buna göre;

G-0: normal akson yapısı.

G-1: aksonlarda orta derecede şişme ve vakuolizasyon.

G-2: aksonlarda ileri derecede şişme, dejenerasyon ve vakuolizasyon

Olmak üzere üç grupta değerlendirildi.

Astrosit ve mikrogliyal hücre infiltrasyonu hücre yoğunluğuna göre değerlendirildi. Yoğunluğun derecesi +1, +2, +3, +4 olarak gösterildi.

Son olarak tüm değerlendirme bulguları birleştirilerek spinal korddaki hasar 3 grade de değerlendirildi.

Grade 1: normal histolojik görünüm

Grade 2: orta derecede hasarlı

Grade 3: ciddi hasarlı

II. 8. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Doku Malondialdehit (MDA) Analizi:

Doku MDA düzeyleri Okhawa ve arkadaşlarının tariflediği yöntemle göre tayin edildi. Bu yöntemin ilkesi; homojenattaki proteinlerin sodyum dodesil sülfat (SDS) ile bağlanmasından sonra örnekte bulunan MDA'nın ortam pH'sı 3,5 olduğu koşullarda Tiobütirik asit (TBA) ile oluşturduğu komplekse bağlı kırmızı rengin spektrofotometrik ölçümüne dayanır (148).

MDA tayini için analiz zamanına kadar derin dondurucuda tutulan doku örnekleri %1,15 potasyum klorür (KCl) ile 1/10 (w/v) oranında homojenize edildi. Homojenattan 50 mikrolitre alınarak üzerine 50 mikrolitre %8,1 SDS eklendi. Ardından 375 mikrolitre %8 TBA, 375 mikrolitre %20 asetik asit (pH=3,5) ve 150 mikrolitre su eklendi. Elde edilen karışım 60 dakika, 95 0C'de su banyosunda kaynatıldı. Bundan hemen sonra örnekler soğutulurken üzerine 250 mikrolitre distille su ve 1,250 mikrolitre n-butanol/ piridin (15/1 v/v) eklenerek vortekslendi. Daha sonra 4000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilip 532 nm.'de köre karşı okundu.

MDA standart olarak 1,1,3,3 tetraetoksi propan kullanılarak standart grafik elde edildi ve örneklerin absorban değerlerinin nmol cinsinden MDA miktarı saptandı. Sonuçlar "nmol/gr yaş doku" cinsinden belirlendi.

Plazma MDA Analizi:

Plazma MDA düzeyleri Yoshioka ve arkadaşlarının tarifledikleri yönteme göre analiz edildi. Yöntemin temel ilkesi plazmadaki proteinlerin trikloroasetikasit (TCA) ile çöktürülmesinden sonra MDA'nın TBA ile oluşturduğu kompleksin kolorometrik olarak ölçümüne dayanır (149).

Plazma MDA tayini için örneklerden 250 mikrolitre alınarak üzerlerine 1,24 ml %20 TCA, 0,5 ml %0,67 TBA eklenerek 30 dakika sıcak su banyosunda kaynatıldı. Sonra hemen soğutulularak tüm tüplere 2 ml n-butanol eklendi ve 3000 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edildi. 532 nm'de n-butanole karşı okundu. MDA standartlarından standart grafik elde edildi ve örneklerin absorbans değerlerinin "nmol/ml" cinsinden MDA miktarı tespit edildi.

Plazma Glutasyon ölçümü:

- 1) Plastik tüplere 3000 rpm de 5 dk santrifüj edilmiş kandan elde edilen plazmadan 500 u l alındı.
- 2) Üzerine 2 katı kadar Tris/ EDTA/ SDS (NaDS) karışımı eklenip vortekslendi.
- 3) 5 dakika oda ısısında bekletildi.
- 4) 5 dakika süreyle 10.000 g de santrifüj edildi.
- 5) Süpernatantın tamamı cam tüplere alınarak üzerlerine 40 ul DTNB eklendi.
- 6) 20 dakika 37°C lik su banyosunda bekletildi.
- 7) ELİSA okuyucusunda 405 nm. de okundu.
- 8) $(\text{ahs}-0,756)/0,0136 \times 3,08 \text{ nM/RSH/mi}$ şeklinde hesaplandı.

Doku Glutasyon Ölçümü:

- 1) Plastik tüplere 0,3- 0,35 gr. doku alındı.
- 2) Üzerine doku ağırlığının 9 katı kadar %10'luk TCA eklendi.
- 3) Dokular homojenize edildi.
- 4) 15 dakika süreyle 18°C'de 3.000 g de santrifüj edildi.
- 5) Süpernatant alınarak 8 dakika daha 18°C'de 3.000 g de santrifüj edildi

- 6)Cam tüplere 100 ul 0,3 M Na₂HPÖ₄ eklendi.
- 7)Üzerine 125 ul DTNB eklenerek vortekslendi.
- 8) 250 ul süpernatant eklenerek tekrar vortekslendi.
- 9) Oda ısısında 5-10 dakika beklenerek platelendi.
- 10) ELİSA okuyucusunda 405 nm.de okundu.
- 11) $\text{abs} \times 4,23 / \text{doku ağırlığı}$ olarak hesaplandı(150).

Doku Nitrit- Nitrat (NO) ölçümü:

- 1) Doku homejenizatları hazırlanıp ağırlığı oranında 5 kat PBS solüsyonuyla muamele edildi.
- 2) Homejenizat 14.000 rpm de 4°C' de 5dk santrifüj edildi
- 3) 250µl 0.3 N NaOH 500µl süpernatanta eklenip oda ısısında 5dk inkübasyona bırakıldı.
- 4) 250 µl %10 ZnSO₄ ile elde edilen çözeltiye eklenip vortekslendi.
- 5) 300 rcf' de 4°C de 5 dk santrifüj edildi.
- 6) Elde edilen süpernatanttdan 500 µl alınıp 1400 rpm' de 4°C de 5 dk santrifüj edildi.
- 7) Nitrik oksid için 1ünite süpernatant 0.5 ünite sulfanilamid, 0.5 ünite NEDD ile karıştırılıp spektrometrik olarak 37 °C de 30 dk sonra 540-550 nm.de okundu.(ideal volüm 100 µl)
- 8) Nitrit için 1 ünite süpernatant 0.5 ünite sülfanilamid 0,5 ünite NEDD(N-(1-naphthyl) etilendiamid dihidroklorid) ile karıştırılıp 37 °C de 30 dk sonra 540-550 nm de okundu (ideal volüm 100 µl) (151).
- 9) Nitrit ve nitratın toplamının NO miktarını verdiği varsayılarak nitrat miktarı hesaplandı

Plazma Nitrit- Nitrat (NO) Ölçümü:

- 1) Bir ünite plazma 2 ünite %97' lik etil alkol ile karıştırılıp 4°C 'de 30 dk bekletildi.
- 2) Elde edilen 14000 rpm de 5 dk santrifüj edildi.
- 3) Nitrik oksid için 1ünite süpernatant 0.5 ünite sulfanilamid, 1 ünite $VaCl_2$ ve 0.5 ünite NEDD ile karıştırılıp spektrometrik olarak 37 °C de 30 dk sonra 540-550 nm.de okundu.(ideal volüm 100 μ l)
- 4) Nitrit ve nitratın toplamının NO miktarını verdiği varsayılarak nitrat miktarı hesaplandı.
- 5) Nitrit için 1 ünite süpernatant 0.5 ünite sülfanilamid 0,5 ünite NEDD ile karıştırılıp 37 °C' de 30 dk sonra 540- 550 nm de okundu (ideal volüm 100 μ l) (151).

BULGULAR

III. 1. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Tablo 1: Histopatolojik değerlendirme

Grup No	KONTROL GRUBU			İ-R GRUBU			TEDAVİ GRUBU		
	Hasarlı Nöron	Hasarlı akson	A-M Hücre infilt	Hasarlı Nöron	Hasarlı akson	A-M Hücre infilt	Hasarlı Nöron	Hasarlı akson	A-M Hücre infilt
1	0/10	G-0	+	8/10	G-2	+++	3/10	G-0	+
2	0/10	G-0	+	9/10	G-2	++++	3/10	G-0	+
3	0/10	G-0	+	9/10	G-2	++++	5/10	G-1	++
4	0/10	G-0	+	7/10	G-2	+++	4/10	G-0	+
5	0/10	G-0	+	9/10	G-2	++++	6/10	G-1	++
6	0/10	G-0	+	8/10	G-2	+++	6/10	G-1	++
7	0/10	G-0	+	9/10	G-2	++++	7/10	G-1	++
8	0/10	G-0	+	8/10	G-2	+++	5/10	G-1	++
9	0/10	G-0	+	8/10	G-2	+++	3/10	G-0	+
10	0/10	G-0	+	9/10	G-2	++++	3/10	G-0	+

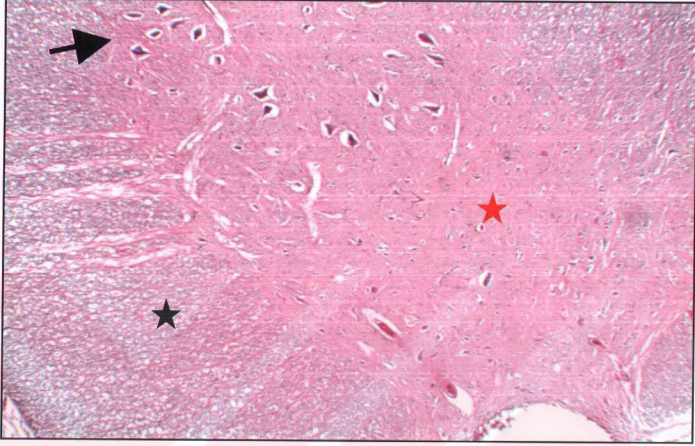
Spinal kord L5 segmentlerinden alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandıktan sonra X4, X10, X40 ve X100' lük büyütmelemlerde incelendi. Kontrol grubu deneklerinden alınan örneklerde normal nöronal ve aksonal yapı izlenirken astrosit-mikroglial hücre (A-M) infiltrasyonunun da patolojik düzeyde olmadığı izlendi ve Grade 1 olarak değerlendirildi (Resim 9,10,11: Grafik 1-4).

İ/R grubuna ait örneklerde rasgele seçilen 10 ön boynuz motor nöronun ortalama %84' ünün hasarlı olduğu, aksonların ciddi dejenerasyon ve vakuolizasyon içerdiği ve astrosit-mikroglial hücre infiltrasyonunun ise son derece yoğun olduğu (+3, +4) izlendi ve bu grup Grade 3 olarak değerlendirildi (Resim 12,13,14: Grafik 1-4).

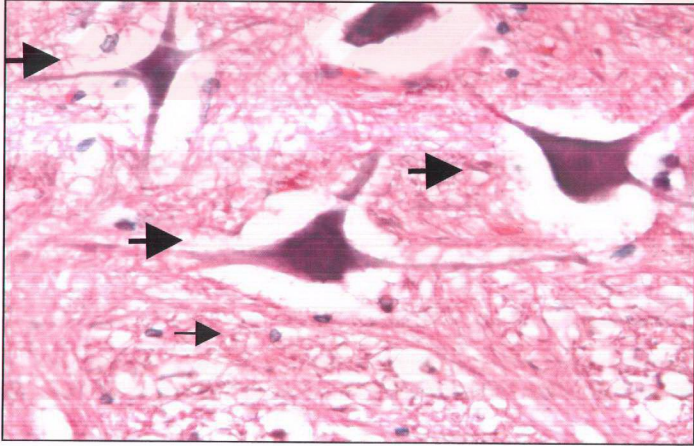
Tedavi grubunda ise ön boynuz motor nöronlarının ortalama %45' inin hasarlı olduğu, aksonlarda genel olarak orta derecede şişme dışında ciddi vakuolizasyon içermediği ve astrosit-mikroglial hücre infiltrasyonunun ise birkaç hücreyle sınırlı olduğu (+1,+2) izlendi. Tedavi grubu histopatolojik inceleme sonucu olarak Grade 2 olarak değerlendirildi (Resim 15,16,17: Grafik 1-4).

Gruplar arasında ki hasarlı nöron, hasarlı akson ve astrosit-mikroglial hücre hücre infiltrasyonu nümerik değerleri birbirinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p < 0.05$).

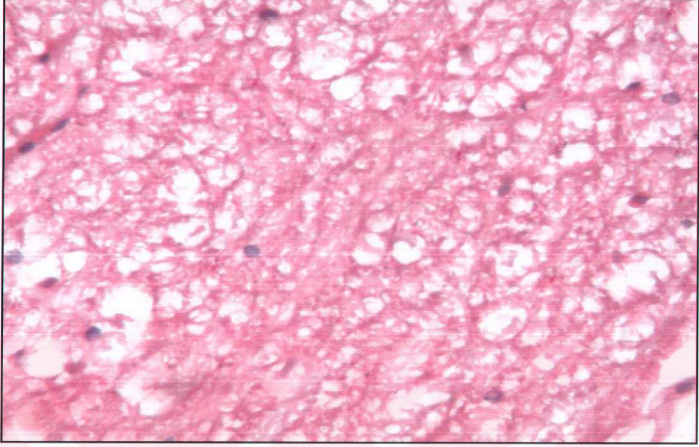
KONTROL GRUBU



Resim 9: Medulla spinalis ön boynuzunda bulunan multipolar özellikte motor nöronlar(kalın ok), normal yapıda gri(kırmızı yıldız) ve beyaz (siyah yıldız) cevher görünümü. (H-E x 4 büyütme)

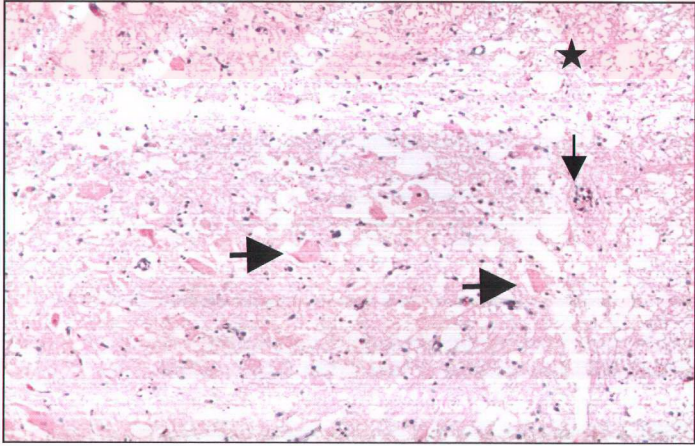


Resim 10: Gri cevher ön boynuzda multipolar özellikte bazofilik sitoplazmalı Nissl cisimcikleri ve ökromatik özellikte çekirdek içeren nöronlar(kalın ok) ve az sayıdaki A-M hücre infiltrasyonu (ince ok). (H-E x 40 büyütme)

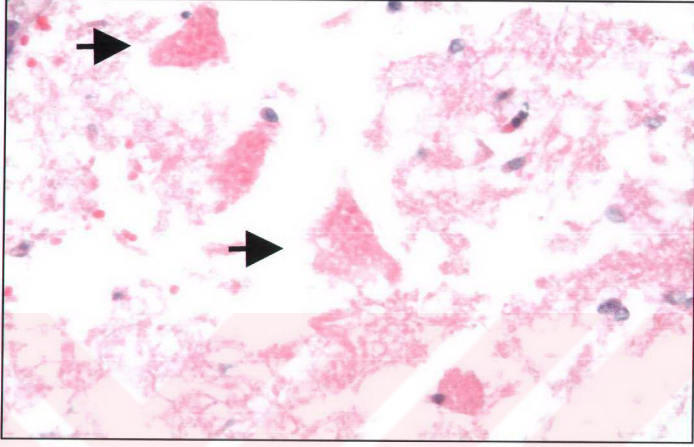


Resim 11: Normal görünümde beyaz cevher. (H-E x 40 büyüme)

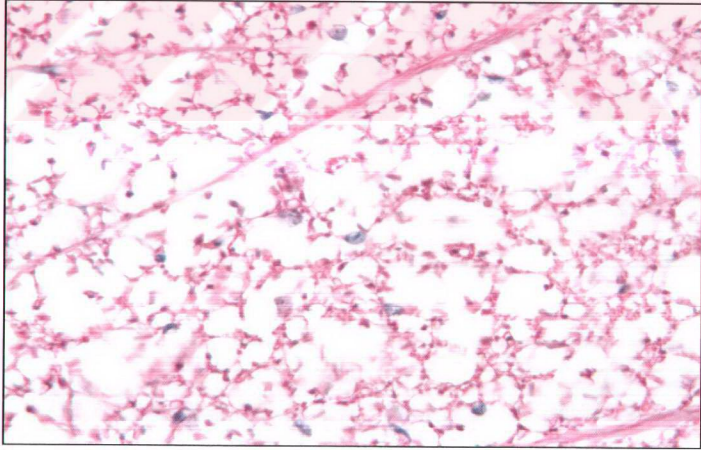
İ/R GRUBU



Resim 12: Multipolar özelliğini tamamen yitirmiş genellikle triangüler görünümde eozinofilik sitoplazmalı çekirdeklerini yitirmiş motor nöronlar(kalın ok) ve ileri derecede dejenere beyaz cevher(siyah yıldız) ve çok sayıda A-M hücre infiltrasyonu(ince ok) .

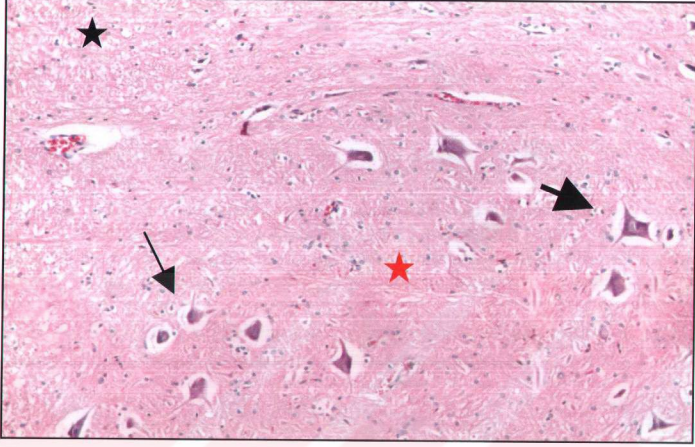


Resim 13: Gri cevherde triangler görünümde, çekirdeklerini yitirmiş, eozinofilik sitoplazmalı, Nissl cisimciklerini kaybetmiş hasarlı nöronlar(kalın ok) .(H-E x 40 büyütme)

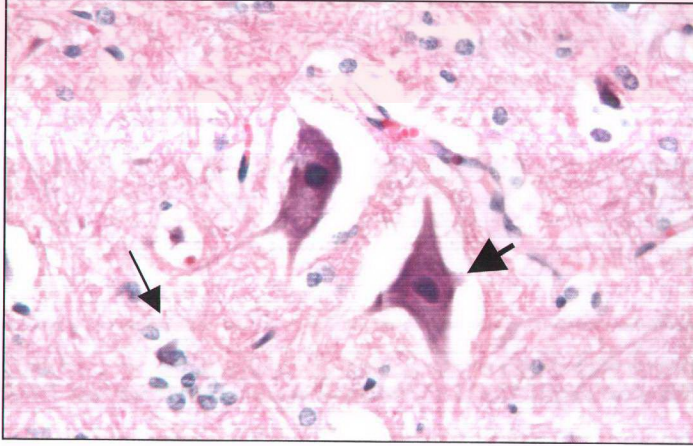


Resim 14: İleri derecede dejenerasyon şişme ve vakuolizasyon içeren aksonların izlendiği beyaz cevher.(H-E x 40 büyütme)

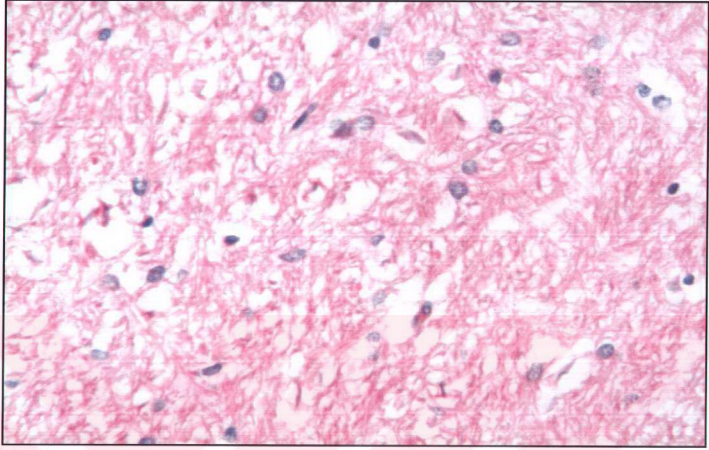
TEDAVİ GRUBU



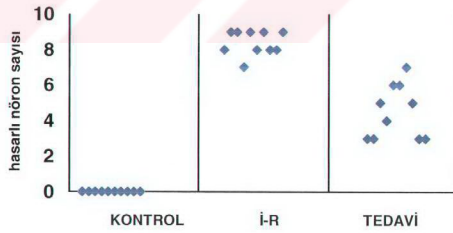
Resim 15: Medulla spinalis ön boynuzunda bulunan multipolar özellikte (kalın ok), nadiren triangular görünümde (ince ok) motor nöronlar ve bir miktar A-M hücre infiltrasyonu izlenen beyaz (siyah yıldız) ve gri (kırmızı yıldız) cevher. (H-E x 10 büyütme)



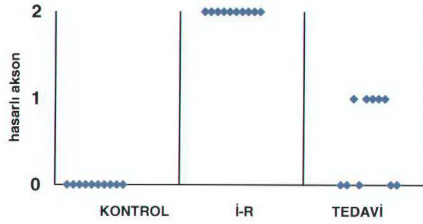
Resim 16: Gri cevher ön boynuzda multipolar özellikte bazofilik sitoplazmalı, Nissl cisimcikleri ve ökromatik özellikte çekirdek içeren nöronlar (kalın ok) ve bir miktar A-M hücre infiltrasyonu (ince ok). (H-E x 40 büyütme)



Resim 17: Glial infiltrasyon içeren büyük oranda korunmuş orta derecede ödem ve vakuolizasyon içeren beyaz cevher (H-E x 40 büyütme)



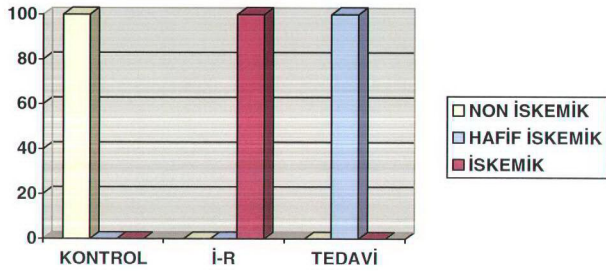
Grafik 1: Gruplara göre saptanan hasarlı nöron sayılarının dağılımı



Grafik 2: Saptanan hasarlı akson grade' lerinin gruplara göre dağılımı



Grafik 3: Saptanan A-M hücre infiltrasyon derecelendirmesinin gruplara göre dağılımı



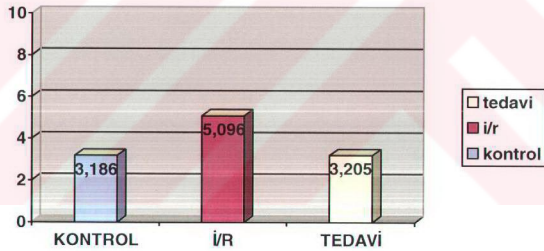
Grafik 4: Histolojik değerlendirme skorlaması sonucunda gruplara göre iskemik hasarın şiddeti

III.2. BİYOKİMYASAL ANALİZ SONUÇLARI

III. 2 .1. MDA DOKU

Tablo 2: Doku MDA analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler.

MDA DOKU(nmol/gr)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	3,58	6,02	3,05
	3,68	5,18	2,69
	2,82	5,52	2,82
	2,30	4,10	3,43
	2,43	4,99	3,58
	3,02	4,71	3,84
	3,97	5,56	2,84
	3,84	5,89	2,94
	2,56	3,33	3,20
	3,66	5,66	3,66
ORTALAMA	3,186	5,096	3,205



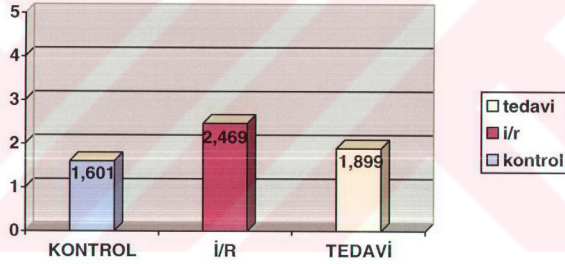
Grafik 5: Ortalama doku MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/gr)

Doku MDA düzeyleri değerlendirilmesinde kontrol grubu ortalama MDA düzeyi 3,186, İ/R grubu 5,096 ve tedavi grubu ortalama MDA değeri ise 3,205 olarak bulundu (Tablo 2: Grafik 5). İ/R grubundaki anlamlı MDA yüksekliği spinal kordun İ/R hasarından olumsuz olarak etkilendiğini göstermektedir ($p < 0.05$). Tedavi grubu ortalama MDA değeri istatistiksel olarak İ/R grubununkinden anlamlı düzeyde düşük iken kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği bulundu. Bu sonuç atorvastatinin spinal kord İ/R hasarından koruduğunu göstermektedir.

III. 2. 2. MDA PLAZMA

Tablo 3: Plazma MDA analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

MDA PLAZMA(nmol/ml)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	1,08	2,75	2,28
	1,08	3,07	2,49
	1,96	1,82	1,25
	1,13	2,46	1,25
	2,05	2,11	2,28
	2,25	2,59	1,65
	1,06	2,48	2,09
	1,94	3,09	2,02
	1,92	2,17	1,56
	1,54	2,15	2,12
ORTALAMA	1,601	2,469	1,899



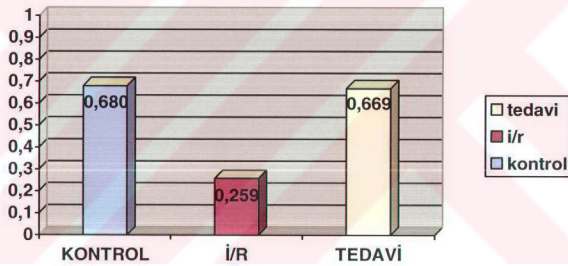
Grafik 6: Ortalama plazma MDA değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml)

Plazma MDA düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama plazma MDA düzeyi 1,601, İ/R grubu 2,469 ve tedavi grubu ortalama plazma MDA değeri ise 1,899 olarak bulundu(Tablo 3: Grafik 6). İ/R grubundaki anlamlı plazma MDA yüksekliği infrarenal aortik kros klembing sonrası alt ekstremitelere ve diğer dokularda bir miktar İ/R hasarının gerçekleştiğini göstermektedir. Tedavi grubu ortalama plazma MDA değeri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde İ/R grubununkinden farklı iken kontrol grubu ile benzer olduğu bulundu. Bu sonuç atorvastatinin, infrarenal aortik oklüzyonda gerçekleşen büyük oranda alt ekstremitelere ait olan İ/R hasarından koruduğunu göstermektedir.

III. 2. 3. GLUTATYON DOKU

Tablo 4: Doku glutatyon analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

GLUTATYON DOKU(nmol/gr)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	0,78	0,32	0,59
	0,77	0,23	0,76
	0,68	0,28	0,87
	0,72	0,30	0,69
	0,63	0,19	0,59
	0,64	0,20	0,56
	0,62	0,19	0,61
	0,63	0,29	0,62
	0,64	0,31	0,78
	0,69	0,28	0,62
ORTALAMA	0,680	0,259	0,669



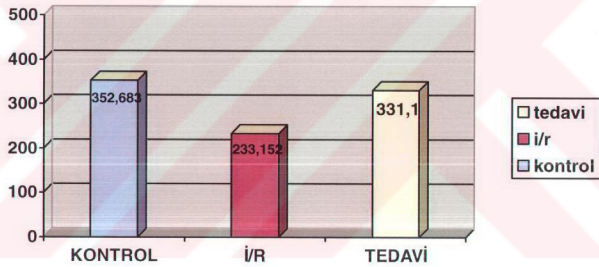
Grafik 7: Ortalama doku glutatyon değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/gr)

Doku GSH düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama doku GSH düzeyi 0,680, İ/R grubu 0,259 ve tedavi grubu ortalama doku GSH değeri ise 0,669 olarak bulundu(Tablo 4: Grafik 7). Bir antioksidan olarak görev yapan ve iskemi reperfüzyon hasarında düzeyi düşmesi beklenen GSH' nın, İ/R grubundaki anlamlı düşüklüğü spinal kordun İ/R hasarından olumsuz olarak etkilendiğini göstermektedir. Tedavi grubu ortalama doku GSH değeri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde İ/R grubu değerlerinden farklı iken kontrol grubu değerlerine benzer olduğu bulundu. Bu sonuç atorvastatinin spinal kordu İ/R hasarından koruduğunu göstermektedir.

III. 2. 4. GLUTATYON PLAZMA

Tablo 5: Plazma glutatyon analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

GLUTATYON PLAZMA(nmol/ml)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	302,79	199,29	335,18
	355,56	236,89	260,44
	348,54	283,54	318,64
	394,51	238,25	344,34
	264,74	226,92	263,84
	409,91	268,82	365,52
	304,38	207,1	241,42
	319,55	255,81	435,73
	401,31	193,86	376,39
	425,54	221,04	369,5
ORTALAMA	352,683	233,152	331,1



Grafik 8: Ortalama plazma glutatyon değerlerinin gruplara göre dağılımı(nmol/ml)

Plazma GSH düzeyleri değerlendirmesinde kontrol grubu ortalama plazma GSH düzeyi 352,683, İ/R grubu 233,152 ve tedavi grubu ortalama plazma GSH değeri ise 331,1 olarak bulundu(Tablo 5: Grafik 8). İ/R grubundaki anlamlı GSH düşüklüğü infrarenal aortik kros klempleme sonrası alt ekstremitte ve diğer dokularda da bir miktar İ/R hasarının gerçekleştiğini göstermektedir. Tedavi grubu ortalama plazma GSH değeri, istatistiksel olarak anlamlı düzeyde İ/R grubu değerlerinden farklı, kontrol grubu değerlerine ise benzer olarak bulundu. Bu sonuç atorvastatinin, infrarenal aortik oklüziyonda gerçekleşen ve büyük oranda alt ekstremitteye ait olduğunu düşündüğümüz İ/R hasarından sistemik olarakta koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir.

III. 2. 5. a. NİTRAT DOKU

Tablo 6: Doku nitrat analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

Nitrat doku(nmol/mgr)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	57,723	85,029	50,591
	50,23	97,347	85,248
	60,21	65,386	48,627
	62,22	93,183	61,738
	59,706	94,197	71,643
	52,545	66,924	50,961
	60,672	88,347	71,24
	42,702	84,002	87,263
	64,12	80,904	66,292
	34,218	72,453	77,038
ORTALAMA	54,4346	82,7808	67,0271

III. 2. 5. b. NİTRİT DOKU

Tablo 7: Doku nitrit analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

Nitrit doku(nmol/mgr)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	26,952	31,8	13,788
	13,692	25,572	18,456
	19,959	38,648	21,923
	28,782	34,698	19,83
	11,979	32,967	23,31
	24,912	30,108	11,877
	18,594	31,734	25,02
	15,09	27,993	11,838
	13,014	25,509	17,692
	16,838	31,518	18,014
ORTALAMA	18,9812	31,0547	18,1748

III. 2. 6. a. NİTRAT PLAZMA

Tablo 8: Plazma nitrat analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

Nitrat plazma(nmol/ml)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	119,475	252,657	37,746
	112,608	281,58	64,651
	153,36	245,064	36,594
	114,111	186,593	44,736
	74,484	196,301	54,777
	94,755	249,58	66,561
	98,756	225,698	85,746
	122,256	290,547	64,75
	127,365	285,068	95,25
	112,56	294,302	85,849
ORTALAMA	112,973	250,739	63,666

III. 2. 6. b. NİTRİT PLAZMA

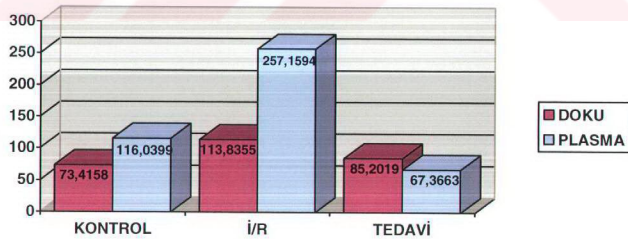
Tablo 9: Plazma nitrit analiz sonuçları ve gruplara göre ortalama değerler

Nitrit plazma(nmol/ml)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
	2,893	6,22	3,981
	2,829	6,565	3,233
	3,648	8,663	4,407
	2,01	5,874	4,119
	3,84	6,36	4,689
	3,109	6,48	4,974
	3,48	6,21	3,93
	2,919	5,49	5,11
	2,919	6,456	3,192
	3,75	5,886	4,342
ORTALAMA	3,0669	6,4204	3,7003

NO (NİTRİT+ NİTRAT)

Tablo 10: Doku ve plazma toplam nitrit ve nitratının (NO) analiz sonuçları ortalama değerlerinin gruplara göre dağılımı

NO(NİTRİT+NİTRAT)	KONTROL	İ/R	TEDAVİ
DOKU(nmol/ mgr)	73,4158	113,8355	85,2019
PLAZMA(nmol/ ml)	116,0399	257,1594	67,3663



Grafik 9: Ortalama doku ve plazma toplam nitrit ve nitratının (NO) gruplara göre dağılımı

Plazma ve doku nitrit-nitrat düzeylerinin her denek için toplam değerleri alınarak toplam doku ve plazma NO düzeyleri değerlendirildi. Travma ve iskemi reperfüzyon hasarlarında düzeyinin artması beklenen NO' nun kontrol grubu doku ortalama değeri

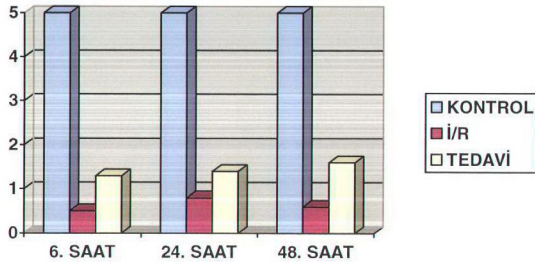
73,4158, İ/R grubu ortalama doku değeri 13,8355 ve tedavi grubu ortalama doku değeri ise 85,2019 olarak bulundu(Tablo 6,7). Doku NO değerleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol ve tedavi gruplarının anlamlı düzeyde benzer oldukları görüldü. NO için plazma düzeyleri ise kontrol grubunda 116,0399, İ/R grubunda 257,1594 ve tedavi grubunda 67,3663 olarak bulundu(Tablo 8,9). Tedavi grubundaki plazma NO değerinin kontrol grubu NO değerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu bulundu(Tablo 10: Grafik 9)($p < 0.05$).

NO' nun doku değerleri ele alındığında, atorvastatinin doku düzeyinde spinal kord iskemisi reperfüzyon hasarından koruduğu söylenebilir.

III. 3. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRME (TARLOV SKALASI)

Tablo 11: 6, 12, 48. saatlerde sahip oldukları Tarlov skoruna göre toplam denek sayılarının gruplara göre dağılımı.

TARLOV	KONTROL			İ/R			TEDAVİ		
	6	24	48	6	24	48	6	24	48
0				6	4	5	3	2	2
1				3	4	4	3	3	2
2				1	2	1	2	4	4
3							2	1	2
4									
5	10	10	10						
ORTALAMA	5	5	5	0.5	0.8	0.6	1.3	1.4	1.6



Grafik 10: 6, 24 ve 48. saatlerdeki ortalama Tarlov skoru değerlerinin gruplara göre dağılımı

Nörolojik değerlendirmede operasyon sonrası 6, 24 ve 48. saatlerde kontrol grubu deneklerin tamamı normal nörolojik muayene bulgularına sahipti(Tarlov 5). 6, 24 ve 48. saatlerde İ/R grubu deneklerinin ortalama Tarlov skorları sırasıyla 0.5, 0.8 ve 0.6 iken tedavi grubu deneklerinin ise 1.3, 1.4 ve 1.6 idi. Tedavi grubunda İ/R grubuna göre, takip eden saatlerde, nörolojik anlamda kısmen iyileşme tespit edildi (Tablo 11, Grafik 10).



TARTIŞMA VE SONUÇ

İskemi, kan akımının, hücresel fonksiyonları karşılamak için gerekli olan düzeyin altında olması durumudur. Aerobik koşullarda yaşayan biyolojik organizmalar, temel yaşam kaynakları olan oksijen ve metabolik substratlar ortamda bulunmadığı zaman canlılıklarını belirli bir süre devam ettirebilmektedirler. Santral sinir sistemi vücutta, kısıtlı anaerobik metabolizması ve glikojen depoları nedeniyle iskemiyeye en duyarlı dokulardan biridir. İskemi sırasında hücresel enerji depolarının tükenmesi iskemik kaskat olarak bilinen olaylar zincirini başlatmaktadır. Enerji eksikliği ile devreye giren iskemik kaskat bir dizi sekonder olayı tetiklerse de iskeminin gidişini etkileyen pek çok faktör nedeniyle hücre ölümü kaçınılmaz sonuç değildir. İskemi sonucunu belirleyen en önemli iki faktör; iskeminin derinliği ve süresidir(35). İskemik dokunun reperfüzyonu ise, bir yandan iskemiyeye sırasında kaybolan bazı fonksiyonların geri gelmesini sağlarken diğer yandan, ani ve fazla miktarda oksijen ve dolaşımdaki kan elemanları, iskemik hasara uğramış dokularda, özellikle serbest oksijen radikallerinin oluşması yolu ile ileri hasara yol açmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon, bazı yazarlarca “iki ucu keskin bıçak” şeklinde tanımlanmıştır. (8, 9, 10).

Çalışmamızda, spinal kord iskemisi tavşanda infrarenal aortik oklüzyon yöntemiyle gerçekleştirildi. Bu deney modeli spinal kord iskemisi hasarı meydana getirmede sıkça kullanılan bir modeldir(152, 153, 154). Tavşanlarda spinal kord kan akımı segmentaldir ve segmentler arasındaki kollateral dolaşım dolayısıyla kan akımının zayıftır. Klipaj renal arter distalinden uygulandığında böbrekler ve barsaklar da iskemiden korunmakta ve nörolojik hasar haricindeki komplikasyonlar engellenmiş olmaktadır. Çoğunlukla oklüzyon süresi, histopatolojik hasar ve klinik fonksiyonlar arasında anlamlı bir bağlantı mevcuttur. Bu da nöroprotektif olduğu sanılan farmakolojik ajanları değerlendirmede tavşanı, güvenilir bir model yapmaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı söz konusu spinal iskemiyeye reperfüzyon modeli için tavşan denek olarak seçildi.

Deneyisel çalışmalarda başlangıçta, güvenli aortik oklüzyon süresi 10–15 dakika olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışmalar aortik oklüzyon süresi ve nörolojik hasar sıklığı arasında direkt ve yüksek bir korelasyon olduğunu ortaya çıkartmıştır. 25 dakikaya kadar olan aortik oklüzyon sürelerinde alt ekstremitelerde nörolojik hasar gelişme ihtimali daha

düşükken 25 dakikadan sonra ek koruyucu önlemlerin yokluğu halinde parapleji veya paraparezi gelişme olasılığı lineer olarak artar (155).

Atorvastatin, HMG-KoA redüktaz inhibitörü olan bir statindir. HMG-KoA redüktaz, HMG-KoA' nın mevalonata dönüşümünü katalize eder ve kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı bir enzim olarak görev alır. Statinler serum kolesterol düzeyini ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) düzeyini diğer lipid düşürücü ilaçlara oranla daha etkin azaltır ve yan etkileri daha azdır. Bu nedenle hiperkolesteroleminin tedavisinde tercih edilen ilaçlardır (156, 157).

Bugün klinik kullanımda olan beş statin bulunmaktadır (lovastatin, simvastatin, fluvastatin, pravastatin, atorvastatin). Atorvastatin klinikte 10–20–40–80 mg/gün dozlarda oral olarak kullanılmaktadır (158,156,159).

Atorvastatin oral alımı takiben hızlı absorbe olur, maksimum plazma konsantrasyonlarına 1 ile 2 saat arasında çıkar. Emilimin derecesi ve plazma konsantrasyonları, dozuyla orantılı olarak artar. Plazma proteinlerine %98 oranında bağlanır. Büyük oranda karaciğerde sitokrom P450 (CYP) enzimi ile metabolize olur. Hepatik ve/veya ekstrahepatik metabolizmayı takip ederek öncelikle safrada elimine edilir. Bununla birlikte, ilacın anlamlı enterohepatik resirkülasyona uğramadığı düşünülmektedir. Atorvastatinin ortalama plazma yarı-ömrü insanlarda yaklaşık 14 saattir. Oral uygulanan Atorvastatin dozunun %2'sinden daha az kısmı idrarla atılmaktadır (160,159).

Statinler genel olarak iyi tolere edilebilen ilaçlardır. Bu ilaçların yan etkileri nadir olup, çok az sıklıkla ilaç kesilmesini gerektirmektedir. Kullanımda görülen en sık yan etkiler, karın ağrısı, mide bulantısı ve dispepsi gibi gastrointestinal rahatsızlıklar ve baş ağrısıdır. En önemli yan etkileri arasında ise myopati, rabdomyoliz ve hepatotoksitite bulunmaktadır. İlaç kesilmesiyle bu yan etkiler düzelmektedir. Statin tedavisi ile myopati % 0.1, rabdomyoliz ise % 0.04–0.2 oranında görülür. Bu yan etkiler statinlerin yüksek dozlarıyla ilişkilidir. Myopati ve rabdomyoliz oluşum riski eş zamanlı gemfibrozil, niasin ve klofibrat kullanımıyla artmaktadır. Statin tedavisi sırasında %1 oranında transaminaz artışı görülebilir. İlacın kesilmesiyle bu yan etkiler geri dönüşlüdür (158,161,162).

Statinlerin, kolesterol düşürücü etkileri ve bu etkilerinden bağımsız olarak ortaya çıkan etkileri son yıllarda önem kazanmıştır. Son çalışmalarda antioksidan, antiinflamatuvar,

pleotropik, antiaterosklerotik ve antitrombotik etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur (163,164,165,166,167,168).

Statinlerin vasküler sistem üzerine bir başka önemli etkinliği ise antioksidan özelliğidir. Bu etkilerini gerek düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu engellemek suretiyle gerekse de nitrik oksidin (NO) serbest oksijen radikalleri tarafından yıkımını engellemek suretiyle endotel disfonksiyonu üzerine iyileştirici etki gösterirler (169). Franzoni ve arkadaşlarının (170) yaptığı invitro çalışmada statinlerin antioksidan etkinlikleri kanıtlanmıştır. Amin-Hanjani ve arkadaşlarının (171) yaptığı diğer bir serebral iskemi çalışmasında mevastatinin eNOS miktarını arttırdığı ve antioksidan etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Ungureanu ve arkadaşları da (81) hiperkolesterolemik hastalarda yaptıkları bir klinik çalışmada, 8 ay boyunca 10/mg/gün dozunda verilen simvastatinin SOD, GPx ve katalaz düzeylerini arttırdığını yani belirgin antioksidan etkinlik gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Statinlerin pleotropik etkileri HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinden L-mevalonatın metabolik yolu ile açıklanmaya çalışılmış ve pleotropik etkilerinin kolesterol seviyelerini düşürücü, endotel fonksiyonları düzenleyici, plak stabilizasyonu sağlayıcı, hücrel immünite ve inflamatuvar yanıtı azaltıcı, lipoprotein oksidasyonunu engelleyici ve koagülasyonu azaltıcı etkileri ile gerçekteştiği gösterilmiştir(172).

Ayrıca Shishehbor ve arkadaşları yaptıkları klinik çalışmada hiperkolesterolemik hastalara 12 hafta boyunca 10 mg/gün atorvastatin verilmişler, sonuçta atorvastatinin lipid düşürücü etkisinden bağımsız olarak NO bağımlı oksidanları azalttığı ve MPO(Myelo peroksidaz) etkinliğini düşürdüğünü göstermişler ve statinlerin pleotropik etkilerini söz konusu mekanizmalar üzerinden açıklamaya çalışmışlardır(173).

Statinlerin bir diğer etkileri de antitrombotik etkileridir. Bu etkilerin büyük kısmı yukarıda belirtildiği gibi eNOS' dan kaynaklanmaktadır. Bir çalışmada, statinlerin insan düz kas ve endotel hücrelerinde plazminojen aktivatör inhibitörlerinin (tPAİ I) seviyelerini düşürdüğü ve doku plazminojen aktivatörünün ekspresyonunu arttırdığı, dolayısıyla fibrinolitik etkisinin olduğu gösterilmiştir (166). Laufs ve arkadaşlarının (165) farelerde yaptıkları serebral iskemi çalışmasında atorvastatinin trombositlerde Tip III NO sentaz

miktarını arttırdığı ve platelet aktivasyonunu azalttığı, sonuçta statinlerin iskemide sitoprotektif etkisi olduğu ortaya konmuştur.

İnme gelişmiş ülkelerde en sık görülen üçüncü ölüm nedenidir. Kolesterol düzeyleriyle inme arasında oldukça zayıf bir ilişki vardır. Buna karşın statin tedavisi verilen hastalarda inme riskinin azaldığı gösterilmiştir. Gertz ve arkadaşları (174) farelerde yaptıkları bir çalışmada, 14 gün süre ile 10mg/kg atorvastatin verilen deneklerde, 1 saatlik lokal serebral iskemiden sonra eNOS aktivitesinin arttığı, trombüs formasyonunun azaldığı ve iskemik alan hacminin tedavi verilen grupta kontrol grubuna göre %40 daha küçük olduğunu göstermişlerdir.

Freeman ve arkadaşları (175) yaptığı klinik çalışmada pravastatin tedavisinin diyabet oluşma riskini azalttığını göstermişlerdir. Statinlerin diyabet oluşumunu engelleyen özelliklerini; trigliserid düzeylerini düşürmelerinin yanı sıra antiinflamatuvar ve endotel fonksiyonlarını düzenleyici etkileri aracılığıyla gösterdikleri düşünülmektedir.

Statinlerin antiinflamatuvar etkinliğini gösteren gerek klinik gerekse deneysel çalışmalar vardır. Statinler HMG CoA bağımlı antiinflamatuvar etkilerini G protein, adezyon kuvvet molekülleri ve hücre proliferasyon medyatörlerinin yapımı engellenilerek mononükleer hücrelerin ve nötrofillerin endotel yüzeyine yapışıp subendoteliyal yayılım ve ilerlemesini engelleyerek göstermektedirler. CD4+ T hücrelerinin SSS parankimine girebilmek için aktive olması gerekir. CD4+ T hücre aktivasyonu için antijenin antijen sunan hücreler (antigen presenting cell / APC) tarafından majör doku-uyumu kompleksi (major histocompatibility complex / MHC) sınıf II ile tanınması ve T hücreye sunulması gerekmektedir. İnflamatuvar yanıtta “profesyonel olmayan” MHC sınıf II antijeni taşıyan APC’lerin IFN-gamma ile aktive olup “profesyonel” hale geçebilmesi için transkripsiyonel koaktivatör olan MHC sınıf II transaktivatör’ e (CIITA) gereksinimi vardır. CIITA aktivasyonu için çeşitli doku aktivatörlerinin yanı sıra IFN-gamma bulunması gerekir. Statinlerin profesyonel olmayan APC’lerde IFN-gamma’nın aktive ettiği MHC sınıf II ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Mikroglialardaki bu aktivasyon en fazla atorvastatin ile inhibe olmuş ancak L-mevalonat ile geri kazanılmıştır (176, 177). Statinler kolesterol sentezinin ara basamaklarında oluşan ve inflamatuvar etkilerden sorumlu metabolitler olan isoprenoitlerin oluşumunu engelliyerek anti inflamatuvar etkilerde bulunur(178)

T hücre reseptörünün, APC' lerin MHC sınıf II molekülü içeren, antijen taşıyan bölgesi ile birleşmesi T hücre aktivasyonu için yeterli olmayıp başka yardımcı uyarıcılara gerek vardır. Aktive olduğunda T hücresi yüzeyinde CD40 ligand (CD40L) ortaya çıkar. CD40L APC üzerindeki yardımcı uyarıcı molekül olan CD40 ile birleşir. Bu birleşme ile APC üzerinde diğer yardımcı uyarıcı moleküller olan B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) aktive T hücrelerindeki CD28'e bağlanır. Çalışmalarda atorvastatinin IFN-gamma ile indüklenmiş birçok yardımcı uyarıcı molekülün ekspresyonunu engellediği gösterilmiştir(177).

T hücrelerinin SSS' ne geçmesi inflamasyon alanında kimyasal çekicilik, endotel duvarına hücrenin yapışması ve bazal lamina ve ekstrasellüler matriksin proteolitik parçalanması ile ortaya çıkan kompleks bir olaylar dizisidir. Kemokinler lökositlerin beyin ve spinal korda yönelmesini sağlar. Kemokinler, MS fizyopatolojisinde de yer alan, endotel hücresi, mikrogliya, oligodendrosit ve astrositler tarafından üretilir. Monosit kemotaktik protein (monocyte chemotactic protein / MCP)-1 EAE' nin akut dönem ve relapsı sırasında geç fazda görülen ve hastalık şiddeti ile ilişkili bir kemokindir. Lovastatin ve simvastatin' in kandaki mononükleer hücreler ve insan endotel hücrelerinden MCP-1 salınımının doza bağımlı olarak engellediği gösterilmiştir(179). Lenfosit fonksiyon-ilişkili antijen (lymphocyte function-associated antigen / LFA)-1 lökositler üzerinde endotel hücrelerindeki intrasellüler hücre yapışma molekülü (intracellular cell adhesion molecule / ICAM)-1'e bağlanan bir integrindir. Bu hücre-hücre karşılıklı etkileşimi T hücrelerinin beyin endoteline yapışmasında önemli rol oynar. Yapılan çalışmalarda statinlerin HMG-CoA redüktaz etkisinden bağımsız olarak LFA-1 e bağlandığını ve LFA-1 / ICAM-1 ile oluşan yapışmayı engellediğini göstermiştir (180, 181). T hücreler endoteli geçse bile beyin veya spinal korda ulaşabilmeleri için önlerinde fiziksel bariyer olarak bazal lamina bulunmaktadır. Burayı proteolitik enzimler olan matriks metalloproteinazların yardımı(MMP) ile geçerler. MMP aynı zamanda MS patolojisinde yer alan myelin temel protein'in (myelin basic protein / MBP) ensefalitojenik peptit parçalarına dönüşmesini sağlar. MMP-9'un lökositlerden salınımının statinler tarafından engellendiği iki ayrı çalışmada gösterilmiştir (182, 183).

T hücresi farklılaşması ve sitokinler üzerine etkisi sitokin profillerine göre T hücreler pro-inflamatuar sitokin üreten TH1 ve anti-inflamatuar sitokin üreten TH2 hücreler şeklinde farklılaşır. İnflamasyon başlangıçta TH1 hücreleri tarafından yönlendirilir. TH1 hücrelerinin ortamdaki miktarının hastalık şiddeti ile direkt ilişkisi vardır. Atorvastatinin TH2 sitokinler

olan IL-4, IL-5, IL-10 ve “transforming growth factor” (TGF)-beta sekresyonunu arttırdığı ve buna ek olarak TH0 hücrelerinin TH2 hücrelerine dönüşmesinde katkıda bulunduğu ortaya konmuştur(177, 184).

Koroner kalp hastalarında yapılan klinik çalışmalardan birinde atorvastatinin sekiz hafta süreyle kullanılması sonucu, bir inflamasyon parametresi olan plazma C-reaktif protein düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (185).

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tümü serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediği için oldukça zararlıdır. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asitleri zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Molekül içi çift bağların pozisyonlarının değişmesi ile dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalinin moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksil radikali meydana gelir. Lipid peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eden lipid peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder. Plazma membranı ve organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsi ile stimüle edilebilir ve metallerin varlığında artar. Bu metaller redoks katalizörü olarak görev yaparlar ve süperoksid ve hidrojen peroksidin daha güçlü oksidanlara dönüşümünü katalize ederler. Lipitlerden, araşidonik asid metabolizması sonucu serbest radikal üretimine "enzimatik lipid peroksidasyonu", diğer radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise "non-enzimatik lipid peroksidasyonu" adı verilir. Lipid hidroperoksidleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehidler oluşurlar (186). Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından

diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbütirik asitle ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. Bu metod lipid peroksid seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirek olarak reaktif aldehydler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir.

Lipid radikallerinin hidrofobik yapıda olması yüzünden reaksiyonların çoğu membrana bağlı moleküllerle oluşur. Membran permeabilitesi ve mikroviskozitesi ciddi şekilde etkilenir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrensek membran özelliklerini değiştirir(187).

Bu bilgilerin ışığı altında pek çok araştırmacı doku lipid peroksidasyonunun MDA gibi ürünleri direkt olarak ölçerek reperfüzyona bağlı ortaya çıkan hasarı saptamışlardır. (188, 189).

Bizde spinal iskemi-reperfüzyon modelimizde serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının ve lipid peroksidasyonunun göstergesi olan doku ve plazma kaynaklı MDA düzeylerini değerlendirilerek atorvastatinin reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisine baktık. 14 gün süreyle atorvastatin verilen tedavi grubunda doku ve plazma ortalama MDA düzeylerinin İ/R grubu ortalama MDA değerlerinden düşük, kontrol grubu ortalama MDA değerlerinden ise yüksek olduğu görüldü. Denekler arası değerlerin karşılaştırılmasında ise tedavi grubunun plazma ve doku MDA değerlerinin kontrol grubu değerlerine istatistik olarak anlamlı düzeyde benzer olduğu görüldü. Bu sonuç atorvastatinin spinal kord ve aortik oklüzyondan etkilenen çoğu alt ekstremiteye ait diğer dokuları, iskemi reperfüzyon hasarında oluşan oksidatif stres sonucu gelişecek lipid peroksidasyonunun kötü sonuçlarından koruduğunu göstermektedir.

Statinlerin antiaterosklerotik ve endotel fonksiyonlarını düzenleyici etkilerinin olduğu gösterilmiştir(191, 192, 193). Son çalışmalar statinlerin vasküler sistem üzerine direkt etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bu etkilerinin çoğu endotelial NO üzerinden

olmaktadır. Spinal iskemi-reperfüzyon yaralanmasının fizyopatolojisinde iki tip NOS rol oynamaktadır. Bunlardan birincisi yapısal(cNOS) diğeri indüklenbilir NOS(iNOS)' dır. Yapısal NOS tarafından yapılan nitrik oksit hücreler arası ve hücre içi haberleşmede rol oynayan çeşitli organ sistemleri için bazal seviyeleri gerekli olan ve ortamdaki kalsiyum iyonlarının artışıdan etkilenen bir enzimdir. Yapısal NOS endotelial(eNOS) ve nöronal(nNOS) olarak iki alt sınıfta incelenir. eNOS statinlerin vasküler sistem üzerindeki olumlu etkilerinden sorumludur. Endotel kaynaklı NO' in damar bütünlüğünün korunması, lökositlerin endotel hücrelerine yapışmasının ve düz kas hücre proliferasyonunun önlenmesi gibi etkilerinin yanında trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe etme etkileri de vardır. iNOS' (induced nitrik oksit sentaz) ise ortamdaki kalsiyum konsantrasyonundan etkilenmeyen, patolojik durumlarda miktarı artan, yüksek miktarda ve uzun süreli oksit üretiminden sorumlu olan enzimdir. Biyolojik sistemlerde üretilen yüksek konsantrasyonlardaki NO' in zararlı etkileri üç mekanizma ile gerçekleşir. Bunlardan ilki NO' in oksijene benzer şekilde hücre içine girerek, paylaşılmamış elektronu bulunan bir molekül olduğu için hücre içinde proteinlerin yapısında bulunan demir gibi geçiş metallerine bağlanması ve ortama serbest demir salınımına neden olmasıdır. İkincisi oto oksidasyon ile N-nitroso bileşiklerini oluşturarak DNA ya zarar veren N2O3 oluşturmasıdır. Son olarakta nitrik oksit, oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek DNA, proteinler ve hücre membran lipidlerini okside eden peroksinitrit üretir (190).

Statinler yararlı etkinliklerinin büyük kısmını eNOS miktarını arttırıp, iNOS miktarını azaltarak yaparlar(191, 192, 193).

Bizim çalışmamızda tedavi grubu ortalama doku NO düzeyi İ/R grubu ortalama değerinden düşük, kontrol grubu ortalama değerinden ise yüksek bulundu. Gruplar arası nitrit, nitrat toplamalarıyla elde edilen NO değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda ise kontrol ve tedavi grupları arasındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü($p>0.05$). Bu sonuç fizyolojik konsantrasyonun üzerinde sentezlenen NO' den iNOS' ın sorumlu olduğu düşünüldüğünde atorvastatinin yapılan diğer çalışmalarda kanıtlanmış olan iNOS enzim aktivitesini azaltarak NO' in yol açtığı patolojik etkilerden organizmayı koruduğu görüşünü desteklemektedir.

NO' nun plazmadaki ortalama değerleri ele alındığında ise İ/R grubunda en yüksek, tedavi grubunda en düşük değerlerde olduğu, kontrol grubunda ise her iki değer arasında yer

aldığı izlendi. Nitrit ve nitrat düzeylerinin toplamıyla elde edilen NO düzeyinin gruplar içi değerlendirilmesi sonucunda ise kontrol ve tedavi grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Plazma düzeyinde kontrol grubunda ortaya çıkan bu NO yüksekliğinin deneklere uygulanan aortik oklüzyon aşamasına kadar olan cerrahi müdahale sorumlu tutuldu. Abdominal bölgeye yapılan insizyon ve anatomik yapıların geçilmesi takiben barsakların sağa lateralize edilmesi ve abdominal aorta diseksiyonu işlemlerinin dolaşıma geçen NO miktarını arttırdığı düşünüldü. Tedavi grubunda ise atorvastatinin sistemik olarak da NO düzeyini düşürerek koruyucu etki gösterdiği sonucuna varıldı.

Ayrıca serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırımında önemli antioksidan savunma sistemlerinden biri olan Glutasyon düzeyleri incelendi. Glutasyon yapısında sülfür içeren tripeptit yapıda bir bileşiktir. Glutasyon her hücrede bulunmaktadır ve hücrenin fonksiyonel proteinlerini oksidan ajanlara karşı koruduğu kabul edilmektedir. Özellikle eritrositleri peroksitlere karşı korur. GSH proksidaz bu reaksiyonda rol oynar ve sonuçta oluşan okside glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi aracılığıyla tekrar redükte glutasyon haline dönüştürülür.

Çalışmamızda tedavi grubunda ortalama plazma ve doku Glutasyon değerlerinin iskemik gruptan düşük, kontrol grubundan ise yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca denekler arası istatistiksel değerlendirilme sonucunda tedavi grubu plazma ve doku Glutasyon düzeyleri ile kontrol grubu plazma ve doku Glutasyon değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bir antioksidan olan redükte glutasyonun tedavi grubunda yüksek bulunması, atorvastatinin antioksidan özelliği ile iskemi reperfüzyon sonucu oluşan hasarı dolayısıyla oksidanları azaltmasına ve glutasyon savunma sistemine olan ihtiyacı azaltmasına bağlanabilir.

Sonuçta MDA, Glutasyon ve NO düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde atorvastatin tedavisi altınayken spinal iskemi reperfüzyon uygulamasına maruz kalan deneklerde oksidatif stresin göstergesi olan parametrelerde anlamlı düzeyde düzelme görülmektedir. Buda atorvastatinin spinal kordu ve iskemik hasara uğrayan diğer dokuları oksidatif stresten koruduğunu göstermektedir.

Spinal kord iskemisi sonrası görülen histolojik değişiklikler farklı yayınlarda farklı şekilde değerlendirilmiştir(194, 195). Bazı araştırmacılar spinal kordda iskemiye spesifik

değişikleri ortaya koyabilirken bazı araştırmacılar ise histolojik değişiklikleri tespit etmelerine rağmen bunların klasik iskemik değişiklikler olmaması nedeniyle non spesifik değişiklikler olarak tariflemişlerdir. Hiç azımsanmayacak sayıdaki çalışmada da araştırmacılar, spinal kordda bir değişiklik saptayamamışlardır. Bu şekilde de anlaşılabileceği gibi spinal korddaki histolojik değişikliklerin ortaya konulması ve bunların derecelendirilmesi oldukça büyük güçlükler içermektedir(194, 195).

Mutch ve arkadaşları köpeklerin kullanıldığı iki ayrı araştırmada histolojik değişiklikleri ortaya koymak için anterior spinal korddaki eozinofilik granülasyon gösteren ve ölü kabul edilen nöronların hasar görmemiş nöronlara oranını kullanmışlardır (195,196). Bu şekilde hücre hasarı belli bir rakamsal değer haline getirilmiştir. Berguer ve arkadaşları spinal korddaki iskemik değişiklikleri daha geniş bir şekilde değerlendirmişlerdir(194). Buna göre eozinofilik perikarya, karyopiknoz, perikaryal şişme, nissl granüllerinin kaybolması ve nükleer disintegrasyon varlığı spinal kordda iskemi bulguları olarak kabul edilmiştir, ön boynuzdaki hücreler bu kriter ile değerlendirilmiştir. Benzer şekilde Salzano ve arkadaşları(197) derecelendirme yoluna gitmeksizin histolojik değişiklikleri piknotik değişiklikler ve hiperkromatik çekirdek şeklinde belirlemişlerdir.

Biz araştırmamızda histolojik değişiklikleri hem istatistiksel olarak daha iyi ortaya koymak hem de daha objektif bir değerlendirmeye almak için derecelendirme yolunu tercih ettik. Buna göre histolojik değerlendirme sonuçları üç derece halinde ortaya konulmuştur. Bu amaçla Simpson ve arkadaşların uyguladığı yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır(198). Histolojik inceleme esnasında ön boynuz motor nöronlarından 10 tanesi randomize olarak seçilmiş ve hemen periferindeki aksonlar incelenmiştir. Normal spinal kord bulguları için Grade 1, orta derecede aksonal şişme, nadir mononükleer hücre-astrosit infiltrasyonu ve az sayıda hasarlı nöron varlığında (5>) Grade 2 ve aşırı aksonal şişmeye ek olarak yaygın nekrotik nöronların varlığı(5<) ve yoğun mononükleer hücre- astrosit infiltrasyonu tespit edildiğinde ise histolojik hasar Grade 3 olarak kabul edildi. Derecelendirme yardımıyla histolojik değişiklikler nümerik hale getirilerek istatistiksel değerlendirmeye alındı.

Histolojik değişiklikler daha önce de belirtildiği gibi özellikle kros klemp uygulanan gruplarda ve lumbal segmentlerde yoğunlaşmaktadır. Bu sonuç distal aortik klemp uygulaması sonrası iskekiye en çok maruz kalan segmentin distal lumbal segment (L5)

olması açısından önemlidir. İskemik hasarın oluşması ile histolojik değişikliklerin birlikteliği ve bu değişikliklerin uygun derecelendirme yöntemi ile ortaya konması oldukça önemli bulgulardır. Histolojik değerlendirme skorları incelendiğinde tedavi grubunda hasarlı nöron, hasarlı akson ve mononükleer hücre-astrosit infiltrasyonunun, iskemi reperfüzyon grubundan daha az olduğunu izledik.

Tedavi grubu denekleri Tarlov skoru ortalamasının, İ/R grubu deneklerinininkine göre bir miktar daha yüksek olduğu görüldü. İlerleyen takip sürelerinde İ/R grubunun skorunda 6. saatteğine göre değişiklik izlenmezken tedavi grubunda anlamlı olmamakla beraber bir miktar düzelme izlendi. Bu sonuç atorvastatinin, reperfüzyon hasarının primer hasarın kötüye gidişine neden olan zararlı etkilerinden spinal kordu koruduğu yönünde yorumlanabilir. İskemi uygulaması sonrası değişikliklerin yapısı ve nörolojik hasar ile ilişkisi halen tartışmalıdır. Buna karşın çalışmamızda nörolojik değerlendirmede kullanılan Tarlov skoru puanlarıyla deneklerde tespit edilen histopatolojik inceleme sonuçlarının birbirleriyle uyumlu olduğunu da gördük.

Tüm bu bulgular ışığında atorvastatin kullanımı esnasında, spinal kordda iskemi-reperfüzyon ile sonuçlanacak patolojilerde biyokimyasal, histolojik ve nörolojik anlamda hasarın daha az olacağı söylenebilir. Bu nedenle spinal korda yönelik olarak planlanan iskemi-reperfüzyon riski içeren cerrahi müdahaleler öncesinde profilaktik olarak atorvastatin kullanımının morbidite üzerinde olumlu yönde etkili olacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Bu çalışmada spinal kordda direkt travmatik hasar olmaksızın spinal arterio-venöz malformasyon, spinal tümör cerrahisi veya torakal aorta cerrahisi gibi uygulamalar sonucu oluşabilecek iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde antioksidan, pleotropik, trombosit agregasyonunu inhibe edici, endotel koruyucu ve antiinflamatuvar etkileri bir çok çalışmada gösterilmiş olan Atorvastatinin etkisi araştırıldı.

Çalışma Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'nın izniyle Gazi Hastanesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Mikrocerrahi ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. İskemik hasar için son zamanlarda sistemik etkileri daha az olduğu için güvenilir bulunan tavşanlarda renal arter distalinden ve iliak bifurkasyon proksimalinden abdominal aortaya klipaj uygulanması deney modeli seçildi.

Denekler herhangi bir tedavi uygulanmayan ancak aortik klipaj aşamasına kadarki cerrahiye tabi tutulan kontrol grubu, tedavi uygulanmayan ancak aortik klipaj dahil tüm cerrahi prosedüre tabi tutulan iskemi reperfüzyon grubu ve 14 gün boyunca 5 mg/kg dozda oral atorvastatin verilen ve iskemi oluşturulan tedavi grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı.

Atorvastatinin etkilerini değerlendirmek için plazma ve doku örneklerinde malondialdehid(MDA), redükte glutatyon(GS), ve nitrik oksid(NO) düzeyleri biyokimyasal olarak değerlendirilirken, histopatolojik olarak da iskemik hasardan en çok etkilenen spinal kord segmenti olan L5 düzeyinden alınan kesitler incelendi. Ayrıca deneklerin Tarlov skoru ile fonksiyonel değerlendirmeleri yapıldı.

Tüm bulguların değerlendirilmesi sonucunda, 5 mg/kg dozda 14 gün boyunca oral uygulanan atorvastatinin, tavşan spinal kordunda, infrarenal aortik oklüzyon modeliyle oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- 1) Kayhan Z, Akpek EA, Spinal cerrahide Anestezi. Keçik Y, Ünal N.(Ed) Nöroanestezi 1.Baskı Ankara, Atlas Kitapçılık LTD.ŞTİ,2000:235-282
- 2) Gharagozloo F, Larson J, Dausmann MJ, Neville RF, Gome MN: Spinal Cord Protection during surgical procedures on the descending thoracic aorta. Chest 1996;109:799-809.
- 3) Koshino T, Murakami G, Morishita K, Mawatari T, Abe T: Does the Adamkiewicz artery originate from the large segmental arteries? J Thorac Cardiovasc Surg 1999;117:898-903.
- 4) Giglia JS, Zelenock GB, Daley L: Prevention of paraplegia during thoracic aortic clamping: Importance of patent internal mammary arteries. J Vasc Surg 1994;19:1044-1051.
- 5) Solak H. Damar hastalıkları ve cerrahisi. S.Ü. Yaşatma ve Geliştirme Vakfı Yayınları 1997:57-60
- 6) Bruce L. Gewertz: Improvements in intraoperative care in aortic surgery. In: John J. B, James S.T. Yao. Aortic Surgery. U.S.A.:Sounders Company. 1989:75-87.
- 7) Svensson L.G, Crawford E.S: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations, and statistical analyses. Current Problems in Surgery. 1992;Part -I:819-912
- 8) Chan PH. Role of oxidants in ischemic brain damage. Stroke 1996; 27:1124-9
- 9) Peters O, Back T, Lindauer U, Busch C, Megow D, Dreier J, Dirnagl U: Increased formation of reactive oxygen species after permanent and reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. J Cereb Blood Flow Metab 1998; 18(2):196-205
- 10) Singh S, Hider RC: Therapeutic iron-chelating agents. In: Rice-Evans CA. Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994, pp.189-215

- 11) Garcia JH. and Anderson ML: Physiopathology of cerebral ischemia. CRC Critical Reviews in Neurobiology, 1989; 4 (4): 303-24
- 12) Siesjö BK: Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. J Neurosurg 1992; 77:169-84
- 13) Winyard PG, Morris CJ, Winrow VR, Zaidi M, Blake DR. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994; 361-81
- 14) Symon L: The scientific basis of cerebral infarction. In: Suzuki J. Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke, Sendai, Springer-Verlag Press, 1987; pp.237-9
- 15) Garcia JH. and Anderson ML: Physiopathology of cerebral ischemia. CRC Critical Reviews in Neurobiology, 1989; 4 (4): 303-24
- 16) Siesjö BK: Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. Ann NY Acad Sci 1988; 522: 638-61
- 17) Hartmann A, Yatsu F, Kuschinsky W: Cerebral ischemia and basic mechanisms, Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag Press, 1994; pp.237-49
- 18) Thilmann R, Xie Y, Kleihues P, Kiessling M: Persistent inhibition of protein synthesis precedes delayed neuronal death in post-ischemic gerbil hippocampus. Acta Neuropathol, 1989; 71: 88-93
- 19) Heiss WD, Graf R: The ischemic penumbra. Current Opinion in Neurology, 1994; 7: 11-19
- 20) Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM: Principles of biochemistry, New York, Worth Publishers Inc. 1993; ed 2. pp.268-97
- 21) Symon L: The scientific basis of cerebral infarction. In: Suzuki J. Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke, Sendai, Springer-Verlag Press, 1987; pp.237-9

- 22) Baker AJ, Zornow MH, Sheller MS, Yaksh TL: Changes in extracellular concentrations of glutamate, aspartate, glycine, dopamine, serotonin, and dopamine metabolites after transient global ischemia in the rabbit brain. *J Neurochem* 1991; 57: 1370-9
- 23) Kumagae Y, Matsui Y: Output, tissue levels, and synthesis of acetylcholine during and after transient forebrain ischemia in the rat. *J. Neurochem* 1991; 56:1169-73
- 24) Sano K: Ischemic neural lesions in cerebral stroke. In: Suzuki J *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke Sendai, Sringer-Verlag Press, 1987; pp.13-26*
- 25) Watkins JC, Olverman HJ: Agonists and antagonists for excitatory amino acid receptors. *Trends Neurosci* 1987;10: 265-72
- 26) Lazdunski M, Frelin C, Vigne P: The sodium/hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17:1029-42
- 27) Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM: *Principles of biochemistry*, New York, Worth Publishers Inc. 1993;ed 2.pp.268-97
- 28) Folbergrova J, Minamisawa H, Ekholm A: Phosphorylase a and labile metabolites during anoxia: correlation to membrane fluxes of K⁺, and Ca²⁺. *J Neurochem* 1991; 56: 1075-8
- 29) Siesjo BK, Katsura KI, Zhao Q, Folbergrova J, Pahlmark K: Mechanisms of secondary brain damage in global and focal ischemia: a speculative synthesis. *J Neurotrauma* 1995; 12 (5): 943-56
- 30) Garcia JH. and Anderson ML: *Physiopathology of cerebral ischemia*. CRC Critical Reviews in Neurobiology, 1989; 4 (4): 303-24
- 31) Kilgore KS, Lucchesi BR: Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. *Clin Biochem* 1993; 26: 359-70

- 32) O'Donnell, VB, Eiserich JP, Chumley PH, Hogg N, Bloodsworth A, Darley-USmar VM, Freeman BA: Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation. Kinetics of reaction with lipid peroxyl radicals and comparison with alpha-tocopherol. *Biochemistry* 1997; 36:15216-23
- 33) O'Donnell, VB, Eiserich JP, Chumley PH, Jablonsky MJ, Krishna NR, Kirk M, Barnes S, Darley-USmar VM, Freeman BA: Nitration of unsaturated fatty acids by nitric oxide derived reactive nitrogen species peroxynitrite, nitrous acid, nitrogen dioxide and nitronium ion. *Chem Res Toxicol* 1999;12:83-92
- 34) Peters O, Back T, Lindauer U, Busch C, Megow D, Dreier J, Dirnagl U: Increased formation of reactive oxygen species after permanent and reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18(2):196-205
- 35) Spetzler RF, Graham TW, Nehls DG: Overview of cerebral ischemia: Rationale for cerebral protection. In: Suzuki J. *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke*. Sendai, Springer-Verlag Press, 1987, pp. 231-5.
- 36) Imaizumi S, Kinouchi H, Tominaga T, Yoshimoto T, Suzuki J. In: Suzuki J: *Biochemical events in the ischemic brain and pharmacological basis of mannitol, vitamin E, glucocorticoid and phenitoin*. In: *Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke Sendai*, Springer-Verlag Press, 1987, pp. 257-63
- 37) White BC, Grossmann LI, Krause GS: Brain injury by global ischemia and reperfusion: a theoretical perspective on membrane damage and repair. *Neurology* 1993; 43: 1656-65
- 38) Schmidley JW: Free radicals in central nervous system ischemia *Stroke* 1990; 21 (7): 1086-90
- 39) Katsura K, Rodriguez de Turco EB, Folbergrova J, Bazan NG, Siesjö BK: Coupling among energy failure, loss of ion homeostasis and phospholipase A2 and C activation during ischemia. *Neurochem* 1993; 61: 1677-84

- 40) Mc Cord JM: Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. N Engl J Med 1985; 312: 159-61
- 41) Reilly PM, Schiller HJ, Bulkey GB: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg. 1991; 161: 488-502.
- 42) Hartmann A, Yatsu F, Kuschinsky W: Cerebral ischemia and basic mechanisms, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag Press, 1994 pp.331-51
- 43) Schmidley JW: Free radicals in central nervous system ischemia Stroke 1990; 21 (7): 1086-90
- 44) Morimoto K, Yanagihara T: Cerebral ischemia in gerbils: polyribosomal function during progression and recovery Stroke 1981; 12: 105-10
- 45) İşlekel H, İşlekel S, Güner G: Lizozomal proteolitik aktivitenin beyin dokusunda penumbral ve derin iskemi-reperfüzyonunda karşılaştırılması Ege Tıp Dergisi 1998; 37(3-4): 163-6.
- 46) Seyfried D, Han Y, Zheng Z, Day N, Moin K, Rempel S, Sloane B, Chopp M: Cathepsin B and middle cerebral artery occlusion in the rat J Neurosurg 1997 Nov; 87 (5):716-23.
- 47) Frei B: Molecular and biological mechanisms of antioxidant action FASEB J 1999; 13:963-4
- 48) Li N, Karin M: Is NF-kB the sensor of oxidative stress? FASEB J 1999; 13:1137-43.
- 49) Babbs CF, Lafayette W: Role of iron ions in the genesis of reperfusion injury following successful cardiopulmonary resuscitation: preliminary data and a biochemical hypothesis Annals of Emergency Medicine 1985; 14 (8):777-83

- 50) Dugan LL, Sensi SL, Canzoniero LMT, Handran SD, Rothman SM, Lin T-S, Goldberg MP, Choi DW: Mitochondrial production of reactive oxygen species in cortical neurons following exposure to N-methyl-D-aspartate J Neurosci 1995;15:6377-88
- 51) Forsman M, Fleischer JE, Milde JH, Steen PA, Michenfelder JD: Superoxide dismutase and catalase failed to improve neurologic outcome after complete cerebral ischemia in the dog Acta Anaesthesiol Scand 1988; 32: 152-155
- 52) Fisher M, Takano K: The penumbra, therapeutic time window and acute ischemic stroke Baillieres Clinical Neurology 1995; 4 (2): 279-259
- 53) Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklund S, Parks DA, Freeman BA: Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium J Biol Chem 1999; 274: 4985-94
- 54) Leff JA, Repine JE: Blood cells and ischemia- reperfusion injury. Blood Cells 1990; 16: 183-92
- 55) McCord JM: Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance Clin Biochem 1993; 26: 351-7
- 56) Feuerstein GZ, Liu T, Barane FC: Cytokines, inflammation and brain injury role of tumor necrosis factor- β Cerebrovasc Brain Metab Rev. 1994; 6: 341-60
- 57) Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, Vliet A: Formation of nitric oxide derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. Nature 1998; 391: 393-7.
- 58) Asano T, Shigeno T, Johshita H, Hanamura T: The possible role of free radical scavengers in the mitigation of ischemic brain damage. In: Suzuki J. Advances in surgery of cerebral stroke proceedings of the international symposium on surgery for cerebral stroke, Sendai, Springer-Verlag Press, 1987, 251-5
- 59) Lefer AM, Lefer DJ: Pharmacology of the endothelium in ischemia-reperfusion and circulatory shock. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1993; 33: 71-90.

- 60) Rice-Evans CA: Free radicals and antioxidants in normal and pathological processes. In: Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England, Elsevier Science Press, 1994, pp.1- 31.
- 61) İşlekel H, İşlekel S, Güner G, Özdamar Nitrik Oksid: Evaluation of lipid peroxidation cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia-reperfusion. Brain Res 1999; 843:18-24
- 62) İşlekel S, İşlekel H, Güner G, Özdamar Nitrik Oksid: Alterations in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in experimental cerebral ischemia-reperfusion Res Exp Med 1999; 199 (3):167-76
- 63) Rice-Evans CA, Bruckdorfer KR: Oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction, London, Portland Press, 1995, pp.161-80.
- 64) Patel RK, McAndrew J, Sellak H, White CR; Jo H, Freeman BA, Darley-USmar: Biological aspects of reactive nitrogen series. Biochym Biophys Acta 1999; 1411:385-400
- 65) Svensson LG, Crawford ES: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations and statistical analyses. Part I Curr Probl Surg 1992; 29: 819-912.
- 66) Svensson LG, Rickards E, Coul A, et al: Relationship of spinal cord blood flow to vascular anatomy during thoracic aortic cross-clamping and shunting. J Thorac Cardiovasc Surg 1986;91: 71-78.
- 67) Svensson LG, Crawford ES, Patel V, et al: Spinal cord oxygenation. intraoperative blood supply localization, cooling and function with aortic clamping. Ann Thorac Surg 1992; 54: 74-79.
- 68) Moore WM Jr, Hollier LH: The influence of severity of spinal cord ischemia in the etiology of delayed onset paraplegia. Ann Surg 1991; 213: 427-431.

- 69) Lintott P, Hafez HM, Stansby G: Spinal cord complications of thoracoabdominal aneurysm surgery. *Brit J Surg* 1998; 85: 5-15.
- 70) Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH: Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1984; 43: 1369-1374.
- 71) McCord JM: Oxygen derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Eng J Med* 1985; 312:159-163.
- 72) Kukreja RC, Hess ML: The Oxygen free radical system from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 641-655.
- 73) Svensson LG, Rickards E, Coul A, et al: Relationship of spinal cord blood flow to vascular anatomy during thoracic aortic cross-clamping and shunting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;91: 71-78.
- 74) Reid JL, Dawson D, Maerae IM: Endothelin, cerebral ischaemia and infarction. *Clin Exp Hypertens* 1995;17:399-407.
- 75) Michael C.M, Lorne H.B, Scott E.L, et al: Prevention spinal cord injury after repair of the thoracic or thoracoabdominal aorta. *Annals of Thoracic Surgery*. 1995;59:245-52.
- 76) Farid C, Joel L, Mary J.D, et al: Spinal cord protection during surgical procedures on the descending thoracic and thoracoabdominal aorta. *Chest*. 1996;109:799-809
- 77) Livesay J.J, Cooley D.A, Ventemiglia R.A: Surgical experience in descending thoracic aneurysmectomy with and without adjuncts to avoid ischemia. *Annals of Thoracic Surgery*. 1995;39:37-46.
- 78) Svensson L.G, Crawford E.S, Hess K.R: Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *Journal of Vascular Surgery*. 1993;17:357-70.
- 79) Hollier L.H, Symmonds J.B, Pairolero P.C: Thoracoabdominal aortic aneurysm repair: analysis of postoperative morbidity. *Arch. Surgery*. 1988;123:871- 5.

- 80) Najafi H: Descending aortic aneurysmectomy without adjuncts to avoid ischemia. *Annals of Thoracic Surgery*. 1993;55:1042-45.
- 81) Katz N.M, Blacstone E.H, Kirklin J.W: Incremental risk factors for spinal cord injury following operation for acute traumatic aortic transection. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1981;81:669-74.
- 82) Crawford E.S, Coselli J.S: Thoracoabdominal aneurysm surgery. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1991;3:300-22.
- 83) Bruce L. Gewertz: Improvements in intraoperative care in aortic surgery. In: John J. B, James S.T. Yao. *Aortic Surgery*. U.S.A.:Sounders Company. 1989:75-87.
- 84) Kirklin J.W, Brian G: Barratt-Boyes. *Cardiac Surgery* second ed. New York: Churchill Livingstone. 1993:1749- 76.
- 85) Nicholas T.K: Spinal cord ischemic injury: Is it preventable? *Seminars in Thoracic Cardiovascular Surgery*. 1991;3:323- 8.
- 86) Svensson L.G, Patel V, Robinson M.F, et al: Influence of preservation or perfusion of intraoperatively identified spinal cord blood supply on spinal motor evoked potentials and paraplegia after aortic surgery. *Journal of Vascular Surgery*. 1991;13:355-65.
- 87) Sun J, Hirsch D, Svensson G: Spinal cord protection by papaverine and intrathecal cooling during aortic crossclamping. *J. Cardiovascular Surgery (Torino)*. 1998;39: 839-42.
- 88) Svensson L.G, Von Ritter C.M, Groeneveld H.T: Crossclamping of the thoracic aorta: influence of aortic shunts, laminectomy, papaverine, calcium channel blocker, allopurrinol, and superoxide dismutase on spinal cord blood flow and paraplegia in baboons. *Annals of Surgery*. 1986;206:38-47.
- 89) Maughan R.E, Mohan C, Nathan I.M: Intrathecal perfusion of an oxygenated perfluorocarbon prevents paraplegia after aortic occlusion. *Annals of Thoracic Surgery*. 1992;54:818-25.

- 90) Peter G, Thomas C.B: Visceral and spinal cord protection during thoracoabdominal aortic reconstructions. *Seminars in Vascular Surgery*. 1992;5:163-71.
- 91) Svensson L.G, Hess K.R, Coselli J.S, et al: A prospective study of respiratory failure after high-risk surgery on the thoracoabdominal aorta. *Journal of Vascular Surgery*. 1991;14:271-82.
- 92) Hollier L.H, Moore W.M: Avoidance of renal and neurologic complications following thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Acta. Chir. Scand. Supp*. 1990;555:129-35.
- 93) Blaisdell F.W, Cooley D.A: The mechanism of paraplegia after temporary thoracic aortic occlusion and its relationship to spinal fluid pressure. *Surgery*. 1962;51:351-55.
- 94) Miyamoto K, Ueno A, Wada T, et al: A new and simple method for preventing spinal cord damage following temporary occlusion of thoracic aorta by draining the cerebrospinal fluid. *J. Cardiovascular Surgery* 1960;16:188-97.
- 95) Svensson L.G, Hess K.R, Diagostino RS et al: Reduction of neurologic injury high risk thoracoabdominal aortic operation. *Ann. Thorac. Surgery*. 1998;66:132-8.
- 96) Safi HJ, Winnerkvist A, Miller CC et al. Effect of extended cross-clamp time during thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Ann. Thorac. Surg*. 1998;66:1204-9.
- 97) Fowl R.J. Patterson R.B. Gewirtz R.J, et al: Protection against postischemic spinal cord injury using a new 21- aminosteroid. *Journal of Surg. Res*. 1990;48:597-600.
- 98) Schitteck A, Bennink B, Cooley D.A, et al: Spinal cord protection with intravenous nimodipine: a functional and morphologic evaluation. *Journal of Thoracic and Cardiovas. Surgery*. 1992;104:1100-5.
- 99) Tobinaga S: Spinal kord protection: effect of N-methyl-D-aspartate receptör antagonist Mk-801 for spinal cord ischemia in a rabbit model. *J. Kurume Med*. 2000;47: 45-53.

- 100) Chris K. R, Christopher S.C, Takashi N, et al: Profound systemic hypothermia inhibits the release of neurotransmitter amino acids in spinal cord ischemia: Cardiopulmonary bypass, myocardial management, and support techniques. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1995;110:27-35.
- 101) Martin G, Marek E, Paul S, et al: Thoracoabdominal aneurysm repair: Spinal cord protection using profound hypothermia and circulatory arrest. *Journal of Cardiac Surgery*. 1994;9:679-84.
- 102) Svensson L.G, Crawford E.S: Aortic dissection and aortic aneurysm surgery: Clinical observations, experimental investigations, and statistical analyses. *Current Problems in Surgery* 1993;3-125.
- 103) Scott D.Ross, John A. Kern, James J. Gangemi et al: Hypothermic retrograde venous perfusion with adenosine cools the spinal cord and reduces the risk of paraplegia after thoracic aortic clamping. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2000;119:588-95.
- 104) Ergin M.A, Griepp E.B, Lansman S.L, et al: Hypothermic circulatory arrest and other methods of cerebral protection during operations on the thoracic aorta. *Journal of Cardiac Surgery*. 1994;9:525-37.
- 105) Norwood W.I, Norwood C.R, Ingwal J.S, et al: Hypothermic circulatory arrest: 31-phosphorus nuclear magnetic resonance of isolated perfused neonatal rat brain. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1979;78: 823-30.
- 106) Douglas P.G, Ronald J.S: Occlusive disease of the upper abdominal aorta. *Seminars in Vascular Surgery*. 1992;5:174-79.
- 107) Chan P.H, Longar S, Fishman R.A: Protective effects of liposome entrapped superoxide dismutase on post-traumatic brain edema. *Ann. Neurol*. 1987;21:540- 7.

- 108) Coghlan J.G, Fliter W.D, Glutton S.M, et al: Allopurinol pretreatment improves postoperative recovery and reduces lipid peroxidation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 1994;107: 248-56.
- 109) Jung KH, Chu K, Jeong SW, Han SY, Lee ST, Kim JY, Kim M, Roh JK: HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes sensorimotor recovery, suppressing acute inflammatory reaction after experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2004 Jul;35(7):1744-9. Epub 2004 May 27.
- 110) Vaughan CJ, Delanty N: Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke*. 1999 Sep;30(9):1969-73. Comment in: *Stroke*. 2000 Apr;31(4):989-90.
- 111) Bosel J, Gandor F, Harms C, Synowitz M, Harms U, Djoufack PC, Megow Dirnagl U, Hortnagl H, Fink KB, Endres M: Neuroprotective effects of atorvastatin against glutamate-induced excitotoxicity in primary cortical neurones. *J Neurochem*. 2005 Mar;92(6):1386-98.
- 112) Hayashi T, Hamakawa K, Nagotani S, Jin G, Li F, Deguchi K, Sehara Y, Zhang H, Nagano I, Shoji M, Abe K: HMG CoA reductase inhibitors reduce ischemic brain injury of Wistar rats through decreasing oxidative stress on neurons. *Brain Res*. 2005 Mar 10;1037(1-2):52-8.
- 113) Greisenegger S, Mullner M, Tentschert S, Lang W, Lalouschek W: Effect of pretreatment with statins on the severity of acute ischemic cerebrovascular events. *J Neurol Sci*. 2004 Jun 15;221(1-2):5-10.
- 114) Gertz K, Laufs U, Lindauer U, Nickenig G, Bohm M, Dirnagl U, Endres M: Withdrawal of statin treatment abrogates stroke protection in mice. *Stroke*. 2003 Feb;34(2):551-7.

- 115) Lalouschek W, Lang W, Greisenegger S, Mullner M: Vienna Stroke Study Group. Determination of lipid profiles and use of statins in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack. *Stroke*. 2003 Jan;34(1):105-10.
- 116) Vaughan CJ, Delanty N, Basson CT: Statin therapy and stroke prevention. *Curr Opin Cardiol*. 2001 Jul;16(4):219-24. Review.
- 117) Vaughan CJ, Delanty Nitrik Oksid: Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke*. 1999 Sep;30(9):1969-73. Review.
- 118) Vaughan CJ, Delanty Nitrik Oksid: Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke*. 1999 Sep;30(9):1969-73. Comment in: *Stroke*. 2000 Apr;31(4):989-90.
- 119) Stanislaus R, Singh AK, Singh I: Lovastatin treatment decreases mononuclear cell infiltration into the CNS of Lewis rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurosci Res*. 2001 Oct 15;66(2):155-162
- 120) Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Goritz C, Muller EC, Otto A, Pfrieder FW: CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science*. 2001 Nov 9;294(5545):1354-1357.
- 121) Wolozin B: Cholesterol, statins and dementia. *Curr Opin Lipidol* 2004;15:667-672.
- 122) Undas A, Brozek J, Musial J: Anti-inflammatory and antitrombotic effects of statins in the management of coronary artery disease. *Clin Lab* 2002; 48(5-6):287-96.
- 123) Gotto AM Jr: Statins and C-reactive protein: considering a novel marker of cardiovascular risk. *Prev Cardiol* 2002; 5(4):200-3.
- 124) Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO: Clinical biology of nitric oxide. *British Journal of Surgery* 82:1598-1610, 1995.
- 125) Lincoln J, Hoyle CHV, Burnstock G: Nitric oxide in health and disease. Cambridge University Press. United Kingdom, 1997.

- 126) MacMicking J, Xie Q, Nathan C: Nitric oxide and macrophage function. *Annual Reviews of Immunology* 15:323-350, 1997.
- 127) Gukovskaya A, Pandol S: Nitric oxide production regulates cGMP formation and calcium influx in pancreatic acinar cells *American Journal of Physiology* 266:G350-G356, 1994.
- 128) Moncada S, Higgs A: The L-arginine-nitric oxide pathway. *New England Journal of Medicine* 30:2002-2012, 1993.
- 129) Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB: Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Molecular Aspects of Medicine* 19:221-357, 1998.
- 130) Kalff JC, Carlos TM, Schraut WH: Surgically induced leukocytic infiltrates within the rat intestinal muscularis mediate postoperative ileus. *Gastroenterology* 117:378-387, 1999.
- 131) Kuo PC, Schroeder RA: The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Annals of Surgery* 221:220-236, 1995.
- 132) Tamir S, Tannenbaum SR: The role of nitric oxide in the carcinogenic process. *Biochimica et Biophysica Acta* 1288:31-36, 1996.
- 133) Taylor DE, Kantrow SP, Piantadosi CA: Mitochondrial respiration after sepsis and prolonged hypoxia. *American Journal of Physiology* 275:L139-L144, 1998.
- 134) Lai YK, Lee WC, Hu CH: The mitochondria are recognition organelles of cell stress. *Journal of Surgical Research* 62:90-94, 1996.
- 135) Lloyd-Jones DM, Bloch KD: The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med* 1996; 47: 365-75.
- 136) Klebanoff SJ: Oxygen metabolites from phagocytes. In: Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R, eds. *Inflammation: Basic principles and clinical correlates*. New York: Raven. 1992: 541-88.

- 137) Garthwaite J: Glutamate nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci* 1991; 14: 60-7.
- 138) Garthwaite J, Boulton CL: Nitric oxide signalling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 683-706.
- 139) Gillespie JS, Lyu X, Martin W: The neurotransmitter of the non-adrenergic non-cholinergic inhibitory nerves to smooth muscle of the genital system. In: Moncada S, Higgs EA, eds. *Nitric oxide from L-arginine: A bioregulatory system*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher BV, 1990:147-64.
- 140) Olesen J, Thomsen LL, Iversen H: Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trend Pharmacol Sci (England)* 1994; 15 (5):149-53.
- 141) Dawson TM, Snyder SH: Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci* 1994; 14: 5147-59.
- 142) Dawson TM, Dawson VL: Nitric oxide: actions and pathological roles. *Neuroscientist* 1995; 1: 7-18.
- 143) Meldrum B, Garthwaite J: Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11: 379-87.
- 144) Dawson VL, Dawson TM, Uhl GR: Human immunodeficiency virus type 1 coat protein neurotoxicity mediated by nitric oxide in primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 3256-59.
- 145) Oury TD, Ho YS, Piantadosi CA, Crapo JD: Extracellular superoxide dismutase, nitric oxide, and central nervous system O₂ toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9715-19.
- 146) Merrill JE, Ignarro LJ, Sherman MP, Melinek J, Lane TE: Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J Immunol* 1993; 151: 2132-41.
- 147) Tarlov IM: Acute spinal cord compression in paralysis. *J Neurosurg* 1972; 36:10-20

- 148) Okhawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95:351-358, 1979
- 149) Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M: Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 135:372-376, 1979
- 150) Aykaç, G.; Uysal, M.; Yalçın, A.S.; Koçer- Tokat, N.; Sivas, A.; Öz, H: The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathion peroxidase and glutathione transverse in rats. *Toxicology* 36: 71- 76;1985
- 151) Miranda, K.M.;Espey,M.G.;Wing, D.A: A rapid,siple spectrophotometric methot for simultaneus detection of nitrat and nitrit. *Nitric Oxide Biol. Chem.* 5:62-71;2001
- 152) Lazdunski LL, Heurteaux C. Vaillani N. Widmann C, Lazdunski M: Riluzole Prevents Ischemic Spinal Cord Injury Caused By Aortic Cross damping. *The J Thoracic Cardiovascular Surg.* 1999;117:881-89
- 153) Breckwoldt Wl, Genco CM. Connoly RJ, Cleveland RJ. Diehi Jt: Spinal Cord Protection During Aortic Occlusion: Efficacy of Itrathecil Tetracaine. *Ann Thorac Surg*, 1992;51:959-963.
- 154) Lips J. B.S.. De Haan P.. Bodevvits P. Vanicky I, et all: Neuroprotective Effects of Riluzolo and Ketamine During Transient Spinal Cord Ischemia in the Rabbit. *Anesthesiology*. 2000: 93:1303-11.
- 155) Sun J, Hirsch D, Svensson G: Spinal Cord Protection by Papaverine and Inirathecil Cooling During Aortic Crossclamping. *The Journal of Cardiovascular Surgery*, 1998;38:838-846
- 156) Farnier M, Davignon J: Current and future treatment of hyperlipidemia: the role of statins. *Am J Cardiol.* 1998 Aug 27;82(4B):3J-10J.
- 157) Maron DJ, Fazio S, Linton MF: Current perspectives on statins. *Circulation*.101(2):207-213, 2000

- 158) Blum CB: Comparison of properties of four inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase *Am J Cardiol*. 1994 May 26;73(14):3D-11D.
- 159) Moghadasian MH: Clinical pharmacology of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Life Sci* 65(13):1329-1337, 1999
- 160) Lea AP, McTavish D: Atorvastatin. A review of its pharmacology and therapeutic potential in the management of hyperlipidaemias. *Drugs* 53(5):828-847, 1997
- 161) Maltz HC, Balog DL, Cheigh JS: Rhabdomyolysis associated with concomitant use of atorvastatin and cyclosporine. *Ann Pharmacother* 33(11):1176-1179, 1999
- 162) Nakad A, Bataille L, Hamoir V, Sempoux C, Horsmans Y: Atorvastatin-induced acute hepatitis with absence of cross-toxicity with simvastatin. *Lancet* 353(9166):1763-1764, 1999
- 163) Delsing DJ, Jukema JW, van de Wiel MA, Emeis JJ, van der Laarse A, Havekes LM, Princen HM: Differential effects of amlodipine and atorvastatin treatment and their combination on atherosclerosis in ApoE*3-Leiden transgenic mice. *J Cardiovasc Pharmacol* 42(1):63-70, 2003
- 164) Gueler F, Rong S, Park JK, Fiebeler A, Menne J, Elger M, Mueller DN, Hampich F, Dechend R, Kunter U, Luft FC, Haller H: Postischemic acute renal failure is reduced by short-term statin treatment in a rat model. *J Am Soc Nephrol* 13(9):2288-2298, 2002
- 165) Laufs U, Gertz K, Huang P, Nickenig G, Bohm M, Dirnagl U, Endres M: Atorvastatin upregulates type III nitric oxide synthase in thrombocytes, decreases platelet activation, and protects from cerebral ischemia in normocholesterolemic mice. *Stroke* 31(10):2442-2449, 2000
- 166) Lefer AM, Scalia R, Lefer DJ: Vascular effects of HMG CoA-reductase inhibitors (statins) unrelated to cholesterol lowering: new concepts for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 49(2):281-287, 2001

- 167) Liang M, Knox FG: Production and functional roles of nitric oxide in the proximal tubule. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278(5):1117-1124, 2000
- 168) Ling H, Edelstein C, Gengaro P, Meng X, Lucia S, Knotek M, Wangsiripaisan A, Shi Y, Schrier R: Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol* 277(3 Pt 2): 383-390, 1999
- 169) Jorge PA, Osaki MR, de Almeida E: Rapid reversal of endothelial dysfunction in hypercholesterolaemic rabbits treated with simvastatin and pravastatin. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24(12):948-953, 1997
- 170) Franzoni F, Quinones-Galvan A, Regoli F, Ferrannini E, Galetta F: A comparative study of the in vitro antioxidant activity of statins. *Int J Cardiol* 90(2-3):317-321, 2003
- 171) Amin-Hanjani S, Stagliano NE, Yamada M, Huang PL, Liao JK, Moskowitz MA: Mevastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, reduces stroke damage and upregulates endothelial nitric oxide synthase in mice. *Stroke* 32(4):980-986, 2001
- 172) Neuhaus O, Stüve O, Zamvil SS, Hartug HP: Are statins a treatment option for multiple sclerosis? *Lancet Neurol* 2004;3:369-371
- 173) Shishehbor MH, Brennan ML, Aviles RJ, Fu X, Penn MS, Sprecher DL, Hazen SL: Statins promote potent systemic antioxidant effects through specific inflammatory pathways. *Circulation* 108(4):426-431, 2003
- 174) Gertz K, Laufs U, Lindauer U, Nickenig G, Böhm M, Dirnagl U, Endres M: Withdrawal of statin treatment abrogates stroke protection in mice. *Stroke* 34(2):551-557, 2003
- 175) Freeman DJ, Norrie J, Sattar N, Neely RD, Cobbe SM, Ford I, Isles C, Lorimer AR, Macfarlane PW, McKillop JH, Packard CJ, Shepherd J, Gaw A: Pravastatin and the development of diabetes mellitus: evidence for a protective treatment effect in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 103(3):357-362, 2001

- 176) Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F: Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat. Med.* 2000;Dec;6(12):1399-402
- 177) Youssef S, Stuve o, Patorroyo JC, Ruiz PJ, Radosovic JL, Hur EM, Bravo M, Mitchel DJ, Raymond AS, Steinman L, Zamvil S: The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune disease. *Nature* 2002;420:78-84.
- 178) Vaughan CJ, Delanty Nitrik Oksid: Neuroprotective properties of statins in cerebral ischemia and stroke. *Stroke.* 1999 Sep;30(9):1969-73. Comment in: *Stroke.* 2000 Apr;31(4):989-90.
- 179) Romano M, Diomedede L, Sironi M, Massimiliano L, Sottocorno M, Polentarutti N, Guglielmotti A, Albani D, Bruno A, Fruscella P, Salmona M, Vecchi A, Pinza M, Mantovani A: Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. *Lab Invest.* 2000 Jul;80(7):1095-1100.
- 180) Weitz-Schmidt G, Welzenbach K, Brinkmann V, Kamata T, Kallen J, Bruns C, Cottens S, Takada Y, Hommel U: Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nature Med* 2001;6(7): 687-692.
- 181) Weitz-Schmidt G: Statins as anti-inflammatory agents. *Trends Pharmacol Sci.* 2002Oct;23(10):482-486)
- 182) Bellocchia S, Via D, Canavesi M, Pfister P, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F: HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998;Nov 18:1671–1678.
- 183) Ganne F., Vasse M., Beaudoux J. L., Peynet J., Francois A., Mishal Z. Chartier A, Tobelem G, Vannier JP, Soria J, Soria C: Cerivastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, inhibits urokinase/urokinase-receptor expression and MMP-9 secretion by peripheral blood monocytes--a possible protective mechanism against

- 184) Aktas O, Waiczies S, Smorodchenko A, Dorr J, Seeger B, Prozorovski T, Sallach S, Endres M, Brocke S, Nitsch R, Zipp F: Treatment of relapsing paralysis in experimental encephalomyelitis by targeting Th1 cells through atorvastatin. *J Exp Med.* 2003 Mar 17;197(6):725-33.
- 185) Strandberg TE, Vanhanen H, Tikkanen MJ: Effect of statins on C-reactive protein in patients with coronary artery disease. *Lancet* 353(9147):118-119, 1999
- 186) Anderson DK, Hail ED: Pathophysiology of spinal cord trauma. *Annals of Emergency medicine* 22(June): 987-992, 1993
- 187) Akkuş f: Antioksidan Savunma Sistemleri. Serbest Radikaller ve Fizyolojik etkileri, pp 42-74, Konya, 1995
- 188) Halat G, Chavko M, Lukacova N, Kluchova D, Marsala J: Effect of partial isehemia on phospholipids and postischemic lipid peroxidation in rabbit spinal cord. *Neurochem. Res.* 14(11): 1089–1097, 1988
- 189) Koller PT, Bergmann SR: Reduction of lipid peroxidation in reperfused isolated rabbit hearts by diltiazem. *Circulation Research* 65; 838–846, 1989
- 190) Tamir S, Tannenbaum SR: The role of nitric oxid(NO) in the carcinogenic process. *Biochim Biophys Acta* 1996;1288:F31-6.
- 191) Gueler F, Rong S, Park JK, Fiebeler A, Menne J, Elger M, Mueller DN, Hampich F, Dechend R, Kunter U, Luft FC, Haller H: Postischemic acute renal failure is reduced by short-term statin treatment in a rat model. *J Am Soc Nephrol* 13(9):2288-2298, 2002
- 192) Liang M, Knox FG: Production and functional roles of nitric oxide in the proximal tubule. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278(5):1117-1124, 2000
- 193) Ling H, Edelstein C, Gengaro P, Meng X, Lucia S, Knotek M, Wangsiripaisan A, Shi Y, Schrier R: Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol* 277(3 Pt 2): 383-390, 1999

- 194) Berguer R, Porto J, Fedoronko BS, et al: Selective deep hypothermia of the spinal cord prevents paraplegia after aortic cross-clamping in the dog model. Journal of Vascular Surgery 1992; 15: 62-72
- 195) Mutch WAC, Graham MR, Halliday WC, et al: Paraplegia following thoracic aortic cross-clamping in dogs. No difference in neurological outcome with a barbiturate versus isoflurane. Stroke 1993; 24:1554-60
- 196) Mutch WA. Graham MR, Halliday WC, et al: Use of neuroanesthesia adjuncts (hyperventilation and mannitol administration) improves neurological outcome after thoracic aortic cross-clamping in dogs. Stroke 1993; 24:1204-11
- 197) Salzano RP, EHison LH AJtonji PF, et al: Regional deep hypothermia of the spinal cord protects against ischemic injury during thoracic aortic cross-clamping. Annals of Thoracic Surgery 1994; 57: 65-71
- 198) Simpson JL, Eide TR, Scnff GA, et al: Effect of nitroglycerin on spinal cord ischemia after thoracic aortic cross-clamping. Annals of Thoracic Surgery 1996;61:113-7

EK

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

22/12/2004

SAYI: B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/ 078-17447

KONU:

Sayın

Prof.Dr. Şükrü AYKOL
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-04.045 kod numaralı ve “*Deneysel spinal kord iskemi-reperfüzyon yaralanmasında atorvastatinin etkileri*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanmıştır.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

I certify that the research project numbered G.Ü.ET-04.045 and entitled “*The effects of atorvastatin on experimental spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits.*” is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı

