



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

**RATLARDA DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMASI
SONRASI KULLANILAN PREGABALİN ETKEN MADDELİ
İLACIN ADNP (AKTİVİTE BAĞIMLI NÖROPROTEKTİF
FAKTÖR) ÜZERİNDEN NÖROPROTEKTİF ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hasan İDİZ

Antalya, 2017



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

**RATLARDA DENEYSEL SPİNAL KORD YARALANMASI
SONRASI KULLANILAN PREGABALİN ETKEN MADDELİ
İLACIN ADNP (AKTİVİTE BAĞIMLI NÖROPROTEKTİF
FAKTÖR) ÜZERİNDEN NÖROPROTEKTİF ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hasan İDİZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat ALTAŞ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2017

TEŐEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalındaki uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen saygıdeğer hocalarım; Prof.Dr. M. Recai TUNCER, Prof.Dr. M. Saim KAZAN, Prof.Dr. Sabri Cem AÇIKBAŐ, Prof.Dr. Tanju UÇAR, Prof.Dr. Mahmut AKYÜZ, Doç.Dr. Murat ALTAŞ ve Doç.Dr. Ethem Taner GÖKSU ve kıdemlilerim Dr. Hakan ÇAKIN, Dr. Osman BÜYÜKBIÇAK, Dr. Murat ARSLAN'a, Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı hocalarım Prof.Dr. Necmiye HADİMİOĞLU ve Prof.Dr. Neval BOZTUĐ UZ'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık tezimin Biyokimyasal ve Histolojik çalışma kısımlarında emeği geçen Prof.Dr. Necdet DEMİR ve Yrd.Doç.Dr. İkbal ÖZEN'e ve Deney Hayvanları Laboratuvarında görevli olan Vet.Hk. Doğa BESNE ve Sağlık Teknikeri Erol NİZAMOĞLU'na teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kısaltmalar Dizini	iv
Tablolar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Omurilik Embriyolojisi	4
2.2. Omurilik Anatomisi	6
2.3. Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi	16
2.4. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi	19
2.5. Spinal Kord Yaralanması Epidemiyolojisi	25
2.6. Spinal Kord Yaralanmasında Farmakolojik Tedavi	26
3. GEREÇ, YÖNTEM VE BULGULAR	28
3.1. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi	31
3.2. Gruplar ve Kilo Kayıtlarının Karşılaştırılması	32
3.3. Gruplar ve Eğik Düzlem Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması	33
3.4. Gruplara Göre Motor Fonksiyon Değerlendirilmesi	35
3.5. Histolojik Parametreler	36
4. TARTIŞMA	46
5. SONUÇ ve ÖNERİ	50
6. ÖZET	51
7. ABSTRACT	53
8. KAYNAKLAR	55

KISALTMALAR DİZİNİ

ADNP	Aktivite Bağımlı Nöroprotektör Protein
BMP-4	Bazal Membran Protein-4
Ca	Kalsiyum
CAM	Sellüler Adezyon Molekülü
EAA	Eksitator Amino Asit
GABA	Gama Amino Butirik Asit
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HNF-3b	Hepatic Nuclear Factor-3b
İL-β	İnterlökin - Beta
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
N-CAM	N-Sellüler Adezyon Molekülü
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör – Alfa
VIP	Vazoaktif İntestinal Peptid

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Gruplar ve kilo kayıpları (%) karşılaştırılması	32
3.2. Gruplar ve eğik düzlem testi sonuçlarının karşılaştırılması	33
3.3. İşlem görmüş gruplar ve eğik düzlem testi sonuçlarının karşılaştırılması	34
3.4. Gruplara göre motor fonksiyon değerlendirilmesi	35
3.5. İşlem görmüş gruplara göre motor fonksiyon değerlendirilmesi	35
3.6. Nöron sayıları datalarının istatistiksel değerleri	39
3.7. Glia sayıları datalarının istatistiksel değerleri	41
3.8. Gruplarda total hücre içerisinde nöron oranı (%) datalarının istatistiksel değerleri	42
3.9. Gruplara ait ortalama absorbens değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. İmplantasyonun 6.-7. günleri	4
2.2. İmplantasyonun 7.-8. günleri	4
2.3. Nöral tüp oluşumu	5
2.4. Nöral krest, nöral tüp ve notokord yapıları	6
2.5. Nöral plak, endoderm, mesoderm ve ektoderm yapıları	6
2.6. Medulla spinalis başlangıç, bitiş seviyeleri, lumber ve servikal genişleme seviyeleri, sinirlerin çıkış seviyeleri ve vertebral kemik ile ilişkisi	7
2.7. Spinal kord servikal torakal, lumber seviyeleri, servikal ve lumber lordoz, torakal kifoz ve meningeal yapılar	8
2.8. Servikal kord transvers kesiti	10
2.9. Servikal kesitte görülen yapılar	11
2.10. Torasik kesitte görülen yapılar	12
2.11. Lumber kesitte görülen yapılar	12
2.12. Sakral kesitte görülen yapılar	13
2.13. Spinal kord vasküler yapının şematik çizimi	14
2.14. Spinal kord vasküler yapının şematik çizimi	16
2.15. Edwin Smith cerrahi papirüs dökümanı	17
2.16. Hipokrat tarafından tarif edilmiş traksiyon temsili resim	18
3.1. Eğik düzlem kıyaslanma sonuç grafiği	34
3.2. Motor fonksiyon açısından grupların kıyaslanmasını gösteren grafik	36

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
3.3.	Tüm gruplarda histolojik değerlendirme için yapılan HE boyamaları	38
3.4.	Gruplarda nöron sayısı ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesini gösteren grafik	40
3.5.	Gruplarda glia sayısı ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesini gösteren grafik	40
3.6.	Gruplarda total hücre içinde nöron oranı (%) ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesini gösteren grafik	41
3.7.	Tüm gruplarda ADNP immünohistokimyasal boyaması	43
3.8.	Gruplara ait ortalama absorbans değerlerine bağlı oluşturulan grafik	44

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde omurilik yaralanması endüstrileşmiş ya da ülkemiz gibi endüstrileşmekte olan ülkelerde, genç, çalışan ve üreten nüfusun önde gelen ölüm ve sakat kalma nedenlerinden bir tanesidir. Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan çalışmalarda her yıl 10-12 bin yeni spinal kord yaralanması vakası gelişmektedir (1).

Spinal kord yaralanmalarının yarısından fazlası servikal bölgede gelişmektedir. Motorlu araç kazaları (%36-48), düşme (%17-21), şiddet (%5-29), eğlence etkinlikleri (%7-16). Sıklıkla 15-25 yaş arası popülasyonda oluşmaktadır. Ortalama yaş 31,7 olarak saptanmıştır. Bunların %70-75'ini erkekler oluşturmaktadır (2). Etkilenen bireyde motor, duyu ve otonomik fonksiyonlarda değişiklikler görülmektedir. Spinal yaralanması geçiren bir bireyin yaşam boyu tedavi maliyeti 500-2.000.000 USD arasında değişmektedir. Amerika Birleşik Devletlerindeki bir yıllık spinal kord yaralanması gelişen tüm bireylerin tedavi masrafları 7 milyar doların üzerindedir (2). Yaralanma şiddetine göre mortalite ve morbidite oluşturma dışında, hem iş kaybı, hem de psikososyal olumsuz etkileri olabilmektedir (3). Spinal kord yaralanması primer ve sekonder şekilde iki tipe ayrılmıştır.

Primer spinal kord yaralanması: Önceden bilinmeyen, hesap edilemeyen ve şiddeti değiştirilemeyen mekanik yaralanma şeklidir. Mekanik doku tahribatı sonucu nekrotik hücre ölümü gelişir. Yaralanma şiddeti ve lokalizasyonuna göre maruz kalan birey üzerine olan etkileri, basit bir yaralanma şeklinden ölüme kadar değişkenlik gösterebilir.

Skonder spinal kord yaralanması: Primer spinal kord yaralanması sonrası gelişen patolojik mekanizmalar yumağından oluşur. Bu süreçte gelişen ve morbidite üzerine önemli derecede olumsuz etkisi olan bu patolojik mekanizmalar zinciri, uygulanan tedavi protokollerinin, yeni yapılan ve yapılmakta olan araştırmaların asıl ve en önemli hedefi konumundadır. Etkilenen bireyin morbidite durumunu minimale indirmenin de bu patolojik süreçte rol alan mekanizmaların tam çözümüne bağlanmaktadır. Bununla birlikte, spinal kord yaralanması sonrası tam tedavi edici yöntem yoktur (3,4). Etkilenen bireyin morbidite durumunu minimale indirmenin de bu patolojik süreçte rol alan mekanizmaların tam çözümüne bağlanmaktadır. Yapacağımız bu çalışma da sekonder spinal kord yaralanmasında aktifleşen bu patolojik süreç ile ilişkilidir. Primer spinal kord yaralanması sonrası gelişen patolojik süreçte kanlanma azalması, iskemi, ödem, ATP bağımlı kanalların devre dışı kalması, hücre içi ve dışı elektrolit dengelerinin bozulması,

yıkıcı enzimlerin aktiflenmesi, ekzitotoksik aminoasit salınımı, serbest radikallerin oluşması gibi nedenlerle nöronal ölüm gelişebilmektedir (6,7). Nöral yapılar korunduğunda hastanın kliniği olumlu etkilemekte ve dolayısıyla sosyal ve ekonomik olarak, etkilenen birey ve yakınlarından başlayarak tüm toplumu olumlu etkilemektedir. Bunun önemini bilerek her araştırmanın gizemli kalan bir mekanizmanın bir parçasına ışık tutacağını düşünüyoruz.

ADNP (aktivite bağımlı noroprotektif faktör): Glial hücreler tarafından salgılanan bir proteindir. Hem santral hem de perik nöral yapılara yaygın bir şekilde yayılmıştır.

Yapılan çalışmalarda VİP (vazoaktif intestinal peptid) tarafından indüklendiği ve noroprotektif etkinlik gösterdiği saptanmıştır (7). Özellikle elektron blokasyonu nedeniyle gelişen nöral hücre ölümüne karşı koruyucu bir faktör olduğu saptanmıştır.

Yapılan araştırmalarda;

İn vitro olarak:

- 1) gp 120 (HIV'de nörotoksisite geliştiren protein)
- 2) N-Metil-D-Aspartat (eksitotoksisite oluşturur)
- 3) B-Amiloid protein (Alzheimer sebebi) gibi yapılara karşı nöron koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (8).

İn vivo olarak:

- 1) HIV+ anne çocuklarında intruterin gp 120 proteinin toksik etkilerine karşı koruyucu olduğu saptanmıştır (9).
- 2) Serebral palsi tanısı alan yenidoğan hasta grubunda, İbotenate eksitotoksitesine karşı intraserebral ADNP verilmesinin nöral koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (10).
- 3) ApoE (Apolipoprotein E) Alzheimer hastlığı için bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Günlük olarak subkutan yolla ADNP verilmesi sonrası nöroprotektif etki gösterdiği saptanmıştır (11).

Pregabalin: Yapısal olarak GABA (Gama Amino Butirik Asit)'e benzemektedir. Ancak GABA reseptörlerine bağlanmaz. Voltaj bağımlı Ca kanallarının α_2 delta subünitlerine bağlanarak etki eder. Glutamat ve noradrenalin salınımını azaltıcı etki eder. Nöropatik ağrı ve epilepsi başlıca kullanım alanıdır (12,13,14).

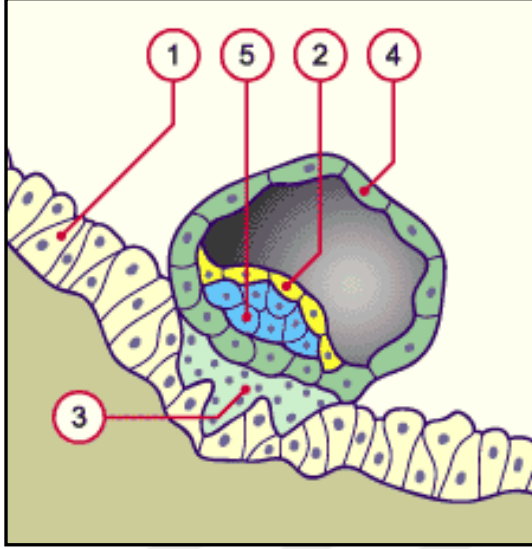
Spinal kord yaralanması tedavisinde kullanılan yüzlerce medikasyon tipi mevcuttur. Kullanılardan biri olan Pregabalin etken maddeli farmakolojik ajanın ADNP (aktivite bağımlı nöroprotektif faktör) üzerinden nöroprotektif etkisi değerlendirilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

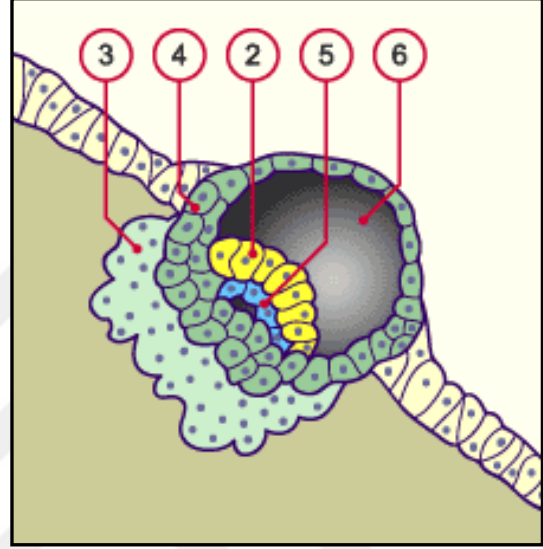
2.1. Omurilik Embriyolojisi

Embriyolojik dönemin 1. haftasının sonuna doğru epiblast ve hipoblast tabakaları gelişir (15,16).



- 1) Epithelium of the uterine endometrium
- 2) Hypoblast
- 3) Syncytiotrophoblast (ST)

Şekil 2.1. İmplantasyonun 6.-7. günleri.



- 4) Cytotrophoblast (CT)
- 5) Epiblast
- 6) Blastocyst cavity

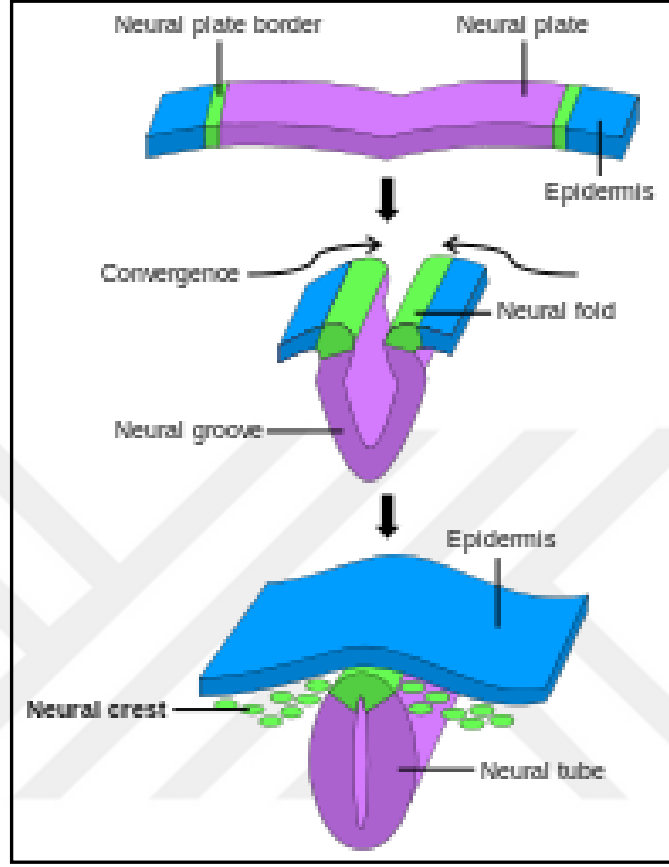
Şekil 2.2. İmplantasyonun 7.-8. günleri.

2. haftada epiblast hücreleri ucunda Hensen düğümü olan ilkel bir yarık oluşturur. Daha sonra gastrulasyon dönemi başlar. Gastrulasyon ile ektoderm, mezoderm, endoderm oluşur (17).

Gastrulasyon döneminde dorsal ektoderm BMP-4 salgılayarak dorsal ektodermin nöral dokuları oluşturmasını engellemektedir (18). İntrauterin gelişiminin 3. haftasında HNF-3b (hepatic nuclear factor-3b) etkisi ile notokordu oluşturan hücreler nöral indükleyici moleküller olan noggin ve kordini salgılayarak BMP-4'ün etkisini bloke ederek yüzey ektodermin uyarılmasını sağlar.

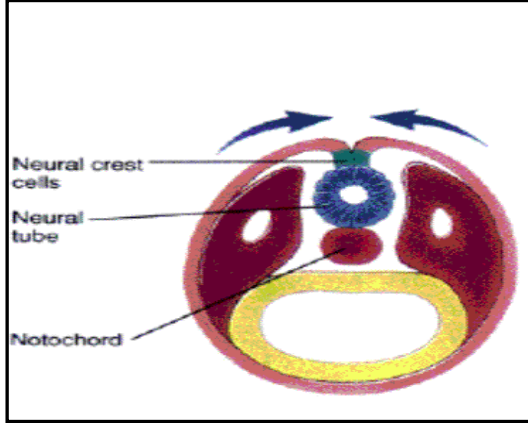
Ektoderm hücreleri nöral ve cilt ektodermi olarak ikiye ayrılır. Notokordun indükleyici etkisi ile yüzey ektoderm oluşturan hücrelerin içinde aktin ve myozin liflerinin kasılmasıyla nöral plak çukurlaşır ve nöral oluk dediğimiz yapı oluşur. Nöral

oluk kenarları karşılıklı gelir ve fibronektin ile uçlar birleşerek nöral tüp oluşmuş olur. Buna primer nörolasyon denir (19-22).

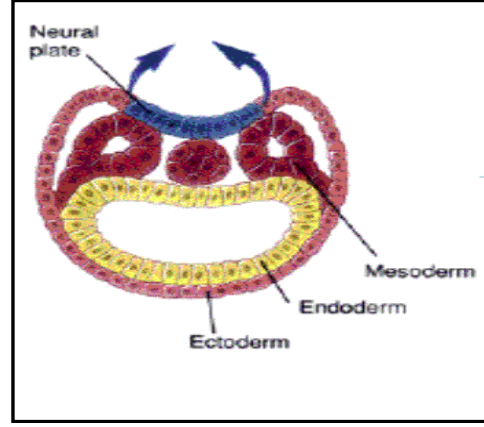


Şekil 2.3. Nöral tüp oluşumu.

Oluşan tüpün iki ucu açık olup öndeki açıklığa anterior nöropor, gebeliğin 24. - 25. gününde kapanır. Arkadaki açıklığı posterior nöropor olarak adlandırılır ve gebeliğin 27. - 28. günlerinde kapanır. Nöral tüp oluşumu 4. embriyolojik haftasının ortalarında tamamlanır. Sonrasında rostral kısımdan farklılaşarak beyin ve beyinciği, nöral tüpün 4. Omitinin kaudalinde kalan kısımları ise spinal kordu oluşturacaktır (23).



Şekil 2.4. Nöral krest, nöral tüp ve notokord yapıları.



Şekil 2.5. Nöral plak, endoderm, mesoderm ve ektoderm yapıları.

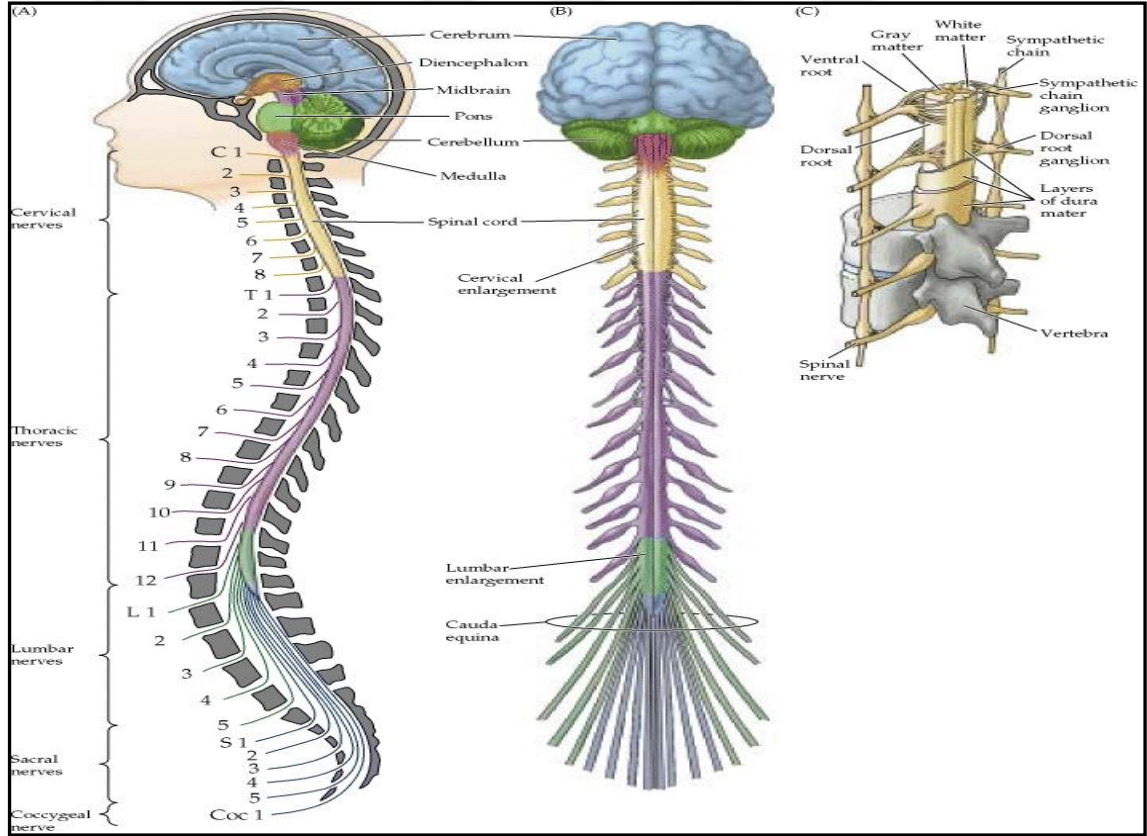
Spinal kordun ana hatları ile oluşurken, çevredeki mezodermden nöral tüp çevresine hücreler göç edip farklılaşarak, spinal kanalın ve kordun iç yan yüzünde longitudinal uzanarak sulkus limitans oluşturur. Bu sulkusun önünde kalan kısım bazal plate, arkasındaki kısım ise alar plate olarak adlandırılır (24). Ön kısımdan motor sinir hücreleri, posteriorndan ise duyu sinir hücreleri gelişir. Bu oluşan yapı farklılaşarak, gri cevher santral kanalın etrafını, dış kısmında ise ak cevher oluşur. Nöral tüpün distalindeki kaudal hücre kütleleri kuyruk şeklinde uzanır. Bu oluşum gerçekleşirken çok sayıda lümen ve epandimal topluluklar filum terminale içinde organize olurlar ve distal konuş medullaris meydana gelir. Bu kabaca oluşan distal spinal kord, 38. günde kaudal nöral tüpün lümeninde azalma yani retrogresif diferensiyasyon ile distal konuş medullaris, filum terminaleyi ve santral kanalın son halini almasına neden olur (20). Nöral tüp ile yüzey ektodermi arasında yassı düzensiz bir kitle olan nöral kristayı oluşturur (25). Çeşitli yönlere doğru göç eden nöral krista hücreleri mezenşim içinde dağılırlar. Çeşitli hücre ve dokulara farklılaşarak, spinal ve kranial sinirlerin duyu ganglionlarını ve otonom sinir sistemi ganglionlarını oluştururlar (26). Spinal kordun distal kısımları sekonder nörolasyon ile oluşurlar (26, 27).

2.2. Omurilik Anatomisi

Medulla oblongatanın devamı olarak diğer bir tanımla atlasın üst kenarından başlar ve en ucunda konuş medullaris ile sonlanır. Erişkin uzunluğu yaklaşık 40 - 50 cm uzunluğunda ve 1 - 1,5 cm çapında ve ortalama 30 gram ağırlığındadır (28, 29). İntrauterin 3. aya kadar medulla spinalis uzunluğu vertebral kanal uzunluğuna eşittir.

Daha sonra vertebral kolumn spinal korda göre daha hızlı uzar. Doğum sırasında spinal kordun sonlanması L3 seviyesinde iken, erişkinde L1 - L2 vertebrae arasında sonlanır. Conus medullarisin altında lumbosakral köklerden oluşan kauda equina vardır. Conus medullaris en alt ucundan filum terminale ile coccyx'e bağlanır.

Spinal kord servikal 8, torakal 12, lomber 5, sakral 5, koksigeal 1 olmak üzere toplam 31 segmentten oluşur. Her segmentten 2 sinir çıkar. Spinal kord'da servikal (C3) ve torakal (T2) vertebrae diğer tanımla servikal (c5) - torakal (t1) spinal segmentleri arasında ve lomber (L2) ve sakral (S3) segmentleri arasında daha çok sinir hücreleri barındırma amaçlı çap genişlemesi görülür. Bunlar intumescentia servicalis (üst ekstremiteleri innerve eden nöronlar taşır) ve intumescentia lumbalis (alt ekstremiteleri innerve eden nöronlar taşır) olarak adlandırılır (28, 30).



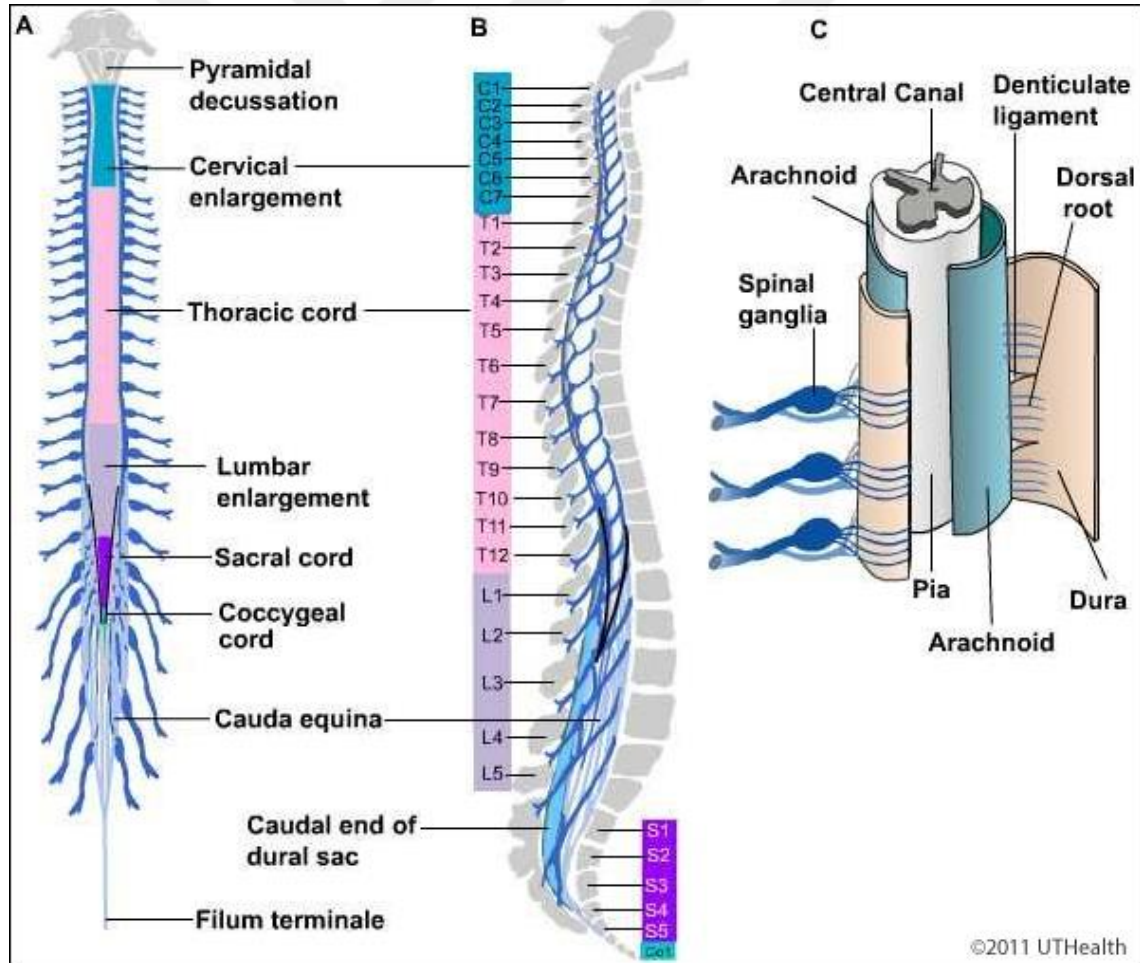
Şekil 2.6. Medulla spinalis başlangıç, bitiş seviyeleri, lomber ve servikal genişleme seviyeleri, sinirlerin çıkış seviyeleri ve vertebral kemik ile ilişkisi.

Spinal kord ile vertebral kolumna ilişkisi (31-34)

<u>Kord segmenti</u>	<u>Vertebra segmenti</u>
C8	C6-C7 arası
T6	T3-T4 arası
T12	T9 seviyesi
L5	T11
Sakral	T12-L1

seviyesine denk gelmektedir. Ancak spinal kökler orijinal intervertebral foramenlerinden çıkar.

C7'ye kadar kök aynı ismi taşıyan vertebranın üzerindeki aralıktan çıkar. C8 kökü C7-T1 aralığından çıkar. Sonraki kökler aynı ismi taşıyan vertebranın altındaki aralıktan çıkar.

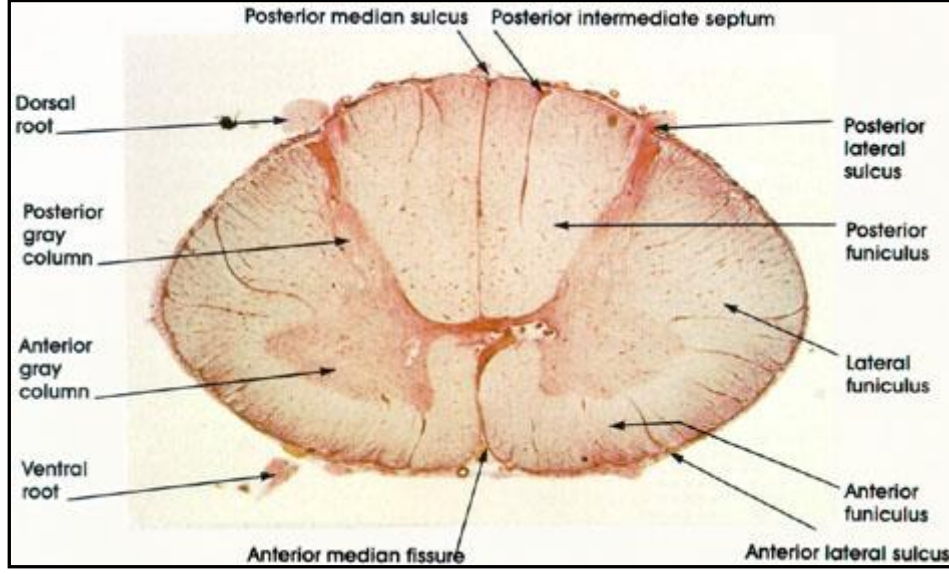


Şekil 2.7. Spinal kord servikal torakal, lomber seviyeleri, servikal ve lomber lordoz, torakal kifoz ve meningeal yapılar.

Spinal kordun dış yapısı: Spinal kanalda etrafı yağ dokusuyla çevrili fibröz yapılı dural bir kese içerisinde bulunur. Dura mater sinir köklerini de sarar, sakral (S2) alt sınırında sonlanır. Dura altında araknoid mater ve bunun altında da subaraknoid boşluk vardır. En içte kordu pia mater sarar (35). Piamater konus medullaristen (L2 seviyesinde) sakral (S2) seviyesine kadar filum terminale internum, buradan koksiks (C2) seviyesine kadar filum terminale ekstremum olarak adlandırılır. Her bir spinal kord segmentinden bilateral biri ön ve biri arka olmak üzere toplam 2 çift spinal kök çıkar. Her tarafın ventral ve posterior kökleri birleşerek spinal sinirleri oluşturur. Sonuçta her segmentten bir çift olmak üzere 31 çift spinal sinir çıkar.

Ön kökler ventral olarak spinal kordtan çıkan motor akson içeren sinir liflerinden oluşur (afferent akson). Arka kökler dorsal rot ganglionlardan spinal kordun dorsal hornuna duyuşal bilgi taşıyan aksonlardan oluşur (efferent akson). Ön ve arka kökler vertebra kolumna dışında birleşerek spinal siniri oluştururlar. Birleşmeden önce arka kökte bir kabarıklık görülür. Bu duyuşal hücre gövdelerini barındıran dorsal kök ganglionudur. Sisteme ait preganglionik lifler T1-L2 segmentleri arasında bulunan columna intermediolateralis'ten köken alırlar. Bu lifler ön kökten spinal kordu myelinli olarak terk ederler ve spinal sinirden ramus communicans albus ile ayrılırlar. T1-L2 arası preganglionik lifler daha sonra vertebral kolumnanın hemen önünde paravertebral ganglionlardan oluşan truncus sympathicusu oluştururlar. Truncus sympathicusun servikal bölgede ganglion servikale superior, medius ve inferior (stellatum) olmak üzere 3 ganglionu vardır.

Buradan çıkan postganglionik lifler ise ramus communicans griseus ile myelinsiz olarak tekrar spinal sinire katılırlar. Bazı lifler ise paravertebral ganglionda sinaps yapmadan direkt geçerler ve paravertebral ganglionlarda sinaps yaparlar. Spinal kordun dış yapısı, serebrumun tersine gri cevher içeride beyaz cevher dışarıdadır. Gri cevher kelebek şeklindedir ve genişliği bölgeden bölgeye farklılık gösterir. Ortasında kanalis santralis denen ve ependimom hücreleri ile çevrili beyin omurilik sıvısı ile dolu bir kanal bulunur (28). Bu kanal yukarıda 4. ventriküle açılır. Ön kısımda fissura mediana ventralis denen küçük bir girinti, arka kısımda sulkus mediana dorsalis vardır. Bunlar kordu 2 eşit yarıya bölerler. Transvers kesitte beyaz cevher dorsal – lateral ve ventral olarak 3 ana kolumnadan oluşur. Spinal kord beyaz cevheri beyin ve beyin sapından gelen lifleri barındırır. Bunlar gittikleri bölgelere göre fasikulus veya traktus denen lif demetleri halinde organizedir.



Şekil 2.8. Servikal kord transvers kesiti (Human, Müller's Fluid, Carmine Stain, 8 x).

Dorsal kök: Spinal korda myelinli ve myelinsiz lifler taşır.

Columna grisea posteriori: Gri maddenin uzun ve ince olan posterior kısmıdır. Spinal kord yüzeyine kadar ulaşır. Primer görevi duysal inputlardır.

Columna grisea anterior: Gri cevher anteriorudur, kısa ve geniştir. Motor fonksiyonlarla ilgilenir.

Ventral kök: Somatik motor nöron aksonları ve preganglionik (otonomik) nöron aksonlarından oluşur. Spinal kordun perifere veri akışı ile ilgilidir.

Anterior median fissür: Spinal kord ön orta kısmında ortalama 3 mm derinlikte ve spinal kordun anterior 2/3'ünü besleyen vasküler yapılar (anterior spinal arter) içerir.

Anterior lateral sulkus: Ventral kök çıkış yerinde lokalizedir.

Anterior funikulus: Anterior median fissür ile anterolateral sulkus arasındadır. Asendan desendan traktlar içerir.

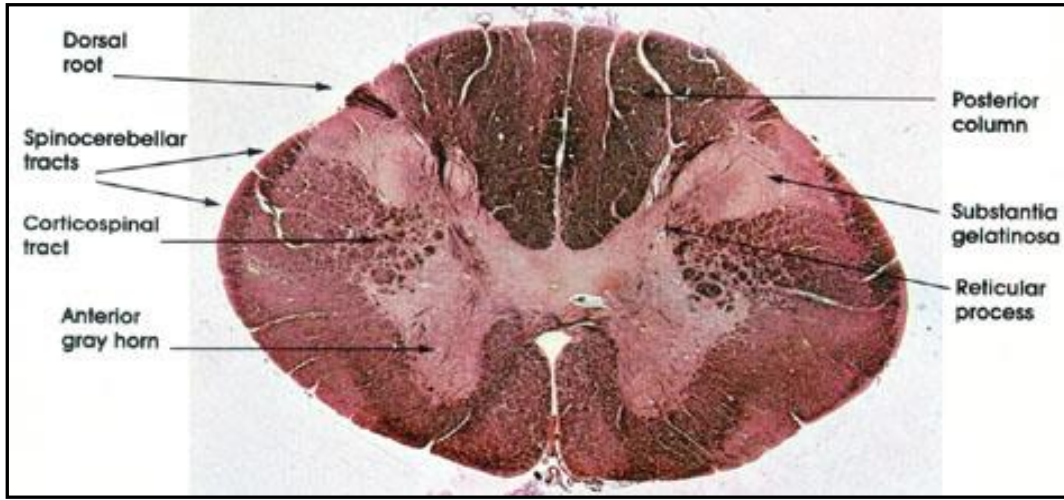
Lateral funikulus: Dorsal ve ventral kökler arasında yerleşiktir. Asendan ve desendan traktlar içerir.

Posterior lateral sulkus: Dorsal kök giriş yerinde bulunur.

Posterior funikulus: Posterior median sulcus ile dorsal kök arasında bulunur. Asendan traktlar içerir.

Posterior intermediate septum: Sadece servikal ve üst torakal segmentlerde bulunur.

Posterior median sulkus: Ortalama 5 mm derinliktedir. Derin yerleşimli gri cevhere kadar ulaşır.



Şekil 2.9. Servikal kesitte görülen yapılar (Human, 10% formalin, Weigert-Carmine, 11 x).

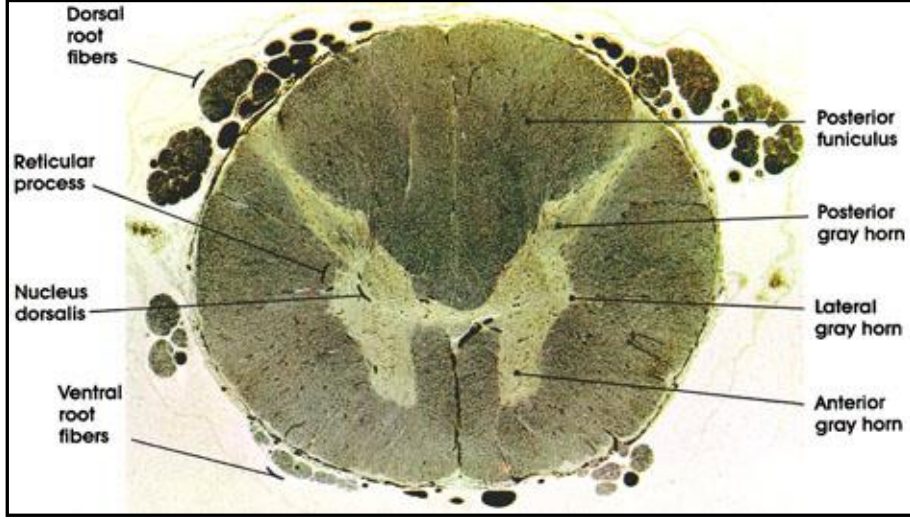
Posterior koloumn: Beyaz cevher posterior median septum ile posterior hornun medial sınırında yerleşiktir. Asendan gracile ve cuneatus traktları oluşturan yoğun myelinize lifler içerir.

Substantia jelinosa: Posterior hornun başına yerleşik şapka benzeri bir yapıdır. Birinci servikal segment ve lumbosakral segmentlerde daha büyük olmak üzere tüm kord segmentleri boyunca mevcuttur. Bu nükleus 6-20 µm çaplarında küçük hücreler içerir. Dorsal köklerden gelen impulsların ilk uğrak yeridir.

Spinocerebellar trakt: Kas, tendon ve eklem yerlerinden aldığı impulsları götürür. Böylece serebellumun iskelet ve kas (postür ve hareket) koordinasyonunu sağlaması sağlanır.

Retiküler proçes: Küçük-orta çaplı hücreler içerir. Komşu anterolateral beyaz kolumna akson gönderir. Aynı zaman da nukleus retikularis olarak da bilinir.

Anterior gri horn: Spinal kordtaki en büyük hücreleri içerir. Bu multipolar nöronlar 20'ye kadar dendrit ve akson içerir. Nöromuskuler ilişkilidir. Motor fonksiyon ilişkilidir.



Şekil 2.10. Torasik kesitte görülen yapılar (Human, Müller's fluid, Weigert's method, 10 x).

Nukleus dorsalis: Posterior hornun tabının medial kısmında yerleşiktir. Servikal (C8) ile torakal (T2) spinal segmentler arasında uzanır. Clarke kolumnu olarak da bilinir. Bu nuklusta dorsal spinoserebellar traktı oluşturan nöronlarla dorsal kök nöronları snaps yapar.

Posterior gri cevher hornu: Spinal kordun posterolateral kısmındaki nöral oluşum. Dorsal kök lifleri alır. Anterior horn hücrelerine, internöron hücrelerine ve asendan traktlara aksonlar gönderir.

Lateral gri cevher hornu: Torakal seviyenin karakteristiğidir. İntermediolateral nukleus tarafından şekillenir. Sempatik sinir sisteminin viseral efferent nöronlarını içerir. Servikal (C8) - lumber (L2-4) arasında uzanır.



Şekil 2.11. Lumber kesitte görülen yapılar (Human, 10% formalin, Well, 8 x).



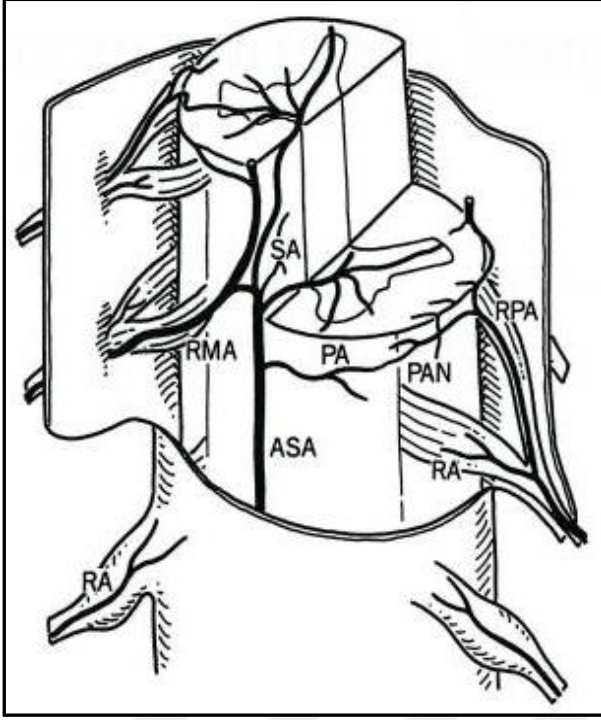
Şekil 2.12. Sakral kesitte görülen yapılar (Human, Müller's fluid, Weigert's method with carmalum stain, 14 x) (35).

Bunun dışında spinal kordun değişik segmentlerini birleştiren veya çaprazlayan liflerde bulunur. Motor ve duysal uyarılar spinal kanal içinde farklı yollarla iletilir. Beyin ile vücudun periferik kısmı arasındaki iletişim spinal traktlarla gerçekleştirilir.

Ascending trakt (çıkan yollar): Bilgiyi beyne taşıırken, descending (inen) traktlar ise alınan bilgiyi perifere iletirler (36).

Spinal kordun arterleri (37, 38, 39)

Vertebro-subklavian arterler ve torakoabdominal aorta arteridir. Bazen de intenal iliak arterden de dallar almaktadır.



Şekil 2.13. Spinal kord vasküler yapının şematik çizimi (ASA, anterior spinal arter; PA, pial artery; PAN, pial arterial bağlantı; PSA, posterior spinal arter; RA, radiküler arter; RPA, radikülopiyal arter; RMA, radikülomeduller arter; SA, sulkal arter) (121).

Spinal arter foramen intervertebrale içerisinde ventral, dorsal ve median olarak 3 dala ayrılır. Ventral ve dorsal dallar dura mater ve vertebral kemiklerin kanlanmasını sağlamak için spinal kanalın anterior ve posterior kısımlarına yayılırlar. Median dal foramende bifurkasyon oluşturarak ön ve arka köklere eşlik eder. Daha sonra radiküler, radikülopiyal veya radikülomeduller arterleri oluşturur (40). Radiküler arter kısadır ve tüm segmentlerde bulunur, radikülopiyal arter spinal kord yüzeyinde seyreder, radikülomeduller arter bir kaç segmenti besler (41, 42).

Spinal kord ekstrinsik kanlanma desteğini anterior spinal arter, posterior spinal arter ve pial bağlantılar sağlar. Anterior spinal arter radikulomeduller dallar verirken, posterior spinal arter ve pial bağlantılar radikülopiyal dallar vermektedir.

Anterior spinal arter baziller arterden filum terminale yekadar anterior aks boyunca longitudinal olarak seyreder. Kaudalde posterior spinal arter ile arteryal ark oluşturmak üzere anastomoz yapar. Pial zarın orta hat yüzeyinde seyreder. Anterior median sulcus içerisinde birçok sulkal dal vermektedir. Lateral dallar ise subpial olarak spinal kordun anterior ve lateral yüzeyinde seyreder.

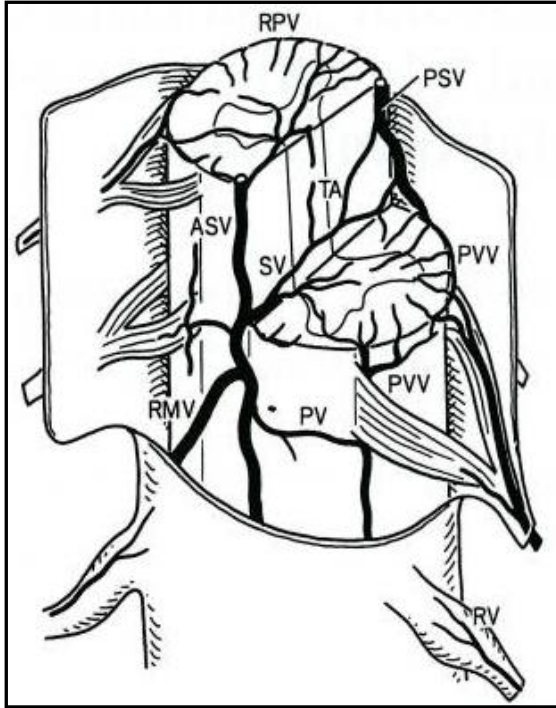
Posterior spinal arter distal vertebral arterden, bazen de PİCA'dan gelişir. Spinal kordun posterolateral yüzeyinde konus medullaris kadar uzanır. Posterior spinal arterler sunaraknoid aralıkta pialın posterior yüzeyinde yerleşir. Pial plexus anterior ve posterior spinal arterlerle çevrili geniş bir ağdan oluşmaktadır. Ayrıca diğer radikülopial arterlerden de beslenmektedir. Spinal kordun intrinsik arterleri santral sulkal arterler ve periferik radial arterlerden oluşmaktadır. Sulkal arterler anterior median sulkus içerisinde seyrederek spinal kordun sağ ya da sol yarısına girer. Spinal korda girmeden önce ascendan ve desendan dallar verir. Bu dallar da aynı taraftaki sulkal arterler ile anastomoz yaparlar. Sulkal arterler anterior gri cevher, posterior gri cevherin anterior kısmını, beyaz koloumnunu iç yapısını besler. Posterior spinal arter ve pial plexustan köken alan perforan arterler beyaz cevhere girerler. Bu arteryal yapılarda posterior gri cevher ve posterior beyaz koloumnunu beslerler.

Spinal kordun venleri

Spinal kordun intrinsik venöz sistemi radial olarak ve simetrik bir şekilde aksial anastomozlarla düzenlenir. Radial perforan venler spinal kordun tümünde hemen hemen eşit olarak dağılmıştır. Spinal kordun yüzeyinde pial venöz bağlantılarla birleşir. Anterior sulkal venler ventral olarak ilerleyerek anterior spinal vene drene olurlar. Posterior sulkal venler posterior median sulcus içinde ilerleyerek posterior spinal vene drene olurlar.

Spinal kordun ekstrinsik venöz drenajı pial venöz pleksus, anterior ve posterior spinal venlerden oluşur. Pial venöz plexus ve koronal venöz pleksus spinal kordun yüzeyinde longitudinal ve aksial anastomozlar yaparlar. Anterior ve posterior spinal venler, spinal kordun ventral ve dorsalinde orta hatta lokalizedir. Anterior spinal ven subpial olarak anterior spinal arterin posteriorunda seyreder. Posterior spinal ven ise orta hat tek ya da posterolateral de iki ya da üçlü kanallar oluşturur. Bu venler subaraknoid mesafede pialın posterior yüzeyinde seyreder.

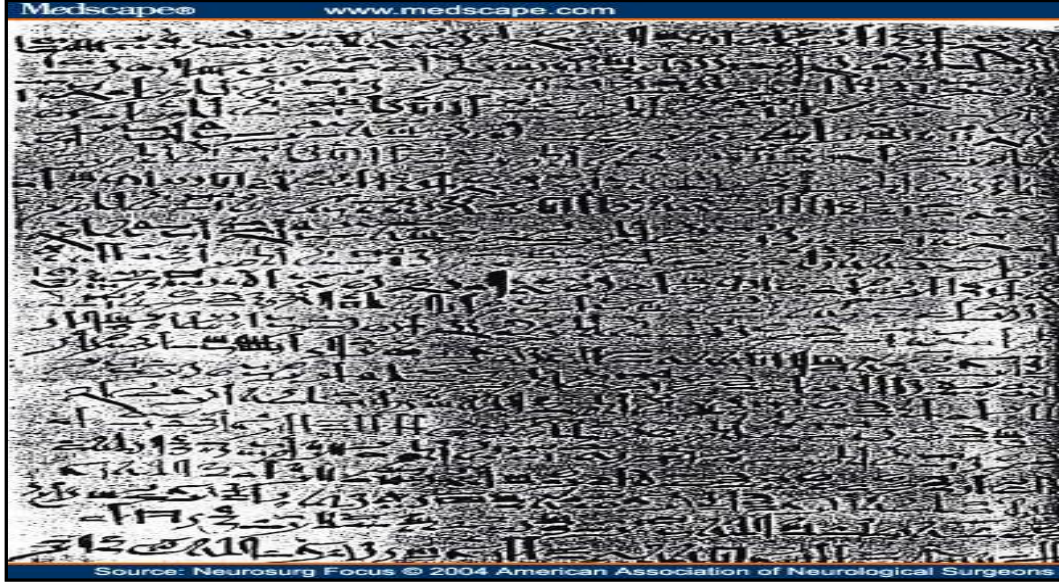
Spinal kanal içindeki yapıların venöz drenajı arteryel yapılara ters yöndedir. Spinal kordun yüzeyini çevreleyen venler radikülomedüller venlere drene olurlar. Arterlerin aksine sinir kökleri ile dural tüpten her zaman çıkmazlar. Foramen intervertebralede radikülomedüller veradiküler venler epidural venlerle birleşirler. Bunun da eksternal venöz pleksus ile segmental bağlantıları vardır. External venöz pleksus, asıl olarak servikal seviyede innominat ven, torakal seviyede azygos ven, lomber bölgede asendan lomber ven ile kaval sisteme dahil olur (43, 44).



Şekil 2.14. Spinal kord vasküler yapının şematik çizimi (ASV, anterior spinal ven; SV, sulkal vein; PSV, posterior spinal ven; PV, pial ven; PVN, pial venöz bağlantı; RPV, radial perforatörven; TA, transmeduller anastomoz; RV, radiküler ven; RMV, radikulomedüller ven) (125).

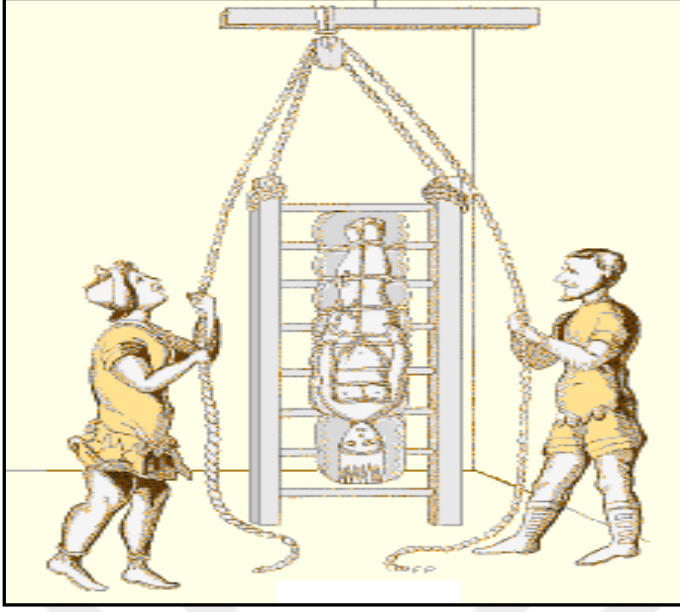
2.3. Omurilik Yaralanmasının Tarihçesi

Spinal kord yaralanması tanı ve tedavisi hakkında çalışmalar antik döneme kadar uzanmaktadır. İlk yazılı belge M.Ö. 3000-2500'lü yıllarda Mısır'da yaşamış astronom, mimar ve aynı zamanda tıp konusunda tanrılaşan İmphotep tarafından yazıldığı düşünülen Edwin Smith cerrahi papirüsüdür (45). Eski tıpta en önemli cerrahi doküman olarak kabul görmektedir (46).



Şekil 2.15. Edwin Smith cerrahi papirüs dökümanı.

Bu papirüsler 48 travma vakası ve o zamanda kullanılan bazı cerrahi enstrumasyonlar tarif edilmiştir. Bu vakalar baş, boyun, üst ekstremiteler, göğüs torakolomber ve sakral travmalar ile ilgilidir. Spinal travma ile ilgili şunu söylemiştir. Travmalı hasta aşağı ve yukarıya doğru bakmasını söyleyin eğer yapamıyorsa bu servikal bölgede bir dislokasyona işaret edebilir. Bu vakalardan 6 tanesi (29 - 31 ve 48. vaka) primer olarak spinal travmalarla ilgilidir. Papirüslerde olgular değerlendirilmiş ve tedavi edilebilecek olgular, tedavi edilmeye çaba gösterilmesi gerekenler ve umutsuz olgular olarak sınıflandırılmıştır. Bu vakalardan iki tanesinde (31 ve 33. vaka) alt ve üst ekstremitelerde motor ve duyu kaybı mevcut olduğunu, bunlardan birinde priapizm ve spontan ejakulasyon olduğunu, barsak distansiyonu geliştiğini kaydetmiş ve bunları tedavi edemeyeceğini yazmış (47-50). Bunlar günümüzde komplet spinal kord tanımına uymaktadır. Hipokrat ve Galen dönemine kadar 1000 yıllık süreçte ise bilgi olarak yeni bir gelişme olmamıştır ya da bu süre zarfındaki bilgiler daha gün ışığına çıkmamıştır. Hipokrat (M.Ö. 400) paraplejiyi tanımlamış, travma sonrası gelişen deformitelerin düzeltilmesi amaçlı traksiyon yöntemini uygulamıştır (51, 52). Aulus Cornelius Celsus (M.Ö. 30) Hipokrat'ın teorilerini savunmuştur, traksiyon cihazları geliştirmiştir. Servikal travma sonrası akut solunum zorluğu ve ani ölüm gelişebileceğini bildirmiştir (53, 54).



Şekil 2.16. Hipokrat tarafından tarif edilmiş traksiyon temsili resim (55).

Alen ise deneyler yapmıştır. Kesilen spinal kord segmentlerinin alt kısmında hareket ve duyu kaybı olduğunu göstermiştir (56). Aretaeus (M.S. 81-138) ilk olarak spinal kord yaralanmasında spinal seviyeye göre değerlendirendir. Aynı zamanda ilk bazı spinal kord yaralanmalarında sadece ipsilateral defisit geliştiğini gösteren ilk kişidir. Galen (M.S. 130-200) ikinci Hipokrat ve deneysel fizyolojinin babası olarak bilinir. Deneysel çalışmalarda spinal kord yaralanması sonrası alt komplet kord lezyonunu tarif etmiştir. Aynı zamanda spinal kord seviyelerine göre nörolojik defisitleri tarif etmiştir. Deneplerinde spinal kordun üst seviyelerinin alt seviyelerden daha önemli olduğunu saptamıştır. Transvers ve longitudinal spinal kord yaralanmasını karşılaştırmış, transvers yaralanmanın daha çok defisit olduğunu saptamıştır (53, 54). Orbasius (M.S. 325-403) Hipokrat'ın traksiyon ve redüksiyon yöntemlerini uygulamıştır. İlk kez Egeli Paulus (625-690) dekompresif cerrahi fikrini ortaya koymuş olup, traksiyon ile kord hasarının önlenemeyeceğini savunmuştur. Şu ana dek insan spinal kord yaralanmasına benzer mekanizmalar oluşturan birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar günümüzde uygulanan ve üzerinde çalışmaların devam ettiği tedavi yöntemlerinin gelişmesini sağlamıştır.

Spinal kord travması ile ilgili ilk patofizyolojik çalışma 1890'da Schamus tarafından tavşan kordunda travma sonucu gelişen patofizyolojik değişiklikleri değerlendirerek yapmıştır (57).

1911 yılında Allen, köpeklerde laminektomi yapıp kord üzerine ağırlık düşürerek kontüzyo tipi spinal kord lezyonu oluşturmuştur. Sonrasında da myelotomi ve travma sonrası gelişen hematomyeli dekompresyonu sonrası klinik iyileşme oluştuğunu saptamıştır (58, 59).

Tator ile Rivlin 1978 yılında klip ile kord üzerine bası oluşturma modelini geliştirerek deneylerde uygulamışlardır. Hem lezyon hem de iskemi gelişmesiyle insan spinal kord patofizyolojisine en yakın model olmaktadır. Bu işlemle aynı zamanda kompresyon süresi ve klip kompresyon gücü belirlenebildiğinden istenilen şiddette lezyon oluşturabilme avantajların sahip bir modeldir.

2.4. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi

Yapılan araştırmalarda spinal kord yaralanması sebepleri arasında motorlu taşıt kazaları, düşme, şiddet olayları spor kazaları en sık nedenlerdir. Ancak bu nedenler yaşa ve ülkeden ülkeye değişiklik gösterebilir. İlerleyen yaşla birlikte düşme en sık sebep olarak görülmekteyken, genç yaşta ise motorlu araç kazaları en sık sebep olarak görülmektedir. Şiddet olayların yaygın olduğu ülkelerde ise şiddet olayları en sık sebep olabilmektedir. Diğer nedenler ise vasküler patolojiler, tümörler, enfeksiyon, spondilozis, iatrojenik nedenler, osteoporozis gibi hastalıklar sonrası gelişen sekonder vertebra fraktürleri sayılabilir. Vertebra fraktürlerinin %50'den fazlası (L1>T12>L2>T11) torakolomber bölgede görülür ve tüm omurilik yaralanmalarının %40'ı T12-L1 bölgesindedir.

Servikal vertebra yaralanmalarında nörolojik defisit %40 oranlarına ulaşmaktadır (60). Erişkinlerde torakolomber vertebra yaralanmalarında nörolojik defisit %10-38 arasında değişen oranlarda görülmektedir. Ayrıca etkilenen spinal kord seviyesi klinik açıdan çok önem arz eder. Servikal bölgede gelişen bir lezyon pentapleji oluşturabilirken, torakal ve lomber seviyesindeki lezyonlar parapleji oluşturabilmektedir.

Primer Hasar

Spinal kord'ta kanama ve direkt hücre ölümüne neden olan mekanik yaralanma tipidir. Endojen ya da ekzojen kaynaklı olabilir. Spinal kord yaralanması sonucu motor, duyu ve otonom fonksiyonlar komplek ya da inkomplek şekilde kesintiye uğrar. Travma sonucu akson, kan damarları ve hücrede hasar oluşur. Yaralanma şiddeti ve lokalizasyonuna göre maruz kalan birey üzerine olan etkileri, basit bir yaralanma şeklinden ölüme kadar değişkenlik gösterebilir. Travmada esnasında oluşan hiperfleksiyon, hiperekstansiyon, dislokasyon traksiyon, kompresyon ve penetrasyon tipi yaralanma tipi lezyonlar gerilme ve kontüzyo ile spinal kordta ve çevreleyen yapılarda lezyon oluşturabilmektedir. En sık görülen kompresyon – kontüzyon şeklidir (61, 62). Kemik yapılar, ligamanlar ve hematom kord üzerine kompresyon etkisi oluşturabilir. Akut olarak spinal kord ve çevre yapılarda hasar gelişimi olasılığı dışında travmanın etkisi ile gelişebilecek deformiteler sonucu kronik dönemde de spinal kord hasarı gelişebilmektedir. Travmanın tipi ne olursa olsun sonuçta nöral eleman ve/veya kordun vaskülaritesinde gerilme ve yırtılmalara sebep olur. Ancak bu çevre yapılar ve spinal kord lezyonları orantılı olmayabilir. Mekanik etkinin spinal kord üzerine etkisi anatomik olarak farklılık gösterebilir. Anatomik olarak geniş spinal kord kanalları bölümünde daha az hasar oluşabilirken, dar alanlarda ise aynı kuvvet daha büyük hasarlara neden olabilmektedir. Aynı durum klinik üzerine de etkili olmaktadır. Servikal alanda oluşabilecek spinal kord travması tetra-penta pleji ile sonuçlanabilirken, torakal alanda parapleji geliştirebilir. Lumber bölgede ise daha az klinik etki ile sonuçlanabilir. Aynı zamanda alt motor nöronlar travmaya daha dirençlidir (63). Primer hasar mekanizması kordu nadiren tam kesintiye uğratar. Genellikle yaralanma bölgesini geçen kurtulmuş aksonlar mevcuttur (64, 65)

Sekonder Hasar

Sekonder spinal kord yaralanması: Primer spinal kord yaralanması nedeniyle gelişen patofizyolojik olaylar uzamış sekonder hasar fazı ile devam eder. 1911'de Allen bu mekanizmaların hepsinin altında yatan asıl patolojinin spinal kord perfüzyon bozukluğu ve hücre düzeyinde enerji yetersizliğidir teorisini ileri sürmüştür. 1978 yılında Nemecek, ışık mikroskopuyla travmaya uğramış dokudaki intravasküler trombüsleri göstermiştir.

Sekonder yaralanma mekanizmaları (66)

Sistemik etkiler (Nörojenik şok)

Kalp hızında kısa süreli artış, daha sonra uzun süreli bradikardi.

Kalp basıncı kısa süreli hipertansiyon, daha sonra uzun süreli hipotansiyon.

Periferik dirençte azalma,

Kalp debisinde azalma.

Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasar

Kapiller ve venüllerde mekanik bozulma

Hemoraji: özellikle gri cevherde

Mikrodolaşımında kayıp: mekanik, tromboz, vazospazm

Biyokimyasal değişiklikler

Serbest radikal üretimi

Lipid peroksidasyon

Eksitotoksisite: glutamat

Nörotransmitter birikimi

Endojen opioidler

Katekolaminler: noradrenalin, dopamin

Araşidonik asit salınımı

Eikozanoid üretimi

Prostaglandinler

Sitokinler

Elektrolit kaymaları

İntraselüler kalsiyumda artış

Ekstraselüler potasyumda artış

Sodyum geçirgenliğinin yükselmesi

Enflamatuar cevap Serbest radikal üretimi

Akson yıkımı Myelin artıklarının uzaklaştırılması

Sitokinlerin salınımı

Glial hücre aktivasyonu

Oligodentrositlerde sitotoksik etkiler

Wallerian dejenerasyon

Ödem

Apopitozis

Enerji metabolizmasında kayıp

Azalmış ATP üretimi

Sekonder Hasar Fazları (67)

Akut faz (0-2 saat): Spinal kord yaralanmasının primer hasarını tanımlar. Aksonların travmatik yaralanması, nöron ve glianın ani ölümü, lezyon altında fonksiyon kaybına neden olan spinal şok gelişir (68). Primer spinal kord yaralanması sonrası gelişen patolojik süreçte kanlanmanın azalması, iskemi, ödem, ATP bağımlı kanalların devre dışı kalması, hücre içi ve dışı elektrolit dengelerinin bozulması, enzimlerin aktiflenmesi, ekzitotoksik aminoasit salınımı, serbest radikallerin oluşması gibi nedenlerle nöronal ölüm gelişebilmektedir (66, 68, 69). Travma sonucu akson yaralanması, nöron ve glial hücrelerin ani ölümü, lezyon altında geçici fonksiyon kaybına neden olan spinal şok gelişir (100, 105). Omurilikte bulunan inen sempatik yollarda iletimin kesintiye uğraması sonucu nörojenik şok gelişir. Kardiak vazomotor tonusunun ve sempatik innervasyonunun kaybı ile sonlanır. Vasküler vazodilatasyon sonucu kan vasküler alanda göllenir ve hipotansiyon ve bradikardi gelişir.

Otoregülasyon disfonksiyonu ve perfüzyon basıncında düşme sonucu dokulara yeterli kan akımı sağlanamaz (70). Omurilikteki ilk histopatolojik değişiklik omurluğun şişmesidir. Gelişen hemoraji, iskemi ve hücre membran yapısının bozulmasıyla etkilenen hücrelerde hızla nekroz gelişir.

Mikrovasküler yapının hasarlanması sonucu çevre beyaz cevherde peteşial kanamalara neden olur.

Sonuçta omurilikte iskemi gelişir ve travma alanına komşu rostral ve kaudal bir kaç segment etkilenebilir (71, 72, 105). Bu dönemde histopatolojik değişiklikler açıkça görülmeyebilir. Ancak patofizyolojik süreç başlamıştır. Mikroglial hücreler yaralanmadan hemen sonra aktive olmasıyla proinflamatuvar sitokinleri (TNF- α ve IL- β) dakikalar içinde aktiflenir (71, 105). Eksitotoksik olan glutamat da yaralanmadan dakikalar sonra eksitotoksik seviyelere ulaşır (73, 74, 105).

Erken akut (2-48 saat): Subpial bölgede kalan aksonlarda fonksiyonel ileti bozulur. Bu aksonlarda refraktör periyod uzar, yüksek frekanslı ileti bozulur. Aktivasyon eşiği yükselir. Isı bağımlı ileti bloğu olur ve ileti hızı azalır.

Hızlı aktive olan K^+ kanalları miyelin tarafından sarılmış olarak paranodal ya da internodal bölgelerde yerleşmiştir. Miyelin yaralanması sonrası hızlı K^+ kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli K^+ denge potansiyeline yaklaşır. Aksonal ileti bloğu oluşur (75, 76, 77, 105). MSS beyaz cevher yaralanmasındaki anoksi ATP ve membran depolarizasyonun kaybına neden olur. Sodyum kanallarından hücre içine Na^+ akar. İntrasellüler Na^+ artışı ve membran depolarizasyonu ile birlikteliği Na^+ - Ca^{++} değiştiricisinin ters çalışmasıyla hücre içerisine zararlı miktarda Ca^+ girişine neden olur. Glutamat reseptörleri de hücreye Ca iyonlarının girişi için diğer bir yol sağlamaktadır (78).

Hücre ölümünden en çok rolü olduğu düşünülen iyon olan Ca^+ hücrede fosfolipaz, proteaz fosfatazları aktifleyerek hücre hasarını artırır. Mitokondrial respiratuar enzimlere bağlanarak elektron transportunu bozar ve serbest radikal oluşumuna neden olurlar (75).

Omurilik yaralanması sonrası eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir. Normalde MSS'de yaygın olarak dağılmış olan glutamat ve aspartatın spinal kord yaralanması sonrası salınımını yaralanma şiddeti ile doğru ilişkilidir. Orta şiddette omurilik yaralanmasında 2 - 4 kat yükselirken, şiddetli yaralanma sonrası 10 kat yükseldiği gösterilmiştir.

Glutamat yaralanmadan sonra 15 dakikada pik değerine ulaşır yaklaşık 120 dakika kadar yüksek kalabilir (108). Glutamat reseptörlerinin uyarıldığında önce hücre içinde Na^+ birikerek sitotoksik ödeme neden olur. Sonrasında hücre içinde Ca^{++} birikmesi sonucu nöronal harabiyet gelişir. N-metil-D-aspartat (NMDA) post sinaptik reseptördür ve glutamatın nörotoksik etkilerini iletir (84).

MSS'de travma sonrası serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek daha fazla radikal oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda hücre membranı ve endotel hasar görür hücre ölümü ve kan-omurilik bariyeri bozulur. Omurilik yaralanması sonrası inflamatuvar cevap saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde pik değerine ulaşır. Bu cevap endotel hasarı, inflamasyon mediatörlerinin salınması, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik inflamatuvar hücrelerin göçü ve mikroglialin aktivasyonu olarak gözlemlenir. Polimorfonükleer granülositler ilk birkaç saat içinde lezyon bölgesini infiltre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. PMNL infiltrasyon oranı ile oluşan hemoraji oranı korelasyon göstermektedir. Bu da kemotraktan maddelerin bu infiltrasyon miktarını belirlemede önemini göstermiştir. İkinci günden itibaren monosit / makrofaj ve mikroglial hücreler

yaralanan bölgede artmaya başlar. Asıl görevleri fagositoz olduğu düşünülmektedir (82). Bunun dışında bradikinin, prostoglandinler, lökotrienler ve platelet atalet-aktive edici faktör ve seretonin gibi mediatörler yaralanmış omurilikte lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku hasarının hızla ilerlemesine neden olurlar (79). Nötrofiller nötrofil proteazlarını ve serbest oksijen radikallerini serbestleştirirler. İnflamasyonun mediatörleri endotelial lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Aktive olmuş nötrofil ve endotel hücresi arasında sıkı yapışmanın olduğu mikroçevreye dolaşımdaki antiproteazlar ve antioksidanlar ulaşamaz. Yapılan çalışmalarda ilk dört gün kan beyaz küre değerleri yüksek seyredenlerde nörolojik kötüleşmenin normal seyredenlere göre daha fazla olduğunu göstermiştir (80).

Primer spinal kord yaralanması, sekonder hasara uzanan ani mikrovasküler değişiklikler oluşturur. Bu değişikliklerin ilerleyici karakteri omurilik iskemisini travmadan sonra gittikçe artmasına neden olur. Yapılan bir çalışmada klomp kompresyon modeline göre hem yaralanma bölgesinde, hem kranial ve kaudal komşu bölgelerde arterioller, kapiller ve venüllerde kanlanma durur. Gri cevheri kat ederek beyaz cevhere ulaşan arteriyollerdeki vazospazm ve tromboz ile sekonder hasar artar. Beyaz cevher perfüzyonu travmadan sonraki ilk 5. dakikada hızla azalır, 15. dakikadan sonra normale dönmeye başlar.

Gri cevherdeki ise travmadan sonraki ilk 5 dakikada hemorajik alan belirir. Perfüzyon travmadan saatler sonra bile yoktur sonuçta iskemi gelişir (81). Normalde kordta kan akımını sabit değerlerde tutan otoregülasyon sistemi mevcuttur. Travma sonrası otoregülasyon disfonksiyonu gelişir. Sistemik hipotansiyon sonrası spinal kord kanlanması normal değerlerde tutan mekanizma bozulduğu için kan akımı azalacaktır ve sonuçta iskemi gelişir. Ortalama arteriyel kan basıncını 160 mmHg'ye yükseltirse bile kordun kan akımını artmaz, yaralanma bölgesine komşu bölgelerde ise hiperemi gelişir (83). Yapılan çalışmalarda normal omurilikte iskeminin aksonal iletiye etkisi olmadığı gösterilmiştir. Ancak travmalı omurilikte iskemiye toleransın daha az olduğu da gösterilmiştir. Post travmatik iskeminin kesin nedeni hala anlaşılabilmiştir. Yaralanmayı oluşturan mekanik travma, vazoaktif aminleri salınımı, hemoraji, tromboz, platelet agregasyonu, endotel hasarı ve şişme vazospazmı tetikleyebilir (57, 66). Endotel hasarından EAA olan glutamat sorumlu tutulmuştur (84).

Travma omurilik yaralanmasından sonraki hücre ölümü nekroza, bir kısmı da apopitoza bağlanabilir. Hayvan omurilik yaralanmasından farklı olarak insan omurilik yaralanmasının her fazında ölen hücreler esasen nekroz ile ölürlere (85). Bunun aksine oligodendrositler nöronlar gibi iskemik hasara çok hassastır ve omurilik yaralanması sonrası esasen apopitoza giderler. Yapılan çalışmalarda oligodendrositlerde kaspaz-3 aktivitesinin artışı göstermişlerdir (85). Deneysel omurilik hasarlanmasından yaklaşık bir saat sonra lezyon merkezinde kaspaz-3'ün 3 katına çıktığı saptanmıştır. Omurilik yaralanması sonrası apopitozisin en üst değerine üçüncü günde ulaştığını göstermişlerdir (86, 87, 88). Ratlarda yapılan çalışmalarda oligodendrosit kaybının travmadan sonra 24 saatte en çok olduğu gösterilmiştir (89). Aksonal demiyelinizasyona neden olur. Omurilik yaralanmasından saatler günler sonra astrositler lezyon merkezinde sitotoksik ödem ve nekrotik hücre ölümünü artırır.

Subakut faz (2 gün - 2 hafta): Astrositler hipertrofik hale gelir ve proliferer olurlar. Bu astrositler gliotik skar oluştururlar. Bu skar aksonal rejenerasyona fiziksel ve kimyasal bir bariyerdir. Skar oluşturma dışından bu astrositler yaralı omurilikte iyonik dengenin sağlanmasında, kan beyin bariyerinin kurulmasında ve dolayısıyla ödemin çözülmesinde faydalı etkileri vardır (90).

Orta Faz (2 hafta - 2 ay): Astrositik skar ve rejeneratif aksonal dallanmanın devamı ile karakterize bir fazdır.

Ratlarda yapılan kontüzyonel omurilik yaralanması modelinde kortikospinal yol aksonları yaralanmadan sonra 3 hafta ile 3 ay içerisinde dallanır. Retikülospinal yol ise 3 ile 8 ay arası dallanır. Bu rejeneratif potansiyelin olduğunun cesaret verici kanıtıdır (105). Ayrıca farklı traktusların yaralanmaya farklı cevapları olduğunu göstermiştir.

Kronik Faz (>6 ay): Hayat boyu süren fazdır. En son fazda artık skar, kist ve syrinks gelişir. Yaralanmış aksonların tamamen temizlenmesi için walleryen dejenerasyon bazen yıllar alır. Yaralanmadan 1 - 2 yıl sonra nörolojik defisit istikrarlı hale gelir, lezyon tam olgunlaşır. Artık lezyon nekrotik hücre ölümünden arta kalan kistik kavite ve myelomalazidir.

2.5. Spinal Kord Yaralanması Epidemiyolojisi

Ülkemizde SCI epidemiyoloji ile ilgili araştırmalar az sayıda olmakla beraber, 1992 yılında ülke genelinde yapılan bir araştırmada 581 yeni vaka tespit edilmiş olup, 12.7/1

milyon insidans olarak saptanmıştır. Erkek / kadın oranı 2.5/1, en sık 20 - 29 yaş arası, en sık motorlu araç kazaları (%48,8), ikinci sıklıkta düşme (%36,5) sebep olarak saptanmıştır. Bu vakaların %32,8'i tetraplejik, %67,8'i paraplejik vakalardır. Tetraplejik olan vakalarda en sık C5 seviyesinde (%57,4) lezyon geliştiği, paraplejik olanlarda ise %17,7 ile en sık T12'de lezyon saptanmıştır. Bu travmaların en sık yaz aylarında görüldüğü saptanmıştır. En sık eşlik eden travmanın kafa travması (%9,8) olduğu rapor edilmiştir (91). 1994 Yılında yapılan retrospektif çalışmada ise Türkiye'nin güney bölgelerindeki spinal kord yaralanması epidemiyolojisi araştırılmış olup, insidans 19.7/ 1 milyon olarak saptanmıştır. Erkek / kadın oranı 5.8/1, ortalama yaş 31.3 olarak saptanmıştır. Bu vakaların %70.7'sinin 40 yaş altı olduğu ve en sık travma sebebi düşme (%37) ikinci sıklıkta silahlı yaralanma, üçüncü sıklıkta araç kazaları olarak rapor edilmiştir. Vakaların %41'i tetraplejik, %58,4'ü ise paraplejik olduğu rapor edilmiştir. Tetraplejik vakalarda en sık etkilenen seviye C5 olarak, paraplejik olanlarda ise L1 seviyesinin olduğu rapor edilmiştir (92).

2013 yılında yapılan bir metaanalizde, spinal kord yaralanama prevalansı 906/1.000.000 ile en yüksek ABD, en az da Rhone-Alpes bölgesi olarak saptanmış. Helsinki ve Finlandiya'da ise 280/1.000.000 milyon olarak saptanmış. Yıllık insidans olarak en yüksek olarak 83/1.000.000 ile Alaska olarak rapor edilmiş. Yıllık insidansı 50/1.000.000 üzerinde olan yerler 56.1/1.000.0000 ile Tayvan'ın Hualien bölgesi, Portekiz merkezi 58/1.000.000 olarak rapor edilmiş. Yıllık insidansı 20/1.000.0000 olan yerler ise Fransa'nın Rhone-Alpes bölgesi, İspanya'nın Aragon, Türkiye'nin güney bölgesi ve İsveç Stockholm olarak rapor edilmiştir. Erkek / kadın oranının yüksek olduğu, pik yaşın <30 yaş olduğu saptanmıştır. Motorlu taşıt kazalarının en sık, ikinci en sık neden olarak da düşme olarak saptanmıştır (93).

2.6. Spinal Kord Yaralanmasında Farmakolojik Tedavi

Kortikosteroidler: Anti enflamatuar, lipid peroksidasyonu inhibisyonu, sitokin oluşumunu önleyici, hücreye Ca⁺⁺ girişiminin engellenmesi ve de doku perfüzyonunu arttırıcı etkidir (94). Spinal kord hasarı için öngörülen ve en azından etkinliği klinik olarak gösterilebilmiş en önemli ajandır.

En etkin metil-prednisolon olarak bulunmuştur. Metil prednisolon etkileri prospektif, randomize, çift kör ve çok merkezli klinik çalışmalar olan NASCIS (National

Acute Spinal Cord Injury Studies) ile ortaya konmuştur. Uygun görülen kullanım şekli ilk 3 saatte metil-prednisolon başlandıysa 30 mg/kg ilk bir saatte bolus şeklinde verilmesi ve 5,4 mg/kg/saat şeklinde 23 saat idame edilmesidir. Eğer 3-8 saatler arasında başlandıysa 30 mg/kg/saat bolus verilmesi sonrası 5,4 mg/kg/saat olarak 48 saat devam edilmesi önerilir. Metil-prednisolon tedavisi yapılan hasta grubunda enfeksiyon, pulmoner emboli, yara yeri problemleri belirgin artar.

Siklooksijenaz inhibitörleri: Non-steroidal antienflamatuar ilaçlardır. Sıkça antianaljezik ve antienflamatuar olarak kullanılmaktadır. Deneysel olarak etkin oldukları gösterilmiştir. Ancak klinik olarak düzenli bir çalışma yoktur.

Sodyum kanal blokerleri ve kalsiyum kanal blokerleri: Deneysel olarak etkin bulunup, klinik etkinlikleri gösterilememiştir.

MK 801: NMDA reseptör antagonistidir. Spinal kord yaralanmasındaki glutamat ekzotoksitesini azaltır. Deneysel çalışmalarda etkinliği gösterilmiştir.

Naloksan: Bir opiat reseptör anatagonistidir. Etkinliği netlik kazanmamıştır.

Gangliosid: En iyi bilineni monosialotetraheksosil gangliosid (GM1) olup, glikosfingolipid bir ajandır. Deneysel olarak antiapoptotik ve noroprotektif etkinliği gösterilmiştir. ASIA skoruna göre motor ve duysal iyileşmede anlamlı fark saptanmıştır.

Minosiklin: Tetrasiklin grubu bir antibiyotik. Mikroglial aktiviteyi azaltarak etkinlik gösterir.

Eritropoietin: Antienflamatuar ve antioksidan etkilidir. Yapılan bazı deneylerde olumlu sonuçlar bulunmuştur.

Tacrimulus ve siklosporin: İmmun supresif etkilidirler. Deneysel olarak etkinlikleri gösterilmiştir.

TRH ve analogları: Antienflamatuar ve antioksidan etkinlikleri ile ilgili deneysel veriler mevcuttur.

3. GEREÇ, YÖNTEM VE BULGULAR

Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deneyde 40 adet Wistard türü erkek rat kullanıldı. Deney süreci boyunca öncelikle aşağıdaki şartların tümü sağlandı. Operasyon öncesi, öncelikle deneyde kullanılan deney hayvanlarının herhangi bir defistlerinin saptanmadı. Her kafeste 4 adet rat konuldu, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık siklusu uygulandı. Kafeslerinde sınırsız yem ve su bulunduruldu, 20-24°C'lik ısı ortamı ve %45-65 nem oranı ortamında tutuldular. Postop dönemde günde 2 kez manuel mesane boşaltımı yapıldı. Postoperatif günlük pansuman yapıldı ve analjezik medikasyon sağlandı.

1. Grup: Bu grupta 8 adet rat değerlendirildi. Herhangi bir işlem yapılmayan gruba oluşturmaktadır. Günlük eğik düzlem, motor fonksiyonları muayenesi yapıldı. Günlük olarak ratlar tartılarak ağırlık değişiklikleri not edildi. Yedi gün takip sonra son kontrolleri yapıldıktan sonra anestezi için Ketamin 50 mg/kg İ.P olarak ve Rontum 5 mg/kg İ.P. olarak uygulandı. Sedasyon sağlandıktan sonra sternum referans alınarak cilt, cilt altı açılacak, sternum sağ ve sol taraftan kostalardan üst sınırı kalacak şekilde serbestleştirildi. İntrakardiyak 10 cc'lik enjektörle ortalama 5 cc kan alındı. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalına teslim edildi.

Kalbin sağ atriumuna 11 numara bistürü ile insizyon uygulandı. Sol ventrikülden %0.9 serum fizyolojik mayi ile dolaşımdaki tüm kan dolaşımdan uzaklaştırılana kadar irrije edildi. Takiben %10'luk formaldehit ile yıkanarak fikse edildi. Omurilik (torakal 9) merkez olacak şekilde 1 cm aşağı 1 cm yukarı olacak şekilde 2 cm kord transvers olarak eksize edildi. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulandı. Eksize edilen doku %10 formaldehit solüsyonu içinde Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

2. Grup: Bu grupta 8 adet rat değerlendirildi. Anestezi için ketamin 50 mg/kg İ.P olarak ve Rontum 5 mg/kg İ.P. olarak uygulandı. Sedasyon sağlandıktan sonra cerrahi alan tıraşı yapıldı. Betadin ile sterilize edildi. Torakal 8-10 arası orta hat vertikal kesi ile anatomik olarak cilt, cilt altı, fascia açılıp kaslar diseke edildi. Spinöz yapı ve lamina ortaya konuldu. Torakal 8-10 seviyelerinde laminektomi uygulandı. Spinal kord üzerine travma oluşturulmadan tekrar anatomik olarak tüm katmalar içten dışa doğru kapatıldı.

Postoperatif dönemde bu gruba medikasyon olarak sadece analjezik uygulandı. Günlük eğik düzlem, motor fonksiyonları muayenesi yapıldı. Ağırlık değişiklikleri not edildi. Post op 7 gün sonra son kontrolleri yapıldıktan sonra anestezi için ketamin 50 mg/kg İ.P olarak ve rontum 5 mg/kg İ.P. olarak uygulandı. Sedasyon sağlandıktan sonra sternum referans alınarak cilt, cilt altı açılacak, sternum sağ ve sol taraftan kostalardan üst sınırı kalacak şekilde serbestleştirildi. İntra kardiak 10 cc'lik enjektörle ortalama 5 cc kan alındı. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalına teslim edildi.

Kalbin sağ atriumuna 11 numara bistürü ile insizyon uygulandı. Sol ventrikülden %0.9 serum fizyolojik mayi ile dolaşımdaki tüm kan dolaşımdan uzaklaştırılana kadar irrigate edildi. Takiben %10'luk formaldehit ile yıkanarak fikse edildi. Omurilik (torakal 9) merkez olacak şekilde 1 cm aşağı, 1 cm yukarı olacak şekilde 2 cm kord transvers olarak eksize edildi. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulandı. Eksize edilen doku %10 formaldehit solüsyonu içinde Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

3. Grup: 8 adet rat değerlendirildi. 50 mg/kg İ.P. olarak ketamin ve 5 mg/kg İ.P. rontum yapıldı. Sedasyon sağlandıktan sonra cerrahi alan tıraşı yapıldı ve betadin ile sterilize edildi. Torakal 8-10 arası orta hat vertikal kesi ile anatomik olarak cilt, cilt altı, fascia açıldı. Kaslar diseke edildi. Spinöz yapı ve lamina ortaya konularak laminektomi uygulandı. Spinal kord üzerine torakal (T9) seviyesinde 10 saniye klomp kompresyon uygulanarak travma oluşturuldu. Tekrar anatomik olarak tüm katmanlar içten dışa doğru kapatıldı. Postoperatif analjezik uygulandı. Postoperatif günlük tartılıp ağırlık değişiklikleri not edildi. Eğik düzlem testi ve motor muayene yapıldı. Postop 7. günde rutin testler yapıldıktan sonra tekrar. 50 mg/kg İ.P. olarak ketamin ve 5 mg/kg İ.P. rontum yapıldı, genel anestezi altında öncelikle sırt bölgesi tıraş edildi. Polyvidon-iyot ile cerrahi alanda antisepsi sağlandı. Sternum referans alınarak cilt, cilt altı açıldı. Sternum sağ ve sol taraftan kostalardan üst sınırı kalacak şekilde serbestleştirildi. 10 cc'lik enjeksiyon ile 5 cc kan alındı. Biyokimya tüpünde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalına teslim edildi. Kalbin sağ atriumuna 11 numara bistürü ile insizyon uygulandı. Sol ventrikülden %0.9 serum fizyolojik mayi ile dolaşımdaki tüm kan dolaşımdan uzaklaştırılana kadar irrigate edildi. Takiben %10'luk formaldehit ile yıkanarak fikse edildi. Hasarlanmış omurilik merkez olacak şekilde 1 cm aşağı, 1 cm yukarı olacak şekilde 2 cm kord transvers olarak eksize edildi. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulandı. Eksize edilen

doku %10 formaldehit solüsyonu içinde Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

4. Grup: 8 adet rat kullanıldı. 50 mg/kg İ.P. olarak ketamin ve 5 mg/kg İ.P. rontum yapıldı. Sedasyon sağlandıktan sonra cerrahi alan tıraşı yapıldı ve betadin ile sterilize edildi. Torakal 8-10 arası orta hat vertikal kesi ile anatomik olarak cilt, cilt altı, fascia açıldı. Kaslar diseke edildi. Spinöz yapı ve lamina ortaya konularak laminektomi uygulandı. Spinal kord üzerine kliplene tekniğiyle T9 seviyesinde 10 saniye klomp kompresyon uygulanarak travma oluşturuldu. Tekrar anatomik olarak tüm katmalar içten dışa doğru kapatıldı. Postoperatif dönemde bu gruba medikasyon uygulandı. Postoperatif analjezik ve 30. dakika - 12. saat - 24. saat - 36. saat - 48. saatte 30 mg/kg dozunda metil prednisolon intraperitoneal olarak uygulandı. Postoperatif günlük tartılıp ağırlık değişiklikleri not edildi. Eğik düzlem testi ve motor muayene yapıldı. Postop 7. günde rutin testler yapıldıktan sonra tekrar 50 mg/kg İ.P. olarak ketamin ve 5 mg/kg İ.P. rontum yapıldı. Tekrar genel anestezi altında öncelikle sırt bölgesi tıraş edildi. Polyvidon-iyot ile cerrahi alanda antisepsi sağlandı. Sternum referans alınarak cilt, cilt altı açıldı. Sternum sağ ve sol taraftan kostalardan üst sınırı kalacak şekilde serbestleştirildi. 10 cc'lik enjektör ile intrakardiyak 5 cc kan alındı. Biyokimya tüpünde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalına teslim edildi. Kalbin sağ atriumuna 11 numara bistürü ile insizyon uygulandı. Sol ventrikülden %0.9 serum fizyolojik mayi ile dolaşımdaki tüm kan dolaşımdan uzaklaştırılana kadar irriga edildi. Takiben %10'luk formaldehit ile yıkanarak fikse edildi. Hasarlanmış omurilik merkez olacak şekilde 1 cm aşağı, 1 cm yukarı olacak şekilde 2 cm kord transvers olarak eksize edildi. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulandı. Eksize edilen doku %10 formaldehit solüsyonu içinde Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

5. Grup: 8 adet rat kullanıldı. 50 mg/kg İ.P. olarak ketamin ve 5 mg/kg İ.P. rontum yapıldı. Sedasyon sağlandıktan sonra cerrahi alan tıraşı yapılacak ve betadin ile sterilize edildi. Torakal 8-10 arası orta hat vertikal kesi ile anatomik olarak cilt, cilt altı, fascia açıldı. Kaslar diseke edildi. Spinöz yapı ve lamina ortaya konularak laminektomi uygulandı. Spinal kord üzerine kliplene tekniğiyle T9 seviyesinde 10 saniye kompresyon uygulanarak travma oluşturuldu. Tekrar anatomik olarak tüm katmalar içten dışa doğru kapatıldı. Postoperatif dönemde bu gruba medikasyon uygulandı. Postoperatif 30. dakika - 12. saat - 24. saat - 36. saat - 48. saatte 50 mg/kg dozunda pregabalın verildi. Postoperatif günlük tartılıp ağırlık değişiklikleri not edildi. Eğik düzlem testi ve motor

muayene yapıldı. Postop 7. günde rutin testler yapıldıktan sonra tekrar 50 mg/kg İ.P. olarak ketamin ve 5 mg/kg İ.P. rontum yapıldı. Genel anestezi altında öncelikle sırt bölgesi tıraş edildi. Polyvidon–iyot ile cerrahi alanda antisepsi sağlandı. Sternum referans alınarak cilt, cilt altı açıldı. Sternum sağ ve sol taraftan kostalardan üst sınırı kalacak şekilde serbestleştirildi. 10 cc'lik enjektörle intrakardiyak 5 cc kan alındı. Biyokimya tüpünde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalına teslim edildi. Kalbin sağ atriumuna 11 numara bistürü ile insizyon uygulandı. Sol ventrikülden %0.9 serum fizyolojik mayi ile dolaşımdaki tüm kan dolaşımından uzaklaştırılana kadar irriga edilecektir. Takiben %10'luk formaldehit ile yıkanarak fiske edildi. Hasarlanmış omurilik merkez olacak şekilde 1 cm aşağı, 1 cm yukarı olacak şekilde 2 cm kord transvers olarak eksize edildi. Daha sonra yüksek doz anestezi verilerek ötenazi uygulandı. Eksize edilen doku %10 formaldehit solüsyonu içinde Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

3.1. Fonksiyonel İyileşmenin Değerlendirilmesi

a) Eğik düzlem (Inclined plane) testi: Tator ve Rivliv tarafından tanımlanmıştır. Ratlarda deneysel akut spinal kord yaralanmalarında sıkça kullanılır (102). Düzgün bir zemin üzerinde yere paralel olarak yerleştirilen bir tabla üzerine konuldu. Tablanın sabit olmayan tarafı yükseltilerek eğim artırıldı. Tabla üzerindeki ratın 5 saniye boyunca düşmeden durabildiği en yüksek açı saptanır. Yaptığımız deney çalışmamızda tüm gruplara günlük eğik düzlem testi uygulandı.

b) Klinik motor muayene: Deney çalışmamızda cerrahi işlem sonrası 1. günden itibaren 7 gün boyunca günlük olarak motor muayeneleri yapıldı. Drummond ve Moore kriterleri kullanıldı (130).

Drummond ve Moore Kriterleri

- 0: Alt ekstremitelerde motor fonksiyon yok.
- 1: Sadece yer çekimine karşı zayıf hareket.
- 2: Yerçekimine karşı motor güç iyi fakat bacaklarını vücudun altına çekemiyor.
- 3: Bacaklarını vücudun altına çekiyor, zıplayabiliyor, fakat tam normal motor fonksiyon değil
- 4: Normal motor fonksiyon mevcut.

Verilerin analizi konusunda; Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, range değerleri ile sunulmuştur. Çalışma gruplarının kilo kayıtları ve eğik düzelme testi açılı ortalamalarının karşılaştırılmasında Varyans analizi (ANOVA) testi ve ikili karşılaştırmalar (post. hoc.) için Sidak testi kullanılmıştır. Üç evre grubun ölçümlerinin motor fonksiyon skorlarının araştırılması amacı ile tekrarlı Kruskal Wallis H testi ve farklı olan grupların tespit edilmesi amacı ile Mann Whitney U testi uygulanmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS 22.0 paket programı ile yapılmıştır.

3.2. Gruplar ve Kilo Kayıtlarının Karşılaştırılması

Çalışmada deneklerin yedi gün sonunda kaybettiği ağırlıkların (%) başlangıçtaki ağırlıklarına oranı çalışmadaki deney gruplarına göre farklılığının araştırılması amacı ile Kruskal Wallis analizi testi uygulanmış olup elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmektedir. Farkı yaratan grupların tespit edilmesi amacı ile Mann Whitney U ikili karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Tablo 3.1. Gruplar ve kilo kayıpları (%) karşılaştırılması.

Grup	n	Ortalama	S.sapma	X ²	P	İkili Karşılaştırma
Up Cerrahisiz (1)	8	4%	2%			
Laminektomi (2)	8	-1%	2%			
Laminektomi + Kord Lezyonu (3)	8	-18%	6%			
Laminektomi+Kord Lezyonu + Metil Prednisolon (4)	8	-11%	9%	9,42	0,01	1>2>4>3,5
Laminektomi+Kord Lezyonu + Pregabalin (5)	8	-17%	3%			

*kilo değişimi = (başlangıç ağırlığı-son ağırlık) / başlangıç ağırlığı şeklinde hesaplanmıştır.

Sonuçlara göre deneklerin yedi gün sonucunda kaybettiği ağırlık miktarlarının cerrahisiz, laminektomi, laminektomi + kord lezyonu, laminektomi + kord lezyonu + metil prednisolon, laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarına göre farklı olduğu edilmiştir (X²=9,42,p=0,01).

Farkın sebebinin cerrahisiz grubun kilo kayıpları tüm gruplardan daha az olduğu hatta başlangıca göre %4 oranında kilo artışı olduğu tespit edilmiştir. Laminektomi grubu cerrahisiz gruba göre daha çok kilo kaybetmiş olup diğer işlem gören gruplara göre daha az kilo kaybı yaşamıştır. Laminektomi + kord lezyonu + metil prednisolon grubu laminektomi grubu ve cerrahisiz gruba göre çok kilo kaybetmiş olup diğer gruplara göre daha az kilo kaybı yaşamıştır. Laminektomi + kord lezyonu + pregabalin ve laminektomi + kord lezyonu grubu tüm gruplara göre daha yüksek oranda kilo kaybetmişlerdir ($p<0,01$). Laminektomi + kord lezyonu ve laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarının kilo kayıpları benzer düzeydedir ($p>0,05$).

3.3. Gruplar ve Eğik Düzlem Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

Çalışmadaki eğik düzlem test sonuçlarının çalışmadaki deney gruplarına göre farklılığının araştırılması amacı ile varyans analizi testi uygulanmış olup elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmektedir. Farkı yaratan grupların tespit edilmesi amacı ile Sidak ikili karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Tablo 3.2. Gruplar ve eğik düzlem testi sonuçlarının karşılaştırılması.

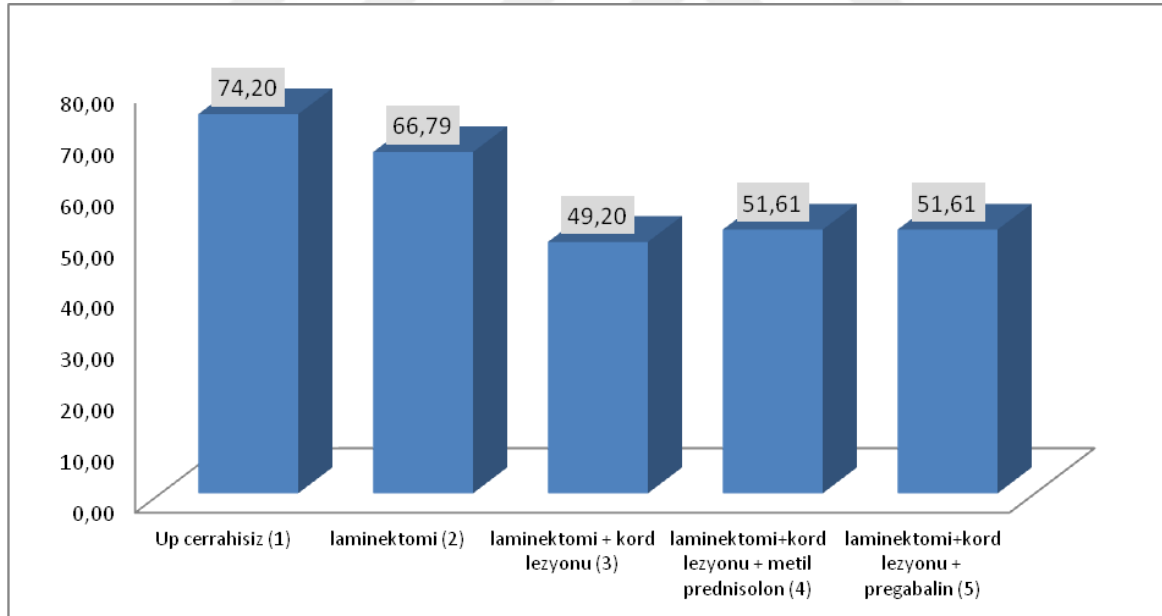
Grup	n	Ortalama	s.s	F	p	İkili karşılaştırma
Up cerrahisiz (1)	8	74,20	4,45			
Laminektomi (2)	8	66,79	6,21			
Laminektomi + kord lezyonu (3)	8	49,20	3,27			
Laminektomi+kord lezyonu + metil prednisolon (4)	8	51,61	5,57	270,73	0,01	1>2>3,4,5
Laminektomi+kord lezyonu + pregabalin (5)	8	51,61	5,32			

Sonuçlara göre eğik düzlem test sonuçlarının çalışmadaki deney gruplarına göre farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir ($F=270,73$, $p=0,01$). Farklılığın nedeninin cerrahisiz olan grubun eğik düzlem test sonuçları açılı ortalamalarının tüm deney gruplarına göre daha yüksek, ayrıca laminektomi grubundaki deneklerin eğik düzlem test sonuçları açılı ortalamalarının laminektomi + kord lezyonu, laminektomi + kord lezyonu + metil prednisolon, laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarına göre daha yüksek olmasından kaynaklandığı görülmüştür ($p<0,01$).

Tablo 3.3. İşlem görmüş gruplar ve eğik düzlem testi sonuçlarının karşılaştırılması.

Grup	n	Ortalama	s.s	F	p	İkili karşılaştırma
Laminektomi + kord lezyonu (3)	8	49,20	3,27			
Laminektomi+kord lezyonu + metil prednisolon (4)	8	51,61	5,57	4,65	0,01	3<4,5
Laminektomi+kord lezyonu + pregabalin (5)	8	51,61	5,32			

Sonuçlara işlem görmüş gruplarda eğik düzlem test sonuçlarının çalışmadaki deney gruplarına göre farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir (F=4,65, p=0,01). Farklılığın nedeninin laminektomi + kord lezyonu grubunun eğik düzlem test sonuçları açılı ortalamalarının laminektomi + kord lezyonu + metil prednisolon ve laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarına göre daha düşük olmasından kaynaklandığı görülmüştür (p<0,01).



Şekil 3.1. Eğik düzlem kıyaslanma sonuç grafiği.

3.4. Gruplara Göre Motor Fonksiyon Değerlendirilmesi

Çalışmada deneklerin Motor Fonksiyon Skorlarının çalışmadaki deney gruplarına göre farklılığının araştırılması amacı ile Kruskal Wallis analizi testi uygulanmış olup, elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmektedir. Farkı yaratan grupların tespit edilmesi amacı ile Mann Whitney U ikili karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Tablo 3.4. Gruplara göre motor fonksiyon değerlendirilmesi.

Grup	Medyan	Range	X ²	p	İkili karşılaştırma
Up cerrahisiz (1)	4,00	4-4			
Laminektomi (2)	4,00	3-4			
Laminektomi + kord lezyonu (3)	1,50	0-3			
Laminektomi+kord lezyonu + metil prednisolon (4)	1,00	1-3	217,84	0,01	1,2>3,4,5
Laminektomi+kord lezyonu + pregabalin (5)	2,00	13			

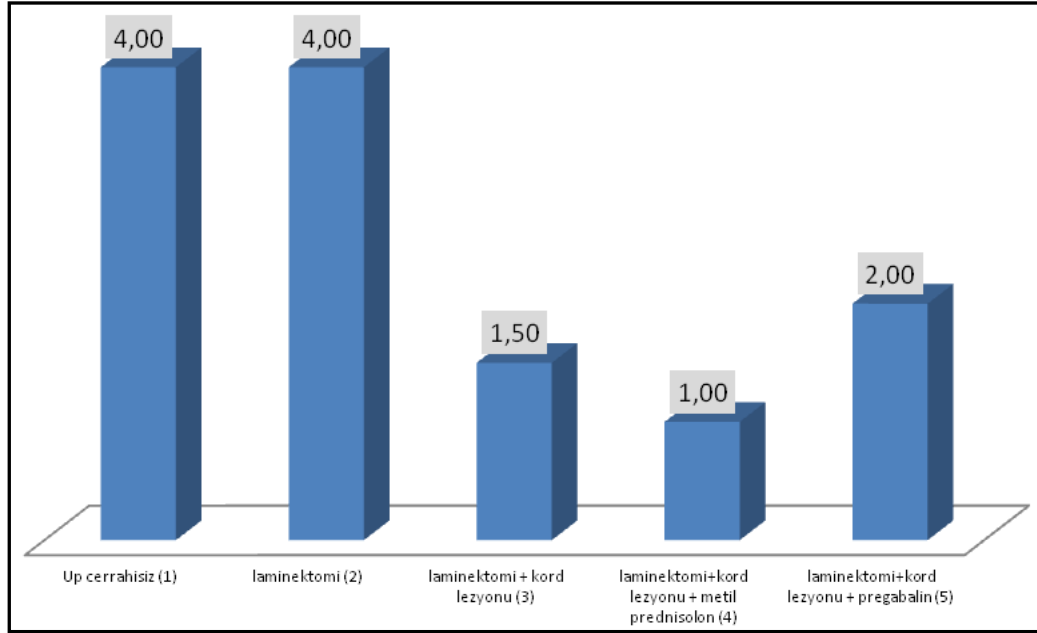
Çalışmada deneklerin Motor Fonksiyon Skorlarının çalışmadaki deney gruplarına göre farklı olduğu tespit edilmiştir ($X^2=217,84$, $p=0,01$). Cerrahisiz ve laminektomi gruplarının Motor Fonksiyon Skorlarının laminektomi + kord lezyonu, laminektomi + kord lezyonu + metil prednisolon, laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Cerrahisiz ve laminektomi gruplarının motor fonksiyonlarının laminektomi + kord lezyonu, laminektomi + kord lezyonu + metil prednisolon, laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarına göre daha iyi düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.5. İşlem görmüş gruplara göre motor fonksiyon değerlendirilmesi.

Grup	Medyan	Range	X ²	p
Laminektomi + kord lezyonu (3)	1,50	0-3		
Laminektomi+kord lezyonu + metil prednisolon (4)	1,00	1-3	5,81	0,05
Laminektomi+kord lezyonu + pregabalin (5)	2,00	13		

Çalışmada spinal kord lezyon işlemi görmüş deneklerin Motor Fonksiyon Skorlarının çalışmadaki deney gruplarına göre farklı olmadığı tespit edilmiştir ($X^2=5,81$, $p=0,053$, $p>0,05$). Laminektomi + kord lezyonu, laminektomi + kord lezyonu + metil

prednisolon, laminektomi + kord lezyonu + pregabalin gruplarında ölçülen motor fonksiyon düzeylerinin benzer olduğu görülmüştür.



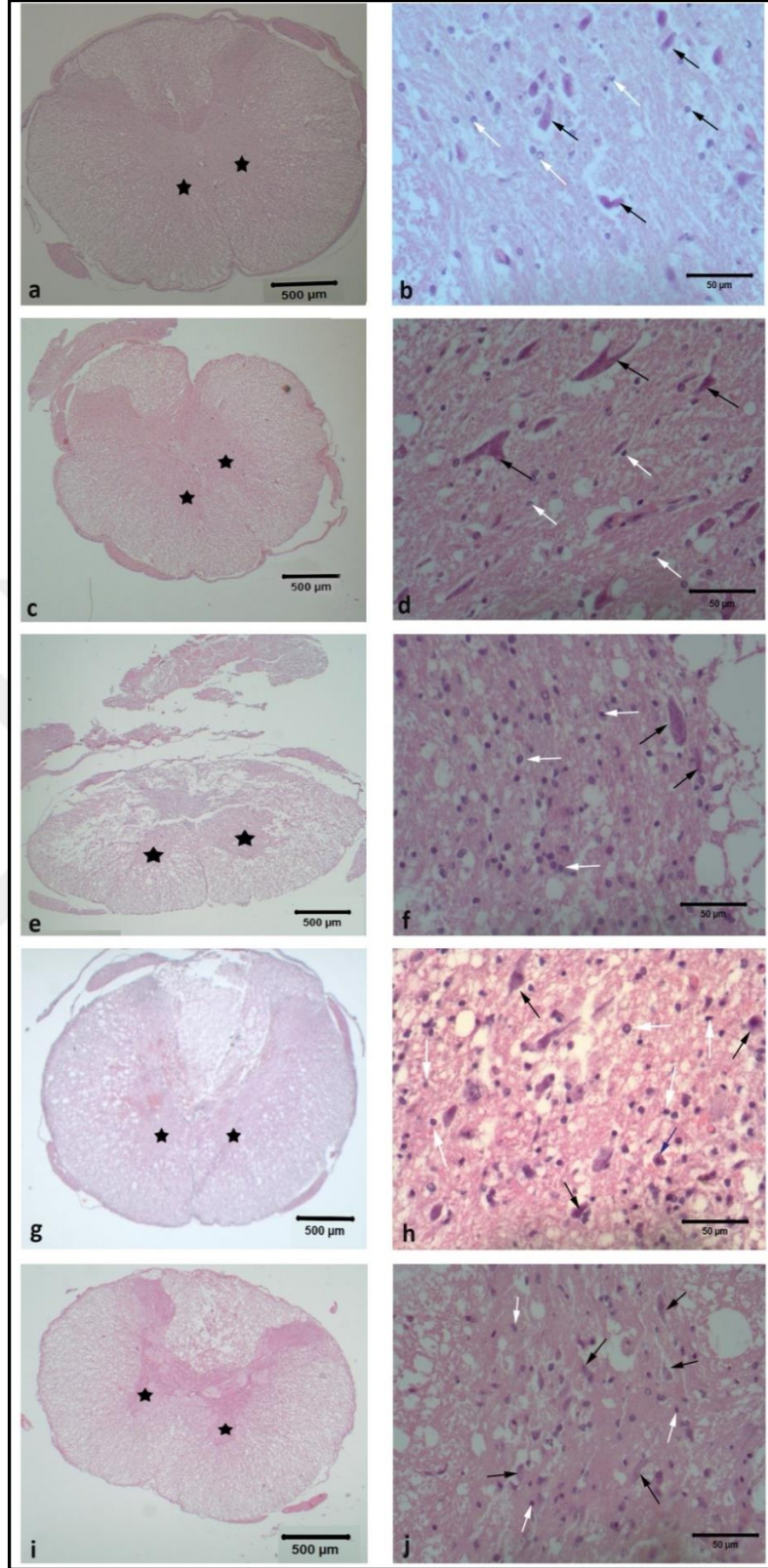
Şekil 3.2. Motor fonksiyon açısından grupların kıyaslanmasını gösteren grafik.

3.5. Histolojik Parametreler

Gereç ve Yöntemler: Perfüzyon fiksasyonu sonrası %10'luk formaldehit içerisinde getirilen spinal kord örnekleri çeşme suyunda 3 saat yıkamayı takiben dehidrasyon için artan etanol serilerine alındı. Örnekler %50 %70, %80, %90 etanolde birer gün, absol etanolde ise 3 saat tutuldu. Dehidrasyon işleminden sonra, dokunun şeffaflaştırılması için ksilol I'de 5 dakika, ksilol II'de 5 dakika ve ksilol III'de ise 5 dakika sürelerde bekletilerek parafinizasyona hazır hale getirildi. Parafinizasyon işlemi parafin I, parafin II ve parafin III aşamalarında, birer saat 60°C'lik etüvde tutularak kord örnekleri transvers düzlemde kesilecek şekilde parafin içinde bloklandı. Bloklardan parafin mikrotom kullanılarak 5 µm kalınlığında seri kesitler, rutin boyama (HE) için Poly Lisin'li lamlara, immünohistokimya için pozitif şarjlı lamlar alındı. Pozitif şarjlı lamlara alınan kesitler, 60°C'lik etüvde 1 saat bekletilerek kesitlerin lam yüzeyine yayılması ve yapışması sağlandı. Daha sonra, 10'ar dakika ksilol I ve ksilol II aşamalarından geçirilerek deparafinizasyon gerçekleştirildi. Preperatlar, azalan alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70 etanolde) 1x5 dakika bekletilerek suya indirildi, 5 dakika distile suda tutulduktan

sonra, antijenik bölgelerin açılması için, preparatlar 0.01 M sitrik asit içinde 665 Watt'a ayarlı mikrodalgada 2x7 dakika kaynatılıp, sitrik asit içinde 25 dakika oda sıcaklığında bekletilerek soğutuldu. Kesitlerin etrafı hidrofobik kalemle çizilip, distile suya alınarak 2x5 yıkandı. Yıkamayı takiben metanol içinde hazırlanacak olan %3'lük H₂O₂ içinde 25 dakika oda ısısında bekletilerek, endojen peroksidaz aktivitesi bloklandı. Bloklama sonrasında preparatlar, 1X PBS içinde 2X5 dakika yıkanarak antikora özgün olmayan bağlanmalarını önlemek için UV bloklama solüsyonunda 5 dakika inkübe edildi. Bloklama sonrası 1/60 dilüsyon oranıyla primer antikor mikropipetle kesitlerin üzerine damlatılarak +4°C'de inkübe edildi. Negatif kontrol için, primer antikor yerine 1X PBS damlatıldı. Primer antikor uygulaması sonrasında kesitler 1X PBS'de 2x5 dakika yıkayıp oda ısısına getirilmiş polimer bazlı HRP işaretli rabbit'e özgü IgG'den 40 mikrolitre kesitlerin üzerine damlatılıp 25°C'de 30 dakika inkübe edildi. 2x5 dakika PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine DAB damlatılarak reaksiyon gelişimi ışık mikroskopunda kontrol edildi. Reaksiyon gelişimi yeterli düzeye ulaştığında, preparatlar 1XPBS içine alınarak reaksiyon durduruldu. Mayer's hematoksileniyle nükleer boyaması gerçekleştirildikten sonra preparatlar, artan alkol serilerinde dehidrate edilip ksilolden geçirildikten sonra Entellan kullanılarak lamelle kapatıldı. Kapatılan preparatlar Zeiss Axioplan ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı.

Rutin Histolojik Değerlendirme: Rutin histolojik değerlendirme ve hücre sayımı için Hematoxilen-Eosin boyaması yapıldı. Elde edilen preparatlar Zeiss Axioplan ışık mikroskopunda incelenerek fotoğraflandı. Rutin hematoxilen–eosin boyamaları yapılmış örnekler incelendiğinde; travma gruplarında kordun normal şeklinde ve simetrisinde deformasyon gerçekleştiği izlendi. Kontrol ve laminektomi grupları örneklerinde normal morfoloji izlendi. Spinal kord yaralanması oluşturulan tüm gruplarda örneklerin bir kısmında dorsal meninks yapısında deformasyon, ak ve gri cevherde hemorajik alanlara rastlanıldı. Tedavisiz spinal kord yaralanması grubunun bazı örneklerinde çok az miktarda nöronda eosinifili izlenmiştir. Kesitlerde gözlemlenen nöronların normal mikroskopiye sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm travma gruplarında gri cevher alanlarında glia hücresi miktarının biraz daha fazla olduğu izlenmiştir.



Şekil 3.3. Tüm gruplarda histolojik değerlendirme için yapılan HE boyamaları.

a-b: Kontrol grubu, **c-d:** Laminektomi grubu, **e-f:** Laminektomi + spinal kord yaralanması grubu, **g-h:** Laminektomi + spinal kord yaralanması+methylprednisolone tedavi grubu, **i-j:** Laminektomi + spinal kord yaralanması + pregabalin grubu. Spinal kord ön boynuz (yıldızlar), ön boynuz motor nöronları (siyah oklar), glia hücreleri (beyaz oklar). Travma gruplarında glia hücresi miktarının artmış olduğu izlenmekte.

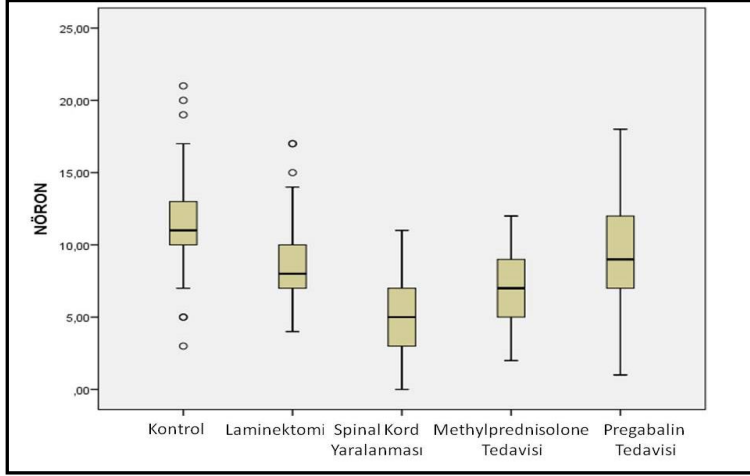
40X büyütmede standart dijital kamera görüntü alanına giren motor nöron ve glia hücresi sayımı yapılarak gruplar arasında farklılıklar istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Verilerin analizi konusunda; Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, medyan, range değerleri ile sunulmuştur. Çalışma gruplarının nöron, glia hücresi sayısı ve total hücre içinde nöronların oranı (%) karşılaştırılmasında Varyans analizi (ANOVA) testi ve ikili karşılaştırmalar (post. hoc.) için Sidak testi kullanılmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS 22.0 paket programı ile yapılmıştır.

Nöron Sayıları

Çalışma gruplarına göre nöron sayılarının farklı olduğu tespit edilmiştir (F=60,89, p<0,01). Kontrol grubu deneklerinde tespit edilen nöron sayısının diğer tüm gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,01). Laminektomi ve spinal kord yaralanması + pregabalin grubunda ölçülen nöron miktarlarının ise sham ile spinal kord yaralanması + methylprednisolone gruplarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,01).

Tablo 3.6. Nöron sayıları datalarının istatistiksel değerleri.

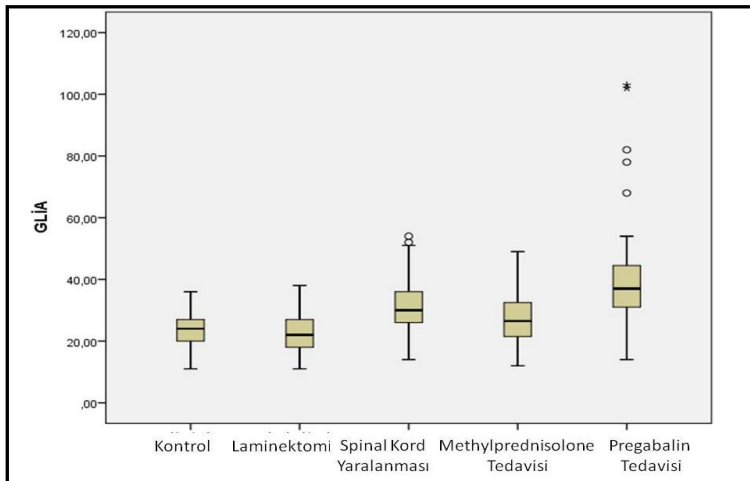
Grup	n	Ortalama	S.S.	F	p	İkili Karşılaştırma
Kontrol (1)	110	11,38	3,02			
Laminektomi (2)	73	8,64	2,68			
Laminektomi+spinal kord yaralanması (3)	65	5,06	2,55			
Spinal kord yaralanması+ metil-prednisolon (4)	84	6,80	2,59	60,89	0,01*	1>2,5>3,4
Spinal kord yaralanması+ pregabalin (5)	40	9,68	3,58			



Şekil 3.4. Gruplarda nöron sayısı ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesini gösteren grafik.

Glia sayıları

Çalışma gruplarına göre glia hücresi sayılarının farklı olduğu tespit edilmiştir ($F=42,02$, $p<0,01$). Spinal kord yaralanması + pregabalin grubu deneklerinde ölçülen glia hücre sayısının diğer tüm gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,01$). Spinal kord yaralanması grubu deneklerinde ölçülen glia hücre sayısının Kontrol, spinal kord yaralanması + methylprednisolone ve laminektomi gruplarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Kontrol, spinal kord yaralanması + methylprednisolone ve laminektomi gruplarında ise glia hücresi sayılarının benzer düzeylerde olduğu görülmüştür ($p>0,05$).



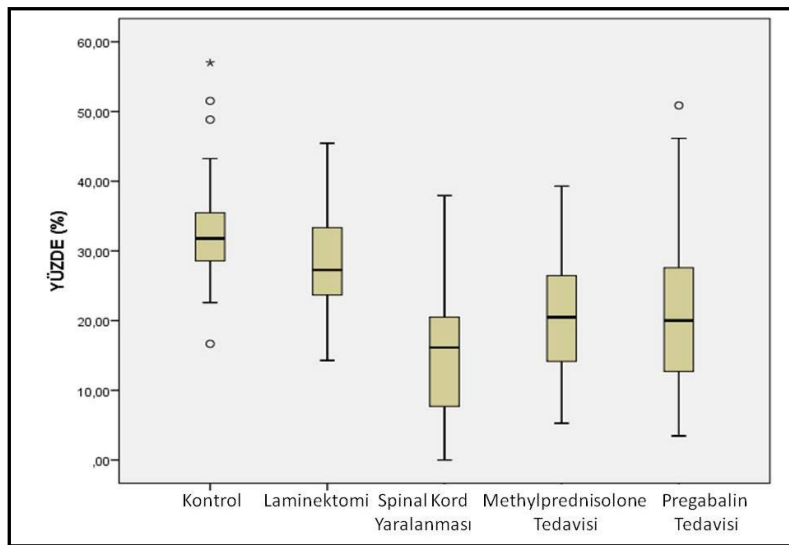
Şekil 3.5. Gruplarda glia sayısı ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesini gösteren grafik.

Tablo 3.7. Glia sayıları datalarının istatistiksel değerleri.

Grup	n	Ortalama	s.s.	F	p	İkili Karşılaştırma
Kontrol (1)	110	23,77	4,79			
Laminektomi (2)	73	21,92	5,76			
Spinal kord yaralanması(3)	65	31,65	8,75			
Spinal kord yaralanması+methylprednisolone (4)	84	27,40	8,34	42,02	0,01*	5>3>1,2,4
Spinal kord yaralanması+pregabalin (5)	40	42,35	19,24			

Total Hücre İçinde Nöron Oranı (%)

Çalışma gruplarına göre ön boynuz total hücre içinde nöron-glia hücresi oranlarının farklı olduğu tespit edilmiştir (F=72,79, p<0,01). Kontrol grubu deneklerinde hesaplanan nöron hücresi oranlarının diğer tüm gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,01). Laminektomi grubu deneklerinde hesaplanan nöron oranlarının kontrol grubundan düşük ve diğer tüm gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,01). Spinal kord yaralanması + methylprednisolone ile spinal kord yaralanması + pregabalin grubu deneklerinde belirlenen nöron oranlarının kontrol, laminektomi grubundan düşük ve spinal kord yaralanması grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0,01). Spinal kord yaralanması + methylprednisolone ve spinal kord yaralanması + pregabalin grubu nöron oranlarının farklı olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).



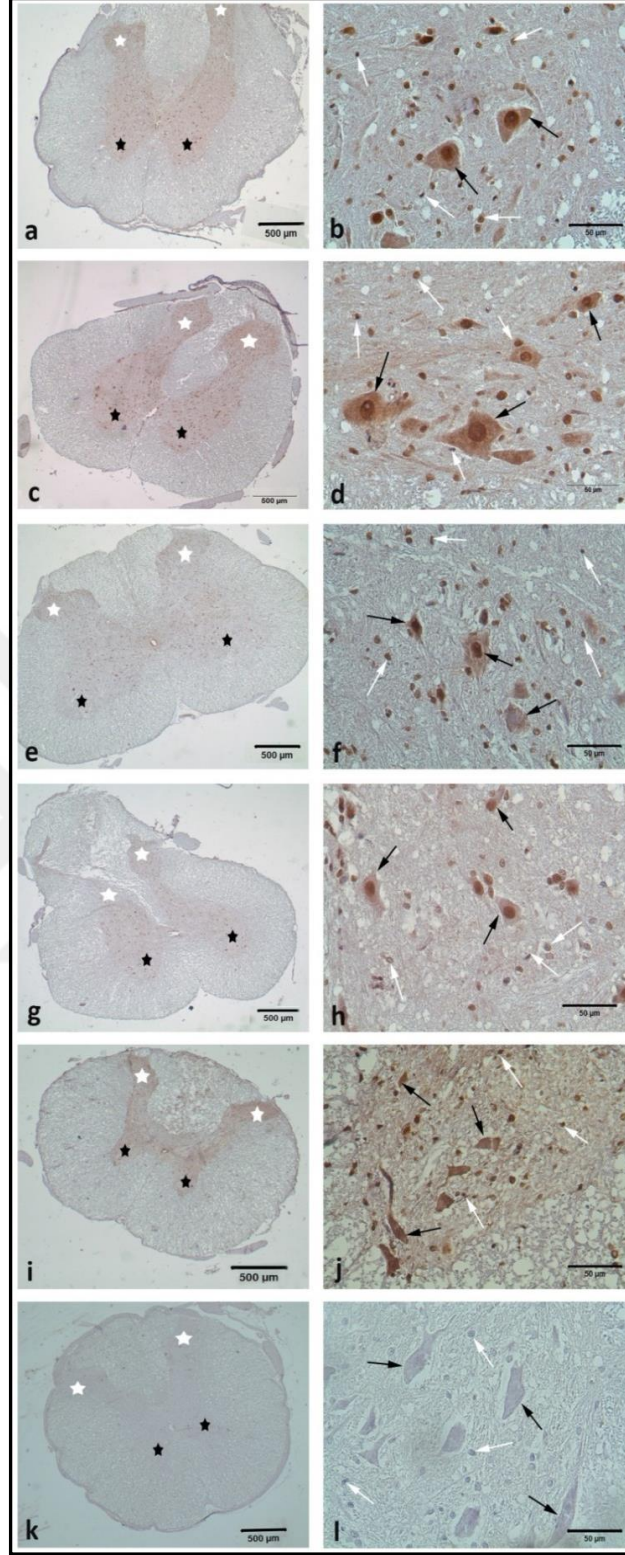
Şekil 3.6. Gruplarda total hücre içinde nöron oranı (%) ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesini gösteren grafik.

Tablo 3.8. Gruplarda total hücre içerisinde nöron oranı (%) datalarının istatistiksel değerleri.

Grup	n	Ortalama	s.s.	F	p	İkili Karşılaştırma
Kontrol (1)	110	32,38	5,88			
Laminektomi (2)	73	28,46	6,91			
Spinal kord yaralanması (3)	65	14,53	7,72			
Spinal kord yaralanması+ methylprednisolone (4)	84	20,52	7,96	72,79	0,27	1>2>4,5>3
Spinal kord yaralanması+ pregabalin (5)	40	21,14	10,35			

İmmünohistokimyasal ADNP Boyaması

İmmünohistokimyasal incelemede tüm gruplarda nöron ve glia hücrelerinin ADNP pozitif reaksiyon verdiği belirlendi. Hem ön hem de arka boynuz nöron ve glia hücreleri ADNP pozitif reaksiyon verdi. Nöronlarda boyanmalar sitoplazmik ve nuklear yerleşim göstermekteydi. Gri cevherin ak cevhere göre bir miktar daha reaktivite göstermesi nöron ve glia hücrelerinin uzantılarının da ADNP içerdiği şeklinde yorumlandı. Ak cevherde yer alan glia hücreleri ve kanalis sentralis ependim hücreleri de pozitif reaksiyon göstermekteydi.



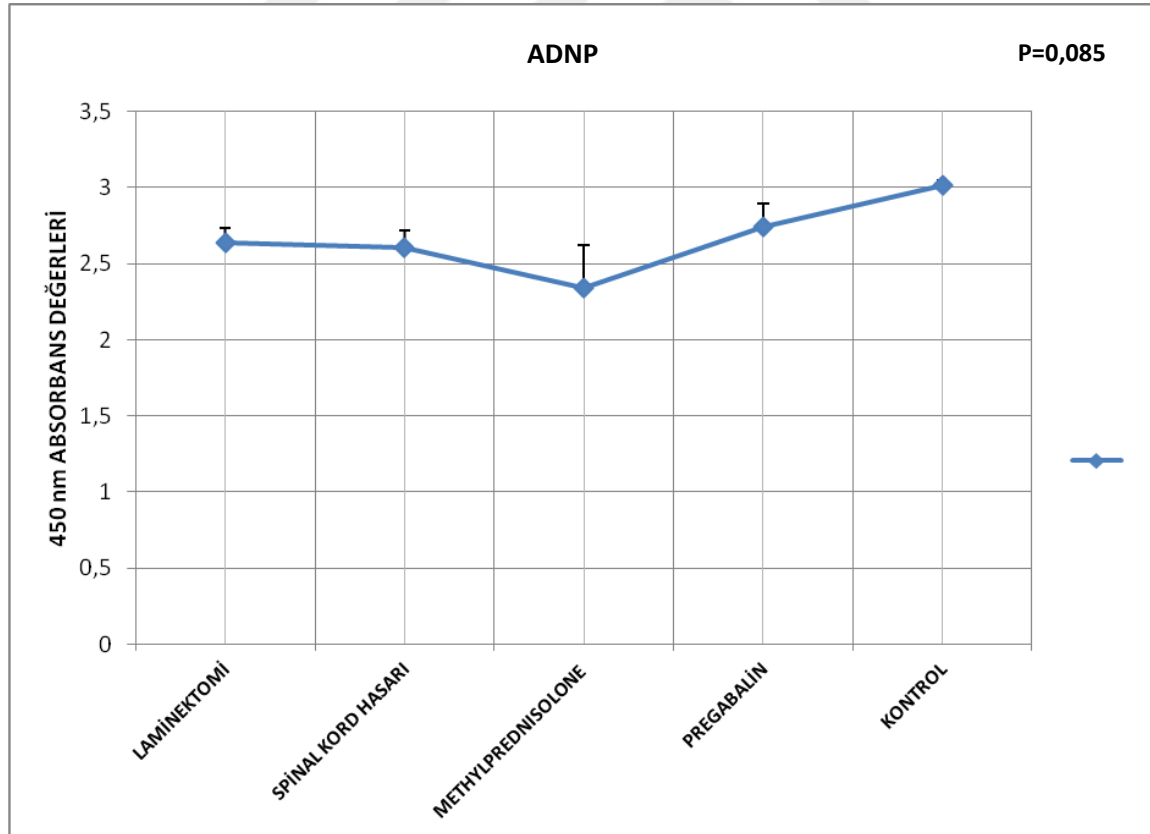
Şekil 3.7. Tüm gruplarda ADNP immünohistokimyasal boyaması.

a-b: Kontrol grubu, **c-d:** Laminektomi grubu, **e-f:** Laminektomi+spinal kord yaralanması, **g-h:** Laminektomi+spinal kord yaralanması+methylprednisolone tedavi grubu, **i-j:** Laminektomi+spinal kord yaralanması+pregabalin grubu, **k-l:** negatif kontrol boyaması. Spinal kord ön boynuz (siyah yıldızlar) ve arka boynuz (beyaz yıldızlar) nöronları ve glia hücreleri ADNP pozitif reaksiyon göstermekte. ön boynuz motor nöronları (siyah oklar) ve glia hücrelerinin (beyaz oklar) yüksek büyütmede ADNP pozitif reaksiyonu izlenmekte. Negatif kontrol boyamasında immün reaksiyon bulunmayıp sadece hematoxilen boyanması izlenmekte.

ELISA

Örneklerden alınan kan serumunda yapılan ELISA testinde en yüksek absorbands değeri ortalamaları kontrol grubuna ait örneklerden elde edilmiştir. Travma gruplarında ise Pregabalin grubu daha yüksek absorbands değerine sahipken farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

n:6	Laminektomi Grubu	Laminektomi + spinal kord yaralanması grubu	Laminektomi + spinal kord yaralanması + methylprednisolone grubu	Laminektomi + spinal kord yaralanması + pregabalin	Kontrol
	2,43	2,374	3,021	2,733	2,997
	2,65	2,593	2,552	2,885	3,028
	2,898	3,012	1,431	2,986	2,993
	2,345	2,315	2,794	2,828	3,102
	2,583	2,491	2,731	1,985	3,087
	2,93	2,853	1,532	3,014	2,867
Ortalama	2,639	2,606	2,344	2,739	3,012



Şekil 3.8. Gruplara ait ortalama absorbands değerlerine bağlı oluşturulan grafik.

Tablo 3.9. Gruplara ait ortalama absorbands değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi.

Grup ismi	N	kayıp	ortalama	Std Dev	SEM
Laminektomi	6	0	2,639	0,239	0,0975
Spinal Kord Hasarı	6	0	2,606	0,275	0,112
Methylprednisolone	6	0	2,344	0,685	0,28
Pregabalin	6	0	2,739	0,383	0,156
Kontrol	6	0	3,012	0,0844	0,0344
Değişimi kaynağ	DF	SS	MS	F	P
Gruplar arası	4	1,401	0,35	2,316	0,085
kalan	25	3,78	0,151		
Total	29	5,18			

4. TARTIŞMA

Spinal kord yaralanması çoğunlukla genç ve çalışan popülasyonda görülmektedir. Spinal kord yaralanması gelişen vakaların yarısından fazlası normal yaşantısına geri dönememektedir (86). Spinal kord yaralanması gelişen bireylerin yarısında tam spinal kord yaralanması gelişmektedir. Ortalama yaş 31,7 olarak saptanmıştır. Bunların %70-75'ini erkekler oluşturmaktadır (2). Etkilenen bireyde motor, duyu ve otonomik fonksiyonlarda değişiklikler görülmektedir. Spinal yaralanması geçiren bir bireyin yaşam boyu tedavi maliyeti 500 - 2.000.000 dolar arasında değişmektedir. Amerika ABD'deki bir yıllık spinal kord yaralanması gelişen tüm bireylerin tedavi masrafları 7 milyar doların üzerindedir (2). Yaralanma şiddetine göre mortalite ve morbidite oluşturma dışında, hem iş kaybı, hem de psikososyal olumsuz etkileri olabilmektedir (3). Bu klinik sonuç hem etkilenen bireylerin ve yakın çevresinin, sosyal ve psikolojik olarak son derecede olumsuz etkilerken, genel olarak da iş gücü kaybı, yüksek tedavi ve rehabilitasyon maliyeti nedeniyle ülke ekonomisinde de önemli olumsuzluklar oluşturmaktadır.

Omurilik yaralanması patofizyolojisini daha iyi anlamak ve etkin tedavi protokolleri geliştirme amaçlı dünya çapında yüzlerce çalışma yapılmış ve yeni metotlar denenmiştir. Her bir çalışma patofizyolojik süreç ve tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkı sunmakla birlikte, kesin olarak ne patofizyolojik süreç, ne de tam etkin tedavi yöntemi bulunabilmiştir. Bu nedenle her geçen gün yeni çalışmalar başlamakta olup, bu çalışmalar genellikle iki yol üzerinden yapılmaktadır (95, 96). Birinci yol olarak nöroproteksiyon ile ilgili, yani sekonder spinal kord yaralanması veya spinal kord yaralanmasına sekonder gelişen patofizyolojik mekanizmalarla ilgilidir. İkinci yol ise nörojenerasyon ile ilgilidir. Bu çalışmamızda sekonder patofizyolojik olaylar üzerine çalıştık. Spinal kord yaralanması sonrası glutamat ve aspartat gibi eksitotoksik nörotransmitterlerin düzeyi hızla yükselir ve tekrar düşer. Bunların presinaptik salınımı, nöroakson / glial (özellikle oligodendrositlerde ve astrositlerde) hücreler üzerine yıkıcı etkisi olmaktadır. Glutamatın kaynağı gri ve beyaz cevherdir. Ekzotoksiklerin bu aşırı salınımı nöron ve glial hücrelerde apoptozisle sonuçlanabilmektedir (96, 97, 98). Bu çalışmalar çoğunlukla akut spinal kord yaralanması sonrası gelişen sekonder yaralanma mekanizmalar üzerine yoğunlaşmaktadır. Süreç boyunca birçok çeşit deneysel spinal kord yaralanma yöntemi kullanılmıştır. Ancak klomp kompresyon yöntemi ile geliştirilen deneysel spinal kord yaralanması insan kord yaralanmasına diğer yöntemlere göre hem vasküler, hem de doku

etkilenmesi açısından daha benzer olduğu bildirilmektedir. Çalışmalarda hem üretimi, bakımı kolay hem de maliyeti az olan ve patofizyolojik süreç açısından benzerlik gösterdiğinden sıklıkla ratlar kullanılmaktadır. Yapılan ve yapılmakta olan çalışmalarda ortak amaç nöral yapıların canlılığını ve fonksiyonunu korumaya yönelik veriler elde etmektir. Bizim de bu çalışmamızda nöroprotektif etkinliği olan ADNP (aktivite bağımlı nöroprotektör protein) üzerinden, klomp kompresyon yöntemi ile deneysel spinal kord yaralanması yaptığımız ratlarda rat'larda pregabalin etken maddeli ajanın nöroprotektif etkinliğini daha önce çalışılmamış bir parametre üzerinden değerlendirdik. Çalışmamızda daha önceki deneylerde kullanılan eğik düzlem testi uygulandı. Motor fonksiyon değerlendirilmesi için Drummond ve Moore kriterleri kullanıldı ve değerler günlük not edildi. ADNP (aktivite bağımlı nöroprotektör protein) kan düzeyleri doku düzeyleri çalışıldı. Her 5 grup sonuç verileri bir birleriyle kıyaslandı. Eğik düzlem testinde her 5 grup kıyaslandığında en yüksek değer işlem görmeyen grupta saptandı. En yakın grup laminektomi grubuyla anlamlı yükseklik farkı saptandı. Laminektomi yapılan grup ile spinal kord lezyonu oluşturulan diğer gruplar arasında da anlamlı yüksek fark saptandı. Ancak cerrahi işlem gören gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Kıyaslamayı sadece lezyon oluşturulan gruplar arasında yaptığımızda, spinal kord lezyonu oluşturulduktan sonra metil–prednisolon verilen gruba spinal kord oluşturulup pregabalin grup arasında anlamlı fark saptanmamakla birlikte, sadece spinal kord lezyonu oluşturulan gruba kıyasla anlamlı yükseklik saptandı.

Her 5 grubu motor fonksiyon değerlendirilmesi açısından kıyasladığımızda cerrahi uygulanmamış gruba sadece laminektomi uygulanan hastalar benzer olmakla birlikte, spinal kord lezyonu oluşturulan gruplarla anlamlı fark saptandı. Sadece spinal kord lezyonu oluşturulan gruplar kıyaslandığında motor fonksiyon yükseklik değerleri sırasıyla pregabalin grubu, metil prednisol grubu ve medikasyon uygulanmayan spinal kord lezyon grubu olarak sıralanmış, ancak aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Histolojik değerlendirme nöron sayısı açısından her 5 grup kıyaslandığında cerrahi yapılmamış grup en yüksek değer saptanmış olup, diğer en yakın değerlere sahip olan laminektomi grubu ve spinal kord lezyonu sonrası pregabalin uygulanan gruplarla anlamlı fark saptanmıştır. Laminektomi grubu ile spinal kord lezyonu sonrası pregabalin uygulanan gruplar benzer olmakla birlikte diğer geri kalan gruplara oranla anlamlı yüksek değerlere sahiptirler. Spinal kord lezyonu uygulanıp medikasyon uygulanmayan rat grubu ile spinal kord

lezyonu uygulanıp metil-prednisolon uygulanan gruplar benzer olup, düşük değerlere sahip saptanmıştır.

Glia hücreleri değerleri açısından değerlendirildiğinde en yüksek glial hücre sayısı pregabalin grubunda, ikinci sırada olan grup ise metil-prednisolon uygulanan grup olarak saptanmıştır. Her iki grup arasında ise anlamlı fark saptanmıştır. Cerrahi işlem görmeyen grup, laminektomi grubu ve spinal kord lezyonu uygulanıp medikasyon uygulanmayan gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Doku düzeyinde gri cevherin beyaz cevhere göre daha yoğun ADNP içerdiği saptandı. Kan ADNP düzeyleri kıyaslandığında yüksek değer açısından sırayla, cerrahi işlem görmemiş grup, pregabalin grubu, laminektomi grubu, spinal kord lezyonu uygulanıp medikasyon uygulanmayan grup ve metil-prednisolon grubu gelmektedir. Ancak değerler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Daha önce yapılan çalışmalara bakıldığında Ha KY ve arkadaşlarının yaptığı spinal kord kontüzyo modelinde çalışmada ratlar; 1) Sham grubu, 2) Kontrol grubu, 3) Spinal kontüzyo geliştirilip metil-prednisolon verilen grup, 4) Spinal kontüzyo geliştirilip pregabalin verilen grup olarak ayrılmıştır.

Sonuç olarak postop 1. ve 7. günde motor fonksiyon değerlendirme yapılmış, tüm gruplarda motor fonksiyonlarda iyileşme saptanmış olmakla birlikte, diğer gruplara kıyasla pregabalin verilen grupta anlamlı bir iyileşme sağlanmıştır. Ayrıca glial hücre apoptozunu indükleyen intrasellüler caspas-3 değerlerinde pregabalin uygulanan grupta, diğer gruplara oranla anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Sonuç olarak pregabalinin motor fonksiyon üzerinde olumlu etki ettiği, aynı zamanda nöroprotektör olduğunu saptadıklarını ifade etmişlerdir (103). Bizim alışmamızda pregabalinin motor fonksiyonlar üzerine, diğer spinal kord yaralanması oluşturulan medikasyon uygulanan ve uygulanmayan gruplara göre daha iyileştirici olduğu, ancak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır.

Ha KY ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmalarında; 1) Kontrol grup (kontüzyo, medikasyonsuz), 2) Kontüzyo sonrası metil-prednisolon verilen grup, 3) Kontüzyo sonrası minosiklin verilen grup, 4) Kontüzyo sonrası pregabalin verilen grup olmak üzere 4 rat grubu oluşturulmuştur. Sonuç olarak pregabalin uygulanan grubun motor fonksiyon skoru diğer gruplara oranla anlamlı yüksek saptadıkları belirtmişlerdir. Kordta lezyonun daha çok dorsal kısımda yerleştiğini, lezyonun kontrol grubunda en çok olduğunu saptamışlardır (104). Nöral yapı yoğunluğu açısından diğer gruplara oranla anlamlı yükseklik saptanmıştır. Glial hücre yoğunluğu ise pregabalin grubu ve

medikasyonsuz spinal kord yaralanması grubunda benzer olup, diğer gruplara göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Yapılan serum ve doku çalışmasıyla ADNP düzeyleri anlamlı olmamakla birlikte, diğer işlem gören gruplara oranla yüksek bulunmuştur.



5. SONUÇ ve ÖNERİ

Sonuç olarak motor fonksiyon değerlendirilmesinde etkinliği kabul görmüş metil prednisolona benzer sonuçlar elde edilmiştir. Nöral ve glial hücre yoğunluğu açısından pregabalin grubu diğer cerrahi işlem görmüş gruplara anlamlı yükseklik saptanmıştır. Ayrıca ADNP düzeyleri anlamlı bir fark olmazsa da, pregabalin grubunda daha yüksek saptanmıştır. Bu kısa sürede yapılan çalışmada sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda pregabalinin nöroprotektif etkinliği olduğu söylenebilir. Sekonder spinal kord yaralanmasının hiperakut, akut, subakut ve kronik fazları mevcuttur. Kronik fazı aylar hatta yıllar aldığı düşünüldüğünde ve motor fonksiyonlardaki iyileşme beklentisi 6 ay - 1 yıl arası devam ettiğine göre akut ve subakut dönemden ziyade kronik fazı da içeren deneylerin yapılması daha çok önem kazanacaktır.

6. ÖZET

Ratlarda Deneysel Spinal Kord Yaralanması Sonrası Kullanılan Pregabalin Etken Maddeli İlacın ADNP (Aktivite Bağımlı Nöroprotektif Faktör) Üzerinden Nöroprotektif Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Amaç: Travmatik spinal kord yaralanması, primer ve sekonder spinal kord yaralanması şeklinde ayrılır. Primer yaralanma, travma anındaki kompresyon ve traksiyon gibi mekanik etkiler sonucu gelişen aksonal yaralanma, nöral hücre membranında parçalanma ve vasküler yapılardaki hasara neden olmaktadır. Sekonder yaralanma ise primer spinal kord sonrası gelişen patofizyolojik ve metabolik olayların spinal kordta oluşturduğu hasarı tarifler. Sekonder spinal kord yaralanmasında glutamat gibi eksitotoksik nörotransmitterler spinal kord yaralanmasında önemli bir yer teşkil eder. Pregabalin glutamat gibi nörotransmitter salınımını azaltarak nöroprotektif etki gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmamızda rat'larda deneysel spinal kord yapılarak pregabalin adlı farmakolojik ajanın ADNP (Aktivite bağımlı nöroprotektif protein) üzerinden nöroprotektif etkisini değerlendirdik.

Gereç ve Yöntemler: 40 adet wistard türü erkek rat kullandık. Her biri 8 adet rattan oluşan 5 grup oluşturduk.

1. grupta cerrahi işlem yapılmadı.

2. grup sadece laminektomi yapıldı.

3. grup spinal kord yaralanması oluşturuldu (10 saniye torakal 9 klip kompresyon)

4. grupta spinal kord yaralanması oluşturuldu (10 saniye torakal 9 klip kompresyon)

Postoperatif 30. dakika - 12. saat - 24. saat - 36. saat - 48. saatte 30 mg/kg dozunda metil prednisolon intraperitoneal olarak uygulandı.

5. gruptaki ratlarda spinal kord yaralanması (10 saniye torakal 9 klip kompresyon) postoperatif 30. dakika -12. saat -24. saat - 36. saat - 48. saatte 50 mg/kg dozunda pregabalin verildi.

Tüm grupların günlük kilo takibi, motor muayene, eğik düzlem testi yapıldı. Postop 7. günde tüm ratlardan ortalama 5 cc kan alındı. T-9 ortada olacak şekilde 1 cm üs 1 cm alt olacak şekilde spinal kord tranvers olarak kesilerek alındı.

Bulgular: Nöral ve glial hücre yoğunluğu açısından pregabalin grubu diğer cerrahi işlem görmüş gruplara anlamlı yükseklik saptanmıştır. Ayrıca ADNP düzeyleri anlamlı bir fark olmazsa da pregabalin grubunda daha yüksek saptanmıştır. Bu kısa sürede yapılan çalışmada sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda pregabalinin nöroprotektif etkinliği olduğu söylenebilir.

Anahtar sözcükler: Rat, spinal kord, pregabalin, deneysel, nöroprotektif, ADNP



7. ABSTRACT

We Examined the Neuroprotective Effect of Pregabalin (GP) on the Level of ADNP (Activity Dependent Neuroprotective Factor) Which is Known as Neuroprotective, in a Rat Model of Spinal Cord

Purpose: Traumatic spinal cord injury consists of two types of injury. Primary injury: Initial mechanical trauma includes traction and compression forces. Blood vessels are damaged, axons disrupted, and neural-cell membranes broken. Secondary injury: initiated by primary injury and damaged the spinal cord by pathophysiological and metabolic events. The over-expression of excitotoxic neurotransmitter, such as glutamate, is an important mechanism of secondary injury after spinal cord injury. In our study, we examined the neuroprotective effect of pregabalin (GP) on the level of ADNP (Activity Dependent Neuroprotective Factor) which is known as neuroprotective, in a rat model of spinal cord injury.

Methods and Materials: Fourth Wistar male rats were randomly allocated to five groups; the 1. group (no any surgical approach), 2. group (laminectomy only), 3. group (spinal cord injury without medication), 4. group (spinal cord injury and the methylprednisolone treated), 5. group (spinal cord injury and the pregabalin treated group). Spinal cord injury was produced by clip compression. Functional evaluations were done using the inclined plane test and criteria of Drummond and Moore, evaluation of blood levels and tissue levels of ADNP were done by ELISA, and Immunohistochemistry. The glial cells and neural cells evaluated by Hematoxylin and eosin staining of tissue.

Results: There were no significant differences of motor function among spinal cord injury groups. There were significantly high number of neural cells in pregabalin group than third and fourth groups.

There were significantly high number of glial cells in pregabalin group than all other groups.

There were high level in pregabalin group than other, but it wasn't significantly differences in level of ADNP in all groups.



Conclusion: This experiment demonstrates that can act as a neuroprotector after SCI in rats due to high level of neural cell and glial cell.

Key words: Spinal cord, rat, injury, pregabalin, rat, ADNP



8. KAYNAKLAR

- 1) Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms: *J Neurosurg* 1991; 75: 15-26.
- 2) John W, McDonald MD <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673602076031> - cor1mailto:mcdonald@neuro.wustl.edu, Sadowsky C. Spinal-cord injury doi:10.1016/S0140-6736(02)07603-1.
- 3) Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. *Neurosurg* 1998; 42(4): 696-708.
- 4) Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996; 76: 319-70.
- 5) Croft TJ, Brodkey JS, Nulsen FE. Reversible spinal cord trauma: a model for electrical monitoring of spinal cord function. *J Neurosurg* 1972; 36: 402-6.
- 6) Dumont AS, Dumont RJ, Oskouian RJ. Will improved understanding of the pathophysiological mechanisms involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 713-20.
- 7) Gozes I, Douglas E. A New Concept in the Pharmacology of Neuroprotection. Brenneman Department of Clinical Biochemistry, Sackler School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv 69978, Israel; and 2 Section on Developmental and Molecular Pharmacology, Laboratory of Developmental Neurobiology, National Institutes for Child Health and Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA Received June 20, 1999; Accepted June 20, 1999.
- 8) Ashur-Fabian O, Perl O, Lilling G, Fridkin M, Gozes I. SNV, a lipophilic superactive VIP analog, acts through cGMP to promote neuronal. *Peptides* 1999; 20: 629-33.
- 9) Brenneman DE, Westbrook GL, Fitzgerald SP, Ennist DL, Elkins KL, Ruff MR. Pert Neuronal cell killing by the envelope protein of HIV and its prevention by vasoactive intestinal peptide. *Nature* 1988; 131: 639-42.
- 10) Sokolowska P, Passemard S, Mok A, Schwendimann L, Gozes I, Gressens P. Neuroprotective effects of NAP against excitotoxic brain damage in the newborn mice: implications for cerebral palsy. *Neuroscience Volume* 2011; 173: 156-68.
- 11) Ashur-Fabian O, Segal-Ruder Y, Skutelsky E. The neuroprotective peptide NAP inhibits the aggregation of the beta-amyloid peptide. *Peptides* 2003; 24: 1413-20.

- 12) Taylor CP <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121106003895> - aff1,<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121106003895> - cor1mailto:charles.taylor@pfizer.com Angelotti T, Fauman E. Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: The calcium channel $\alpha_2\text{-}\delta$ (alpha2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy* 2007; 73(2): 137–50.
- 13) Ben E. Pregabalin Pharmacology and Its Relevance to Clinical Practice. Menachem Article first published online: 17 AUG 2004 DOI: 10.1111/j.0013-9580.2004.455003.
- 14) Ha KY, Kim YH, Rhyu KW, Kwon SE. Pregabalin as a neuroprotector after spinal cord injury in rats. *European Spine Journal* 2008; 17(6): 864-72. First online: 20 March 2008
- 15) Carlson Bruce M. Formation of germ layers and initial derivatives". *Human Embryology & Developmental Biology*. Mosby, Inc. 1999; 62–68. ISBN 0-8151-1458-3. [1t. Pub. 1997].
- 16) <http://www.vanat.cvm.umn.edu/TFFLectPDFs/LectEarlyEmbryo> Carlson, Bruce M. "Chapter 4: Formation of germ layers and initial derivatives". *Human Embryology & Developmental Biology*. Mosby, Inc., 1999; 62–68. ISBN 0-8151-1458-3. <http://www.vanat.cvm.umn.edu/TFFLectPDFs/LectEarlyEmbryo>. [1t. Pub. 1997]
- 17) Forgács, G, Newman Stuart A. Cleavage and blastula formation". *Biological physics of the developing embryo*. Cambridge University Press 2005; 27. ISBN 978-0-521-78337-8.
- 18) Brauer PR. Carlson, *Human Embryology & Developmental Biology*, 2nd edition 20. *Human Embryology: The Ultimate USMLE Step 1 Review*
- 19) Gilbert, *Developmental Biology*, 6th edition
- 20) Purves D, Lichtman JW. *Principles of neural development* Sinauer Assocs, Sunderlande 1985.
- 21) Sadler TW, Jan L. Chapter 3: Primera semana del desarrollo: de la ovulación a la implantación". In Seigafuse, Sonya.Langman, *Embriología médica*. Lippincott Williams & Wilkins, Wolters Kluwer 2012; 29–. [1st. Pub. 2001].
- 22) Agreda S, Ferrés Torres V, Castro-Girona EM. Chapter 5: Organización del desarrollo: Fase de germinación". *Manual de embriología y anatomía general*. Universitat de València 1992; 72–85. ISBN 84-370-1006-3.
- 23) Catala M, Teillet MA, De Robertis EM, LeDouarin ML. A spinal cord fate map in the avian embryo: while regressing, Hensen's node lays down the notochord and

floor plate thus joining the spinal cord lateral walls. *Development* 1996; 122: 2599–610.

- 24) Campbell WW. DeJong's The Neurologic Examination.
- 25) Effects of altered expression of the neural cell adhesion molecule, N-CAM, on early neural development in *Xenopus* embryos Chris Kintner
- 26) Keith L, Moore TVN, Mark P, Torchia G. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*.
- 27) Cochard LR. *Netter's Atlas of Human Embryology*.
- 28) Dafny N. Chapter 3: Anatomy of the Spinal Cord. Department of Neurobiology and Anatomy, The UT Medical School at Houston.
- 29) Gray's Anatomy of the Human Body-Find-in depth information on the anatomy and physiology of the human body an yahoo education. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918, Newyork Bartleby. com. 2000
- 30) Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM. *Neuroscience*, 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. ISBN-10: 0-87893-742-0
- 31) Spinal cord. From Wikipedia, the free encyclopedia.
- 32) Levels and Classification, Young W, Keck WM, Spinal Cord Injury Center for Collaborative Neuroscience Rutgers University, Piscataway.
- 33) Canbay S, Gürer B, Bozkurt M, Comert A, Izci Y, Başkaya MK. Anatomical relationship and positions of the lumbar and sacral segments of the spinal cord according to the vertebral bodies and the spinal roots.
- 34) Dafny N. Chapter 3: Anatomy of the Spinal Cord. Department of Neurobiology and Anatomy, The UT Medical School at Houston.
- 35) Bergman RA, Afifi AK, Heidger PM. *Atlas of Microscopic Anatomy: Section 17 - Central Nervous System Plate 17.323 Spinal Cord* Peer Review Status: Externally Peer Reviewed.
- 36) The Nervous System: Sensory and Motor Tracts of the Spinal Cord PowerPoint® Lecture Presentations prepared by Steven Bassett Southeast Community College Lincoln, Nebraska.
- 37) Dafny N. Chapter 3: Anatomy of the Spinal Cord. Department of Neurobiology and Anatomy, The UT Medical School at Houston.

- 38) Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia AS, McNamara JO, Williams SM. Neuroscience, 2nd edition Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. ISBN-10: 0-87893-742-0.
- 39) Tveten L. Spinal cord vascularity I. Extraspinal sources of spinal cord arteries in man. *Acta Radiol.* 1976; 17: 1–16. [PubMed]
- 40) Lasjaunias P, Berenstein A. Surgical neuroangiography 3: Functional vascular anatomy of brain, spinal cord and spine. Heidelberg: Springer-Verlag 1990.
- 41) Rosenblum B, Oldfield EH. Spinal arteriovenous malformations: a comparison of dural arteriovenous fistulas and intradural AVM's in 81 patients. *J Neurosurg* 1987; 67: 795–802. [PubMed]
- 42) Miyasaka K, Asano T, Ushikoshi S, Hida K, Koyanagi I. Vascular Anatomy of the Spinal Cord and Classification of Spinal Arteriovenous Malformations *Interv Neuroradiol* 2000; 6(Suppl 1): 195–8. Published online 2001 May 15
- 43) *Interv Neuroradiol* 2000; 6(Suppl 1): 195–8. Published online 2001 May 15.
- 44) Tadie M, Hemet J. Morphological and functional anatomy of the spinal cord veins. *J Neuroradiol* 1985; 12: 320. [PubMed]. *SCI EPİSpinal Cord.* 2000; 38(11): 697-701.
- 45) Agrawal SK, Fehlings MG. Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: Role of Na, Na-K ATPase, the NA-H exchanger and the Na-Ca exchanger. *J Neuroscience* 1996; 16(2): 545-52.
- 46) Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003; 28(13): 1481-4.
- 47) Xarchas K, Bourandas J. Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003; 28(13): 1481-4.
- 48) Hughes JT. The Edwin Smith Surgical Papyrus: An analysis of the first case reports of spinal cord injuries. *Paraplegia* 1988; 26: 71-82. 40
- 49) Elsberg CA. The Edwin Smith Surgical Papyrus and diagnostic treatment of injuries to the skull and spin. *Ann Med. Hist* 1931; 3: 271-9.
- 50) Marketos SG, Skiadas P. Hippocrates. *Spine* 1999; 24: 1381-91.
- 51) Naderi S, Zileli M, Özer AF. Omurga Cerrahisinin Tarihçesi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi Ed. M. Zileli, Fahir Özer, 2. baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir 2002; 1-13

- 52) İplikçioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. M. Zileli, Fahir Özer, 1. Baskı, İzmir, Saray Medikal Yayıncılık 2002; 459-65.
- 53) Knoeller SM, Seifried C. Historical perspective: history of spinal surgery. Spine 2000; 25: 2838-43.
- 54) Markham JW. Surgery of the spinal cord and vertebral column, in Walker AE (ed): A History of Neurological Surgery. New York: Hafner 1967; 364-92.
- 55) Burke GL. F.I.C.S Chapter VIII. The Techniques of Traction and Manipulation of Spine.
- 56) Sonntag VKH. History of degenerative and traumatic disease of the spine. In a history of neurosurgery. Greenblat SH. American Association of Neurological Surgeons 1997; 355-7.
- 57) İplikçioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Omurilik Omurga Cerrahisi, Ed. M. Zileli, Fahir Özer, 1. Baskı, İzmir, Saray Medikal Yayıncılık 2002; 459-65.
- 58) Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. Spine 2002; 27(14): 1504-10.
- 59) Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. Neurosurgery 1999; 44(5): 1027-40.
- 60) Us AK. Vertebra Kırıkları: Erişim: http://www.medicine.ankara.edu.tr/surgical_medical/orthopaedics/turkish/kadro/kus/kuvertkirik.htm 19.04.2003. Erişim tarihi: 20.06.2003
- 61) Dumont RJ, Okonkwo DO, Subodh V, Hurlbert, RJ, Boulos PT, Ellegala, Dilantha B, Dumont AS. Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms Issue: Volume 24(5), September/October 2001; 254-64.
- 62) Fehlings MG, Sekhon LH, Tator CH. The role and timing of decompression in acute spinal cord injury. Spine 2001; 26: 101-10.
- 63) Baptiste DC, Fehlings MG. Pharmacological approaches to repair the injured spinal cord. J Neurotrauma 2006; 23: 318-34.
- 64) McDonald JW, Belegu V. Demyelination and remyelination after spinal cord injury. J Neurotrauma 2006; 23: 345-59.
- 65) Radojicic M, Reier PJ, Steward O. Septations in chronic spinal cord injury cavities contain axons. Exp Neurol 2005; 196: 339-41.

- 66) Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991; 75: 15-26.
- 67) Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade Charles Aidemise Oyibo *Acta Neurobiol Exp* 2011; 71: 281-99.
- 68) Ditunno JF, Little JW, Tessler A. Spinal shock revisited: a four-phase model. *Spinal Cord* 2004; 42: 383-95.
- 69) İplikçioglu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. *Omurilik Omurga Cerrahisi*, Ed. Zileli M, Özer AF, 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir 2002; 459-65.
- 70) Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms: *J Neurosurg* 1991; 75: 15-26.
- 71) Kakulas BA. Neuropathology: The foundation for new treatments in spinal cord injury. *Spinal Cord* 2004; 42: 549-63.
- 72) Tator CH, Koyanagi I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997; 86: 483-92.
- 73) Wrathall JR, Teng YD, Choiniere D, Mundt D. Evidence that local non-NMDA receptors contribute to functional deficits in contusive spinal cord injury. *Brain Res* 1992; 586: 104-4-143.
- 74) Wrathall JR, Teng YD, Choiniere D. Amelioration of functional deficits from spinal cord trauma with systemically administered NBQX, an antagonist of non-NMDA receptors. *Exp Neurol* 1996; 137: 119-26.
- 75) Zileli M. Omurilik yaralanmasının farmakolojik tedavisi. *Omurilik ve Omurga Cerrahisi*. Ed. Zileli M, Özer AF, 2. Baskı, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir 2002; 833-40.
- 76) Nashmi R, Fehlings MG. Changes in axonal physiology and morphology after chronic compressive injury of the rat thoracic spinal cord. *Neuroscience* 2001; 104: 235-51.
- 77) Nashmi R, Fehlings MG. Role of voltage gated K⁺ channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator* 2001; 14: 5-9.
- 78) Lucas JH, Wang GF, Gross GW. NMDA antagonists prevent hypothermic injury and death of mammalian spinal neurons. *J Neurotrauma* 1990; 7: 229-36.
- 79) Young W, Huang P, Kick K. Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the injury process: Editörler: Benzel EC, Tator CH. 1995; 4: 27-42. AANS, Illinois

- 80) Katoh S, Ikata T, Tsubo M, Hamada Y, Masry MSE. Possible implication of leukocytes in secondary pathological changes after spinal cord injury. *Injury* 1997; 28: 215-7.
- 81) Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 341-58.
- 82) Scwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996; 76: 319-70.
- 83) Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991; 75: 15-26.
- 84) Faden A, Lemke M, Simon R, Noble L. NMDA antagonist MK-801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: Behavioral, anatomic, and neurochemical studies. *J Neurotrauma* 1998; 5: 33-45.
- 85) Emery E, Aldana P, Punge MB. Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* 1999; 89: 911-20.
- 86) Li M, Ona VO, Chen M. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* 2000; 99: 333-42.
- 87) Springer JE, Azbill RD, Knapp PE. Activation of caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. *Nature Med* 1999; 5: 943-6.
- 88) Citron BA, Arnold PM, Sebastian C. Rapid up regulation of caspase-3 in rat spinal cord injury: mRNA, protein and cellular localization correlates with apoptotic cell death. *Exp Neurol* 2000; 166: 213-26.
- 89) Totoiu MO, Keirstead HS. Spinal cord injury is accompanied by chronic progressive demyelination. *J Comp Neurol* 2005; 486: 373-83.
- 90) Hagg T, Oudega M. Degenerative and spontaneous regenerative processes after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2006; 23: 264-80.
- 91) Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalinkiliç A, Unalan HI, Nas K, Orkun S, Tekeoğlu I. Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord* 1997; 35(8): 531-3.
- 92) Karamehmetoğlu SS, Nas K, Karacan I, Sarac AJ, Koyuncu H, Ataoğlu S, Erdoğan F. Traumatic spinal cord injuries in southeast Turkey: an epidemiological study.

- 93) Singh A, Tetreault L, Kalsi-Ryan S, Nouri A, Fehlings MG. Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury. *Clin Epidemiol* 2014; 6: 309–31. Published online 2014 Sep 23. doi: 10.2147/CLEP.S68889 PMID: PMC4179833
- 94) Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and Pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J* 2004; 4(4): 451-64.
- 95) Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B, Fehlings MG. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. *Neurosurg Focus* 2008; 25: E2. [PubMed]
- 96) Zhang Y, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in primary cortical neurons is inhibited by equine estrogens via down-regulation of caspase-3 and prevention of mitochondrial cytochrome c release. *BMC Neurosci* 2005; 6: 13. [PMC free article] [PubMed]
- 97) Park E, Velumian AA, Fehlings MG. The role of excitotoxicity in secondary mechanisms of spinal cord injury: a review with an emphasis on the implications for white matter degeneration. *J Neurotrauma* 2004; 21: 754–774 [PubMed]
- 98) Zhang Y, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in primary cortical neurons is inhibited by equine estrogens via down-regulation of caspase-3 and prevention of mitochondrial cytochrome c release. *BMC Neurosci.* 2005;6:13. [PMC free]
- 99) Káradóttir R, Cavelier P, Bergersen LH, Attwell D. NMDA receptors are expressed in oligodendrocytes and activated in ischaemia. *Nature* 2005; 438: 1162–6. [PMC free article] [PubMed]
- 100) Joshi I, Taylor CP. Pregabalin action at a model synapse: binding to presynaptic calcium channel alpha2-delta subunit reduces neurotransmission in mice. *Eur J Pharmacol* 2006; 553: 82–8. [PubMed]
- 101) Fehrenbacher JC, Taylor CP, Vasko MR. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. *Pain* 2003; 105: 133–141 [PubMed]
- 102) Wrathall JR, Teng YD, Choiniere D. Amelioration of functional deficits from spinal cord trauma with systemically administered NBQX an antagonist of non N-methyl-Daspartate receptors. *Exp Neurol* 1996; 137: 119-26.
- 103) Ha KY, Carragee E, Cheng I, Kwon SE, Kim YH. Pregabalin as a neuroprotector after spinal cord injury in rats: biochemical analysis and effect on glial cells. *J Korean Med Sci* 2011; 26(3): 404-11. doi: 10.3346/jkms.2011.26.3.404. Epub 2011 Feb 25

- 104) Ha KY, Kim YH, Rhyu KW, Kwon SE. Pregabalin as a neuroprotector after spinal cord injury in rats. *Eur Spine J* 2008; 17(6): 864-72. doi: 10.1007/s00586-008-0653-6. Epub 2008 Mar 20.
- 105) Kaptanoğlu E. Omurilik Yaralanmasının Patofizyolojisi. *TND No:10 Temel Nöroşirurji*; 1623-36.

