

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA
PROPOLİS'İN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Emre ÖZKARA

**Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2010**

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SPİNAL KORD TRAVMASINDA
PROPOLİS'İN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Emre ÖZKARA

**Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŐMANI

Prof. Dr. Metin Ant ATASOY

**ESKİŞEHİR
2010**

TEZ KABUL ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Emre ÖZKARA'ya ait "Deneysel Spinal Kord Travmasında Propolis'in Etkinliğinin Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 27.08.2010

Jüri Başkanı Prof. Dr. Metin Ant ATASOY
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Ramazan DURMAZ
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

Üye Prof.Dr. Ali ARSLANTAŞ
Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun/..../.....
Tarih veSayılı Kararı ile Onaylanmıştır.

Prof.Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Nöroşirürji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince, sahip oldukları bilgi ve deneyimlerini sürekli bana aktarmaya çalışan, eğitimimin her aşamasında ve koşulunda daima yanımda olan sayın hocalarım Prof. Dr. Metin Ant Atasoy, Prof. Dr. Erhan Coşan, Prof. Dr. Ramazan Durmaz, Prof. Dr. Ali Arslantaş ve Yrd. Doç. Dr. Murat Vural'a şükranlarımı sunarım. Bu tezin hazırlanmasında büyük katkıları Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Güngör Kanbak'a ve Ayşegül Oğlakçı Hanımefendi'ye, Propolisin temini, hazırlanması ve teknik analizlerinin yapılmasını sağlayan Altıparmak Gıda Sanayi ve Tic. Koll. Şti. (Balparmak) firması ve Gıda mühendisi Aslı Elif Sunay Hanımefendi'ye teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Özkara, E. Deneysel Spinal Kord Travmasında Propolis'in Etkinliğinin Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2010. Travmatik akut spinal travmanın patofizyolojisinde birbiri ile integre çok sayıda biyokimyasal ve moleküler kaskat sistemleri görev alır; sistemik vasküler değişiklikler, hücre içi elektrolit dengesi ve biyokimyasal değişiklikler, lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri, apoptozis, eksitoksisite, nörotransmitterler, immün cevap ve enerji metabolizması. Yapılan çalışmalar travma sonrası oluşan bu hasarlanma mekanizmasını önlemeye yada azaltmaya yöneliktir. Propolis, bal arılarından elde edilen antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteryal, nöroprotektif ve/veya tümörosidal etkileri gösterilmiş doğal bir maddedir. Deneysel spinal kord travma modeli oluşturulan çalışmamızda 35 sıçan kullanıldı. Kontrol grubunda 7 sıçan normal spinal kord biyokimyasal değerlerini saptanması için kullanıldı. Travma grubunda 7 sıçana total laminektomi yapılarak anevrizma klibi uygulanarak travma oluşturuldu. Travma çözücü grubunda 7 sıçana aynı yöntem kullanıldı ve intraperitoneal serum fizyolojik verildi. Travma ilaç 1 grubuna 7 sıçana aynı yöntem kullanıldı ve ayrıca travma sonrası 30. dk ve 4. saatte intraperitoneal 100 mg/kg propolis iki doz verildi. Travma ilaç 2 grubuna 7 sıçana aynı yöntem kullanıldı ve ayrıca travma sonrası 30. dk ve 4. saatte intraperitoneal 200 mg/kg propolis iki doz verildi. Tüm sıçanlar işlemden 48 saat sonra sakrifiye edildi. Propolis'in nörolojik iyileşme üzerine katkısı ve spinal kord dokusunda kaspaz 3 ve katepsin B ve L değerleri üzerine etkisi araştırıldı. Sonuçlarımız tedavi grubunun travma grubu ile karşılaştırıldığında nörolojik iyileşme üzerine anlamlı olarak etkili olduğunu göstermiştir. Tedavi grubu travma grubu ile karşılaştırıldığında kaspaz 3 ve katepsin b değerlerinde azalma tespit edilmiş fakat sadece travma ilaç 2 grubunda fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuçlarımız propolisin, spinal kord travmasında ikincil hasarlanmayı azaltarak nöroprotektif olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: spinal kord travması, propolis, nöroprotektif.

ABSTRACT

Ozkara, E. The Effect of Propolis Following Experimental Spinal Cord Injury. Eskisehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Neurosurgery, Eskişehir, 2010. The pathophysiology of traumatic spine cord injury involves complex interrelated process of biochemical and molecular events such as systemic vascular changes, cellular electrolyte imbalance and biochemical alterations, lipid peroxidation and free radical injury, apoptosis, neurotransmitter accumulations, immune response and energy metabolism. Recent studies have focused on to prevention or decrease to secondary injury. Propolis is a resinous substance collected by honeybees from various plant sources. Recently, it has been reported to possess various biological activities, such as antioxidant, antiinflammatory, neuroprotective and/or tumoricidal effects. The experimental spinal cord injury model was applied on 35 rats. In control group 7 rats were sacrificed to provide normal biochemical baseline values. In trauma group 7 rats underwent laminectomy and spinal cord injury was produced by extradural compression of the exposed cord by aneurysm clip. Same procedures were performed in 7 rats in trauma solvent group, so they also injected intraperitoneal saline. Same procedures were performed in 7 rats in trauma drug 1 group and propolis intraperitoneally administered two times 100 mg/kg at 30 min. and 4 hour after trauma. In trauma drug 2 group, 7 rats were performed same procedures and propolis intraperitoneally administered two times 200 mg/kg at 30 min. and 4 hour after trauma. All rats were sacrificed at 48 hours after trauma. The effect of propolis on neurological status and on caspase 3, cathepsin B and L levels in the spine cord tissue were studied. Our results demonstrated neurological improvement in propolis treated groups when compared to trauma group. Caspase 3 levels and cathepsin B levels were decreased in treatment group when compared to trauma group but only in trauma drug 2 group were significantly different. These results suggest that propolis may be an available agent to protect the spine cord from secondary injury after trauma.

Key Words: spine cord trauma, propolis, neuroprotective.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Medulla Spinalis Embriyolojisi	2
2.2. Medulla Spinalis Anatomisi	4
2.3. Spinal Travmanın Tarihçesi	10
2.4. Spinal Travmanın Epidemiyolojisi	10
2.5. Deneysel Spinal Travma Modelleri	13
2.6. Spinal Kordun Yaralanma Mekanizması	16
2.7. Spinal Kord Travmasının Patofizyolojisi	19
2.8. Spinal Kord Travmasında Farmokoterapi	29
2.9. Propolis	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Propolis	37
3.2. Nörolojik Muayene	39
3.3. Biyokimyasal Analiz	40
4. BULGULAR	42
4.1. İstatiksel Yöntem	42
4.2. Sonuçlar	42
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	54
KAYNAKLAR	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMPA	Amino Hidroksil Metilizaksolon Propiyonik Asit
APAF-1	Apopitoz Proteaz Aktive Edici Faktör-1
ATP	Adenozin Trifosfat
Ca	Kalsiyum
CAPE	Kafeik Asit Fenil Eter Esteri
EAA	Eksitatör Amino Asitler
FADD	Faz Bağımlı Domain Proteini
K	Potasyum
MRI	Manyetik Rezonans Görüntülemesi
Na	Sodyum
NASCIS	The National Acut Spinal Cord Injury Study
NMDA	N-Metil D-Aspartat
PMNL	Polimorf Nüveli Lökositler
SSS	Santral Sinir Sistemi
TICAM	Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör-Alfa
TRADD	Tümör Nekrozis Faktör Aracılı Domain

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
2.1. 20 Günlük Embriyo Görünümünün Şematize Edilmiş Hali (6)	3
2.2. İntrauterin 5½ Haftada Omuriliğin Transvers Kesiti (6).	4
2.3. Omuriliği Saran Omurganın Dizilimi; Yandan, Önden ve Arkadan Görünümü	5
2.4. Medulla spinalis ve spinal sinirlerin anatomik ilişkisi.	6
2.5. Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar (8).	9
2.6. Medulla spinalisin farklı seviyelerdeki transvers kesitleri (8).	9
2.7. Spinal kord travması birincil yaralanma mekanizmasına örnek manyetik rözanans görüntülemesi (MRI).	17
2.8. Spinal kord travması ikincil yaralanmaya örnek MRI görüntülenmesi.	18
2.9. Spinal kord travması ikincil yaralanmaya örnek MRI görüntülenmesi.	18
2.10. Akut spinal kord travmasının patofizyolojik sürecin şematize edilmiş hali.	20
2.11. Apoptozis şematizasyonu 1	24
2.12. Apoptozis şematizasyonu 2	25
2.13. Spinal kord travmasındaki patofizyolojik olaylar.	29
3.1. Cerrahi kesi öncesi sıçanın sırt kısmının tıraş yapılıp antisepti sağlanması.	34
3.2. Çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçilmesi.	34
3.3. Laminektomi sonrası açığa çıkarılan medulla spinalis.	35
3.4. Klip kompresyon yönteminde ile anevrizma klipi kullanılması.	35
3.5. Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu.	36
3.6. Alınan doku örnekleri	36
3.7. Propolis analizi	38

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Bazı insidans çalışmalarından örnekler (22)	11
2.2. Travmatik omurilik hasarını epidemiyolojisi	13
2.3. Deneysel akut spinal travma modelleri	15
2.4. Deneysel spinal kord yaralanmalarında takip parametreleri (42)	15
3.1. Propolis ürün bilgileri	37
3.2. Kullanılan propolisin sertifikasının Türkçeleştirilmiş hali	39
4.1. Eğik düzlem bulgularının gruplara göre dağılımı	43
4.2. Klinik nörolojik muayene bulgularının gruplara göre dağılımı	44
4.3. Kaspaz sonuçlarının gruplara göre dağılımı	45
4.4. Katepsin B oran bulgularının gruplara göre dağılımı	46
4.5. Katepsin L oran bulgularının gruplara göre dağılımı	47
4.6. Katepsin B ile Kaspaz 3 sonuçları arasındaki ilişki	48

1. GİRİŞ

Omurilik, beyin ile beden arasındaki duyuşal ve motor bilgi akışının sağlandığı, insan bedeninin sahip olduğu büyük bir hazinedir. Bu hazinenin hasarı yani omurilik yaralanması ile ilgili ulaşılabilen ilk bilgiler MÖ 2500-3000 yıllarında yazılmış olan Edwin Smith Cerrahi papirüsünde yer almaktadır. Burada omurilik yaralanması ‘tedavisi olmayan hastalık’ olarak tanımlanmıştır (1). Geçen yüzyıllar boyunca ve özellikle son yıllardaki teknolojidaki gelişmeler, deneysel çalışmalar ile elde edilen biyomekanik, histopatolojik ve moleküler veriler ve bilgiler sayesinde bu amansız hastalığa, artık, hasarlı omurgaya daha cesaretle ve bilgiyle yaklaşmaktayız. Günümüzde tedavisi olmayan hastalığın perdeleri aralanmış olup, artık 25-34 yaş arasındaki omurilik yaralanması olan hastaların travma sonrası ortalama beklenen yaşam süresinin 38 yıl olduğunu bilmekteyiz (2).

Akut spinal kord yaralanması sonrası gelişen nörolojik hasar, birincil mekanik yaralanma ile birlikte yaralanma sonrasında gelişen ikincil yaralanmayı izleyen nekroz ve daha geç görülmeye başlayan apoptozise bağlıdır (3). İkincil yaralanma, travmayı takip eden sistemik vasküler değişikliklerin, hücreşel iyon konsantrasyonlarının ve biyokimyasal olayların, apoptozisin, ekzositotoksisitenin, nörotransmitterlerin, lipit peroksidasyon ürünlerinin ve serbest oksijen radikallerinin, immün cevabın ve enerji metabolizmasının rol aldığı kompleks kaskat olaylar dizininin sonucudur (4).

Bu çalışmada tıbbi ve sosyal önemli problemlere yol açan travmatik omurilik yaralanmasının deneysel modeli oluşturularak, arılardan elde edilen, antiinflamatuvar, antioksidatif, nöroprotektif özellikleri tespit edilen doğal bir madde olan propolisin, spinal kord yaralanmasında tedavi edici özelliği araştırılmaya çalışılmıştır (5).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Medulla Spinalis Embriyolojisi

Sinir sisteminin gelişmesi embriyonik diskin oluşması ile başlar. Sinir sistemi, ektoderm katmanından meydana gelir. Disk ektodermini çember şeklinde kuşatan bölümler sinir sisteminin özgül parçalarının oluşmasına katkıda bulunmak için önceden programlanmıştır. Embriyonik gelişmenin 18. gününde nöral plak, tüp ve tepe oluşur. Önce, blastoporun önünde yer alan orta hat notokord dokusu, üzerinde yer alan baş uzantısının kalınlaşmasını ve bir nöral plak halini almasını indükte eder. Daha sonra plak üzerinde midsagittal bir nöral hendek belirir ve bunun her iki yanında yer alan ektodermal doku, nöral tepenin nöral katlar halinde zeminden yüksek bir yapı haline dönüşmesini sağlar. Bu katlar ise daha sonra orta hat üzerinde bir nöral tüp yapmak üzere birbirleriyle kaynaşırken aynı anda tüp köken aldığı ektodermden ayrılır. Katların kenarlarındaki bazı hücreler nöral tüp duvarına veya yeni oluşan tüpün üstünü örten yüzeyel ektoderme katılmaz ve bu hücreler nöral tepe hücreleri halini alır (6).

Nöral tüp oluşurken bunun lümeninin her iki yanında boylamasına bir hendek olan oluk limitans belirir ve tüpü bir dorsal yarı (alar plak) ile bir ventral yarıya (bazal plak) böler (6).

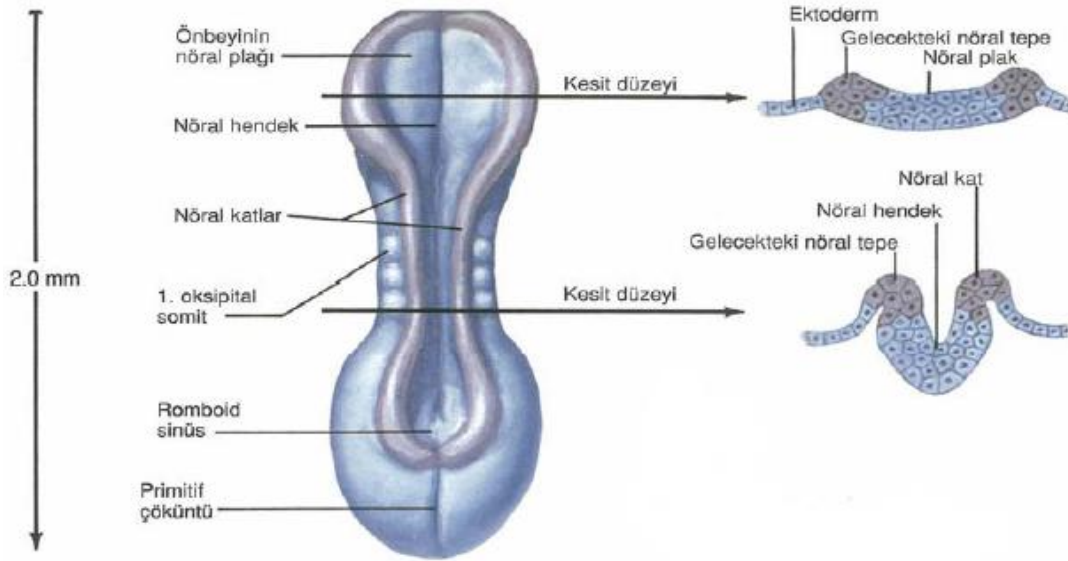
Omurilikte temel üç bölgeli kalıp erişkinde de korunur. Ependimal bölge merkez kanalın lümenini kaplayan silindirik hücreler halinde korunur. Manto bölgesi hücreleri gri cevheri yaparken marjinal bölgenin hücreleri beyaz cevher haline dönüşür. Gri cevher, beyaz cevher ile sarılı "H" harfi şeklinde bir kütle görünümü kazanır (6).

Sinir sisteminin alar ve bazal plaklara bölünmesiyle oluşan kalıbı izleyerek gri cevherin arka sütun nöral hücreleri (alar) duysal işlevler ile ilgilenirken yan-ön gri sütunlardaki hücreler (bazal) motor işleve sahiptir. Beyaz cevherin büyük bölümünde destek nöroglıyanın serpiştirilmiş hücre gövdeleri bir yana bırakılırsa nöral hücreler bulunmaz. Bu dokuyu omurilik ve beynin tüm düzeylerine yerleşmiş

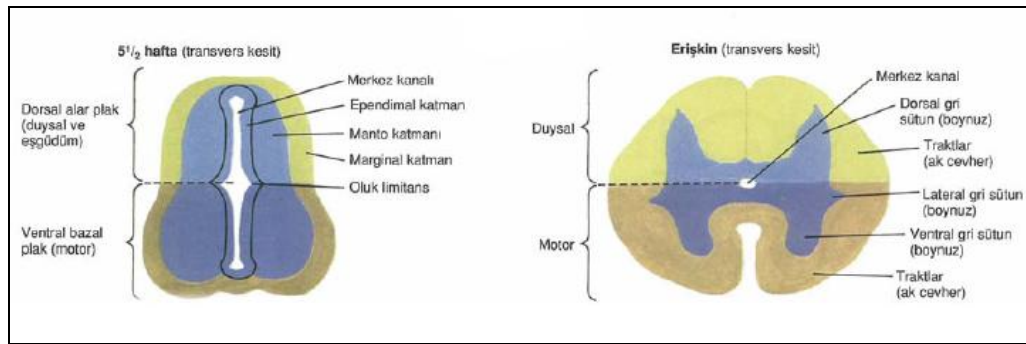
nöronlardan çıkan akson demetlerinin yaptığı çeşitli traktuslar ve funikuluslar oluşturur (6).

Geleceğin duysal hücreleri nöral tepeden göç eder ve omuriliğin iki yanında, bunun her segmenti için tek bir ganglion yapmak üzere omurilik boyunca kümelenir. Bu hücreler unipolar hücrelere dönüşürken merkezi uzantıları, manto katmanının dorsal gri sütunundaki nöronal hücre gövdeleri üzerinde sonlanmak üzere nöral tüp içine doğru büyür. Eş zamanlı olarak periferik uzantılar, omuriliğin aynı segmentine ait motor kök lifleri veya aksonların yanı sıra, aynı bağ dokusu kılıfı ile sarılmak üzere distale doğru büyür; bu bileşim bir spinal siniri oluşturur (6).

Gelişme hızlarının farklı olması nedeni ile, omuriliğin ucu ile omurganın ucu arasındaki ilişki gelişmenin devam etmesi ile değişikliğe uğrar. Doğum sırasında omurilik ikinci lomber omur hizasında son bulmaktadır (6). Embriyolojik gelişim Şekil 2.1 ve Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 20 Günlük embriyo görünümünün şematize edilmiş hali (6)



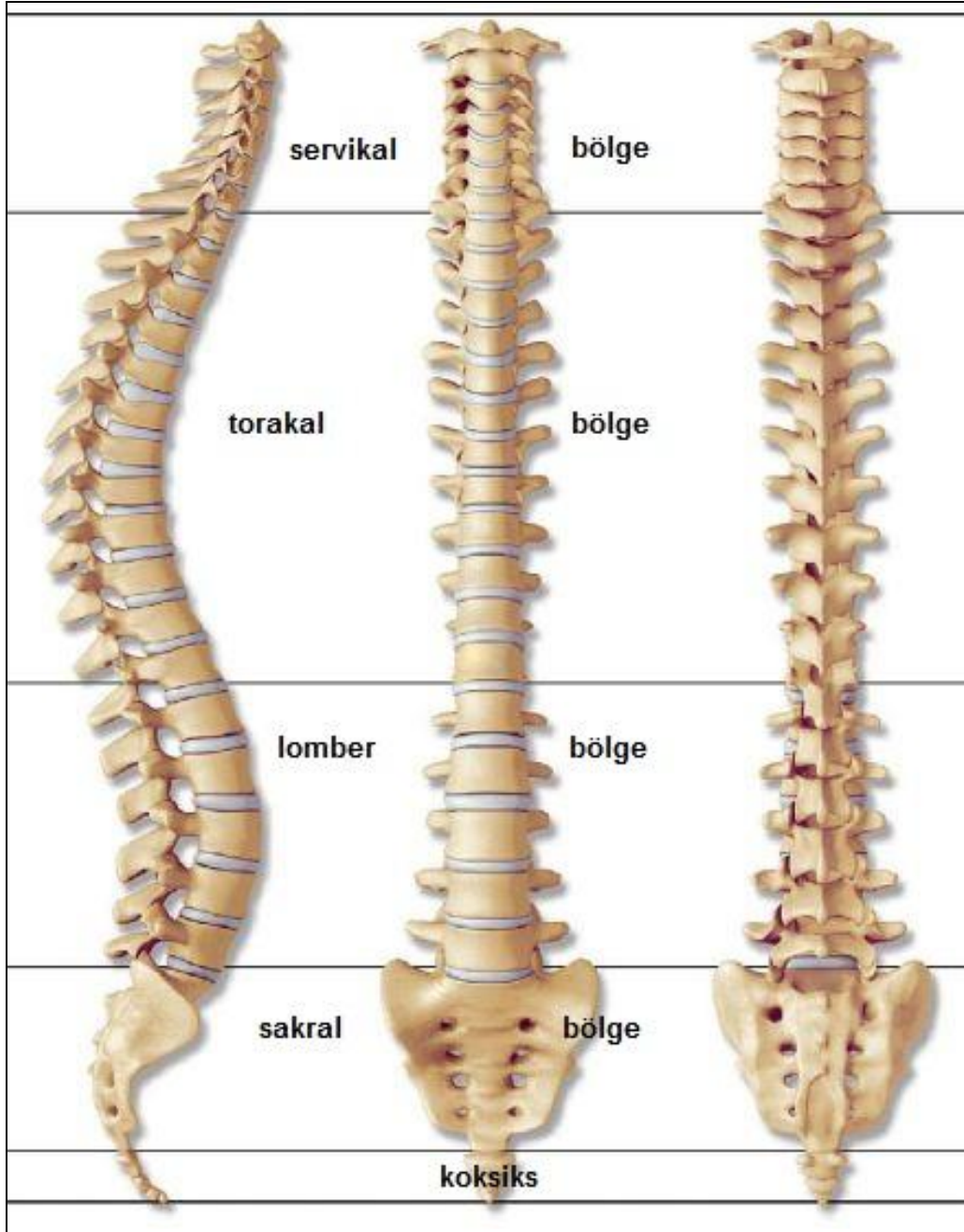
Şekil 2.2 İnteruterin 5½ haftada omuriliğin transvers kesiti (6).

2.2. Medulla Spinalis Anatomisi

Medulla spinalis, foramen occipitale magnumdan başlayarak canalis vertebralis içersinde kaudale doğru uzanan santral sinir sistemi kısmıdır. Uzun bir silindir şeklinde olan medulla spinalis, yeni doğanda üçüncü lumbal vertebra, erişkinde ise birinci lumbal vertebranın alt kenarı hizasında sonlanır. Erkeklerde kadınlara göre biraz daha uzun olan medulla spinalisin boyu, erişkin bir erkekte ortalama 45 cm. civarındadır. Medulla spinalis, foramen occipitale magnum seviyesinde medulla oblongata ile devam eder (7).

Medulla spinalisi saran zarlar, beyini saran zarların devamıdır. Bunlar, medulla spinalis çevresinde dıştan içe doğru dura mater spinalis, arachnoidea mater spinalis ve pia mater spinalis adını alır. Dura mater spinalis ve arachnoidea mater spinalis ikinci sakral vertebra seviyesinde kapanır. Pia mater spinalis, medulla spinalis alt ucunda kapanır ve bu seviyeden sonra filum terminaleyi oluşturur. Filum terminale, ikinci sakral vertebra seviyesinden itibaren dura mater ile birleşerek lig. koksegeum adını alır ve koksikse yapışarak sonlanır (7).

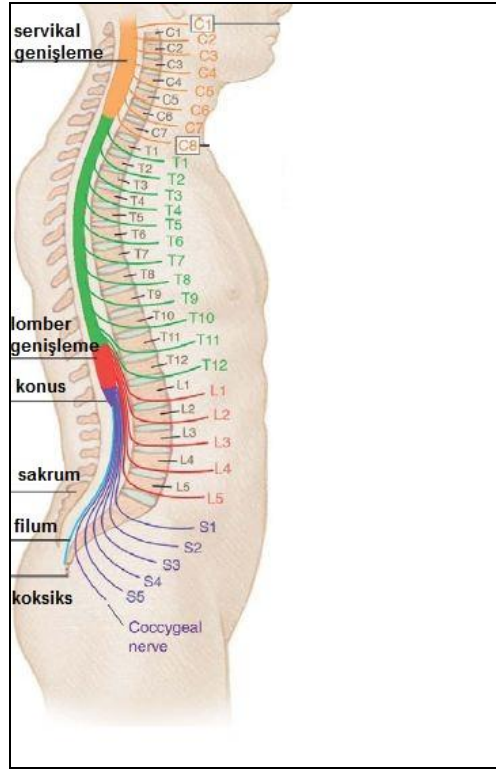
Medulla spinalisin ön ve arka tarafında longitudinal yönde seyreden oluklar vardır. Bunlardan ön taraftaki daha derin olup fissura mediana anterior, arka taraftaki ise sulkus medianus posterior adını alır. Bunlardan başka medulla spinalisin sağ ve sol tarafında, ön-dış yüzlerinde sulkus anterolateralis, arka-dış yüzlerinde sulkus posterolateralis adı verilen birer çift oluk daha vardır. Aşağıda Şekil 2.3'te omurganın anatomik yapısı izlenmektedir.



Şekil 2.3. Omuriliği saran omurganın dizilimi; yandan, önden ve arkadan görünümü

Spinal sinirler: Simetrik olarak düzenlenmiş omurilikten 31 çift (8 servikal, 12 torasik, 5 lomber, 5 sakral ve 1 koksigeal) spinal sinir bulunmakta olup bunlar omuriliğe sinir köklerini yapmak üzere kümelenmiş ventral ve dorsal sinir kökçükler veya filamentlerin yaptığı lineer bir dizi halinde bağlanmıştır. Her dorsal spinal sinir kökü üzerinde oval bir genişleme olan spinal (duysal) ganglion bulunur. Erişkinlerde,

üst servikal bölge bir yana, omurilik segmentleri karşılıkları olan omurdan değişik derecede daha yukarıda yer alır. Bu segmentler vertebral spinöz uzantılara göre konuşlandırılır. Omurilik segmentlerinin omur segmentlerine göre bu yer değişikliğine uğramaları, neden servikal genişleme yaklaşık olarak kendisine karşılık gelen hizada iken lomber genişlemenin son üç torasik omur hizasında olduğunu açıklar. Omuriliğin alt kısmına bağlanmış sinir kökleri dışarı çıkış noktalarına kadar kauda eküina olarak aşağı inmektedir (8). Medulla spinalis ve spinal sinirlerin anatomik ilişkisi şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Medulla spinalis ve spinal sinirlerin anatomik ilişkisi.

Medulla spinalis içyapısı: Omurilik bir dış lif katmanı olan beyaz cevher ile sarılmış nöropil bir nüve olan gri cevherden yapılmıştır. Gri cevher spinal nöronların hücre gövdeleri ve dendritleri ile bunlardan çıkan veya bunların üzerinde sonlanan aksonlar ve akson sonlanmalarından kuruludur (8).

Beyaz cevher, boylamasına giden lif traktlarının aksonlarından kurulmuştur (8). Merkezi sinir sisteminin diğer bölgelerinde olduğu gibi medulla spinalisin beyaz

cevheri, sinir lifleri, nöroglia ve kan damarlarından oluşmuştur. Gri maddeyi çevreler ve myelinli sinir liflerinin yüksek oranda bulunması nedeni ile beyaz olarak görülür (9). Gri ve beyaz cevher sınırları farklı omurilik seviyelerinde farklı şekildedir. Beyaz cevher servikal bölgede görece kalın olup aşağı indikçe kütlesi giderek azalır. Gri cevher ise servikal ve lomber genişlemelerde en fazla gelişmiş olup buralar ekstremitelerin motor ve duysal işlevlerine katılan nöronlardan yapılmıştır. Bu genişlemeler; intumescentia servikalis ve intumescentia lumbosakralis adı verilen fuziform genişlemelerdir (8).

Gri madde, sinir hücreleri uzantıları, nöroglia ve kan damarlarından oluşur (9). Kolumna anteriorunda sinir hücrelerinin çoğu büyük ve multipolardır. Aksonları spinal sinirlerin ön köklerinden iskelet kaslarını innerve eden alfa afferentler olarak çıkarlar. Daha küçük olanlar nöromuskuler içciklerin intrafusul kas liflerini innerve eden gamma efferentler olarak çıkarlar. Medial grup, çoğu segmentte bulunur, boyun ve gövdenin iskelet kaslarının innervasyonundan sorumludur; santral grup bazı servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur (nucleus nervi phrenici, n.nervi accessorii, n.lumbosacralis); lateral grup, servikal ve lumbosakral segmentlerde bulunur ve iskelet kası innervasyonundan sorumludur (9). Enine kesitte gri madde, kanalis sentralisi içeren komissura grisea ile birbirine bağlanmış kolumna anterior ve kolumna posteriorlardan oluşan bir “H” harfi şeklinde görülür. Torasik ve üst lomber segmentlerinde küçük bir kolumna lateralis bulunur (9). Kolumna posteriorunda 4 sinir hücre grubu vardır. Substansiya jelatinoza kolumnanın apeksinde bulunur, ağrı-ısı ve dokunma ile ilgili afferent alır. Nukleus proprius, omurilik boyunca posterior kolumnada bulunan hücrelerin ana kitlesini oluşturur, pozisyon, hareket duygusu, iki nokta ayrımı ve vibrasyon duygusu ile ilgili lifler alır. Nukleus dorsalis (Clark sütunu), 8. Servikal segmentten 3. ve 4. lomber segmente uzanır, proprioseptif sonlanmalarla ilgilidir. Visseral afferent çekirdek; 1.torasik segmentten 3. Lomber segmente uzanır, visseral afferent bilgi alımı ile ilgilidir (9). Kolumna lateralis, 1.torasik segmentten 2. veya 3. Lomber segmente kadar uzanır. Preganglionik sempatik lifleri verir. 2. 3. ve 4. sakral segmentlerde bu lifleri veren benzer bir hücre grubu bulunur (9).

Kanalis sentralis, medulla spinalis boyunca bulunur. Yukarıda m.oblongatının distal yarısının kanalis sentralisi ile devam eder ve 4. Ventrikül boşluğuna açılır.

Aşağıda konus medullaris içinde ventrikulus terminalis olarak genişler, filum terminalenin kökü olarak sonlanır. BOS ile doludur ve ependim denilen silialı kolumnar epitel ile döşelidir (9). Rexed adlı araştırmacı tarafından medulla spinalis gri cevherinin belirli bir laminasyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışmalar dokuz özgün laminasyonun bulunduğunu göstermiştir. Bunlar kornu posteriordan anteriora doğru romen rakamları ile ifade edilir. Kanalis sentralis etrafındaki bölge ise lamina X olarak tarif edilmektedir (10).

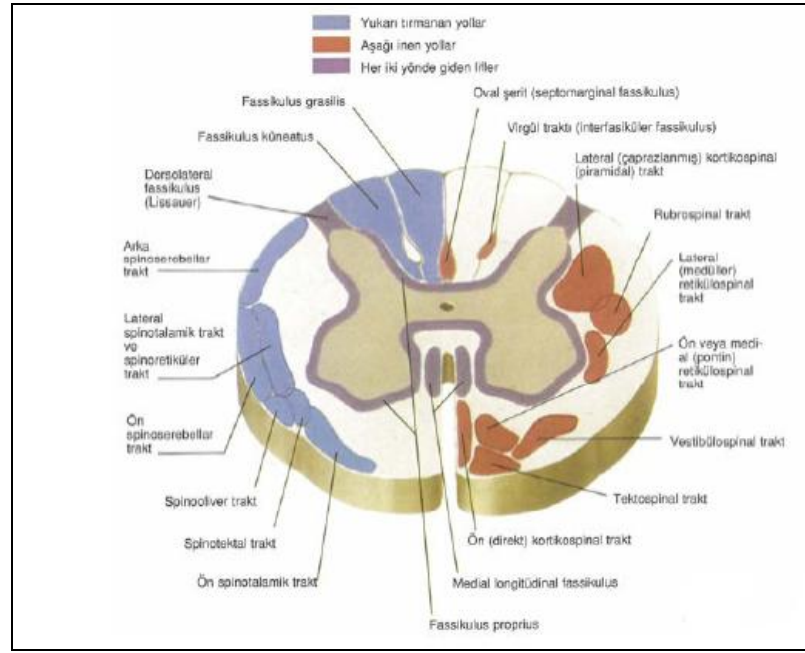
Beyaz cevher funikulus anterior, lateralis ve posterior olarak bölünebilir. Anterior, her iki taraf orta hat ile ön sinir kökü çıkışı arasında; lateralis, ön sinir kökü çıkışı ile arka sinir kökü girişi arasında; posterior, arka sinir kök girişi ile orta hat arasında yer alır (9). Çıkan yollar arasında vücudun alt ve üst parçalarından ince, ayırtedici duyuları taşıyan fasikulus grasilis ve fasikulus kuneatus yer almaktadır. Daha az ayırtettirici, daha yüksek eşige sahip duyular ön ve yan spinotalamik traktlar tarafından taşınmakta olup bu ikincisi ağrı ve sıcaklık duyularının taşınmasında özellikle önemlidir. Refleks aktivitesi ve motor denetime yakından katılan diğer çıkan yollar arasında arka ve ön spinoserebellar traktlar ile spinooliver, spinotektal ve spinoretiküler traktlar bulunmaktadır (8). İnen yollar iki gruba ayrılabilir;

Birinci grubun içinde kortikospinal traktlar ile rubrospinal trakt yer alır. Bu grup omuriliğin ekstremitelerin distal kaslarını denetleyen nöronları içeren dorsolateral bölgelerinde tercihan sonlanır. Bu traktların harabiyeti ekstremitelerin ince kademeli kontrolünün kaybı ile sonuçlanır (8).

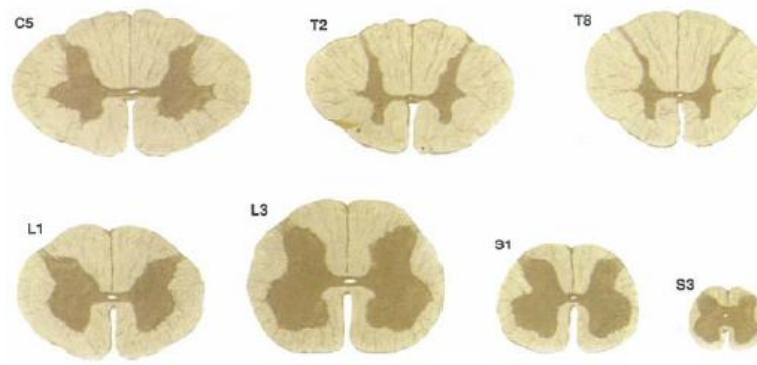
İkinci grup içinde medial longitudinal fasikulus içinde seyreden ve omuriliğin ventromedial bölgelerinde tercihan sonlanan ön ve yan retikülospinal traktlar, tektospinal trakt, yan ve medial vestibülospinal traktlar ve interstiospinal trakt bulunmaktadır. Bu bölgeler aksiyal ve proksimal ekstremitel kaslarını denetleyen nöronları içerir. Bu yolların harabiyeti postür ve doğrulma bozuklukları ile sonuçlanır. Motor etkilerine ek olarak inen yolların her iki takımı da duysal iletimi spinal yollar tarafından modülasyona uğratan lifleri de içerir (8).

Propriospinal yollar: Bazıları omuriliğe arka kökler yoluyla giren ve daha sonra omuriliğin diğer düzeylerindeki spinal nöronlar üzerinde sonlanmak üzere oval

şerit, virgül trakt, dorsolateral fasikulus (Lissauer), fasikulus grasilis veya fasikulus kuneatus içinde çıkan veya inen afferent liflerden kurulmuştur. Diğer propriospinal lifler spinal gri cevherdeki ara nöronlardan kaynaklanır. Propriospinal lifler topluca omuriliğin farklı düzeydeki aktiviteyi koordine ve spinal reflekslere aracılık etmede önem taşımaktadır (8). Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar ile transvers kesitleri aşağıda Şekil 2.5 ve Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Medulla spinaliste yer alan başlıca lif ve traktlar (8).



Şekil 2.6. Medulla spinalisin farklı seviyelerdeki transvers kesitleri (8).

2.3. Spinal Travmanın Tarihçesi

Spinal travma sadece günümüzün değil çok eski çağlardan bu yana insanların karşılaştığı durumlardandır. Bu durum eski Mısırlılar tarafından bilindiği gibi grekoromen dönemde de incelenmiştir. Edwin Smith papirusları omurga kırıklarının belirtildiği ilk belgelerdir. Bu belgenin Firavunların özel hekimi Imhotep (MÖ 2686-2613) tarafından yazıldığı sanılmaktadır. Bu belgede altısı omurga kırığı olmak üzere toplam 48 olgudan bahsedilmiştir (11). Grekoromen dönemde de spinal travmalar üzerinde durulmuştur. Bu dönem Hipokrat ile başlamış olup Celsus, Aretaeus, Galen Oribasius ve Aegina'lı Paulus dönemin ünlü tıp bilginleridir (12). Bu dönemde omurganın anatomisi, omurgaya yapışan kas ve tendonların yapısı, spinal dislokasyon, skolyoz ve posttravmatik kifoz tanımlanmıştır (12, 13).

Orta çağda yaşayan dönemin en önemli tıp adamı İbni Sina (981-1037) omurganın fonksiyonel anatomisi üzerinde durmuş ve Hipokratın kullandığına benzer traksiyon sistemleri kullanmıştır (14).

17. ve 18. yüzyıldan başlayarak günümüze kadar giderek artan bir ivme ile omurga ve omuriliğin ayrıntılı anatomisi, biyomekaniği, histolojisi ve fonksiyonel aktivitesi öğrenilmiştir.

2.4. Spinal Travmanın Epidemiyolojisi

Omurilik yaralanması ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar metotlardaki farklılıklar, çalışma yapılan toplumun sosyo-ekonomik düzeyi gibi farklılıklardan dolayı değişiklik göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde travmatik omurilik yaralanması insidansı yaklaşık olarak milyon popülasyonda 40'dır (15). Gene Birleşik Devletler'de yapılan hesaplamalara göre 25 yaşındaki bir omurilik yaralanmalı hastanın yaşam boyu sağlık harcama maliyeti 2.8 milyon dolar (16), omurilik yaralanmasına bağlı yıllık toplam sağlık harcama masrafı da 9.7 milyon dolar olarak bildirilmiştir (17).

Epidemiyolojik çalışmaları alt başlıklarda incelersek;

İnsidans: Yukarıda belirtildiği gibi omurilik yaralanması ile ilgili insidans oranları, çalışmanın yapıldığı ülke ve bölgeye değişiklikler göstermektedir. Bunun nedeni toplumların alışkanlıkları, travma nedenleri ve sıklığı gibi sebeplere bağlı olduğu gibi yapılan araştırmalardaki metodolojiye, çalışmaya dahil edilen ya da edilmeyen hasta popülasyonuna bağlı olmaktadır. Ülkemizde yapılan sınırlı epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde Karamehmetoğlu ve arkadaşları, travmatik omurilik yaralanması insidansını milyon popülasyonda İstanbul için %21, kırsal alan - güneydoğu illeri için %16.9 olarak bildirmişlerdir (18,19). Karacan ve ark. 2000 yılında yayımlanan çok merkezli, anketli, ulusal epidemiyolojik çalışmasında bu oran yine milyon popülasyonda %12.7'dir (20). Kanaatimize göre ülkemizdeki bu omurilik yaralanması insidans oranı, gerek kayıt ve takip sistemimizin zayıflığından ve gerekse kendi kliniğimizdeki vakalarımızdan dolayı kayıtlara göre çok daha fazla olduğunu düşünmekteyiz. İrlanda'da yapılan son çalışmada, dört yıllık bir takip süresi sonucu insidans oranı %19.54/100 000 kişi/yıl olarak sunulmuştur (21). Wyndaele' nin hazırladığı ayrıntılı gözden geçirme çalışması bu konudaki farklılıkları göstermektedir (22). Aşağıdaki Tablo 2.1 de bu bilgiler özetle yer almaktadır.

Tablo 2.1. Bazı insidans çalışmalarından örnekler (22).

ARAŞTIRMACI	GÖZLEM SÜRESİ	POPÜLASYON	İNSİDANS/MİLYON
Karacan ve ark.	1992	Türkiye	12.7
Warren ve ark.	1991-1993	Alaska/ ABD	83
Shingu ve ark.	1990-1992	Japonya	40.2
Chen ve ark.	1992-1996	Tayvan	18.8
Martins ve ark.	1989-1992	Portekiz	25.4
Asbeck ve ark.	1984	Hollanda	10.4
Burke ve ark.		İndiana/ABD	27.1
Pickett ve ark.	1994-1999	Onterio/Kanada	37.2-46.2
Dryden ve ark.	1997-2000	Alberta/Kanada	44.3
Albert ve ark.	2000	Fransa	19.4

Prevelans: Prevelans çalışmalarını incelediğimizde ise literatürde bu bilgilerin daha sınırlı olduğunu görmekteyiz. O'Connor Avustralya'daki prevelansını milyon popülasyonda 681, Dahlberg ve ark. Helsinki Finlandiya' da bu oranı 280 olarak bildirmişlerdir (23,24). Birleşik Devletlerde omurilik yaralanması prevelansı 2004 yılı için 250,000 kişi olarak düşünülmektedir (25). Ülkemizde ise bu konuda ayrıntılı bir çalışma maalesef bulunmamaktadır.

Yaş-Cinsiyet ve etyoloji: Omurilik yaralanmasının yaş, cinsiyet dağılımını incelediğimizde bu hastalığın genelde orta yaş ve erkeklerde daha sık olduğunu görmekteyiz. Ülkemizde Karaca ve ark. tarafından yapılan çalışmada erkek/kadın oranı 2.571 ve ortalama yaş 35.5 ± 15.1 olarak bildirilmiştir. Yaş dağılımı incelendiğinde ise 20-29 ve 30-39 yaş arasında yoğunluk vardır. Gene aynı çalışmanın verilerinden etyolojik faktörleri incelersek; trafik kazaları %48.8, düşme %36.5, kesici delici alet yaralanması %3.3, ateşli silah yaralanması %1.9 olduğunu görürüz (20). Omurilik yaralanmasının oluş mekanizması ve etyolojik sebepler itibariyle bu oranlar farklı toplumlarda farklı epidemiyolojik oranları meydana getirir. Örneğin Bangladeş'te bildirilen bir incelemede etyolojide en sık travma nedeni yüksekte düşme ve başının üzerinde ağırlık taşımadır. İrlanda'da ise binicilik sporu ve attan düşme etyolojide daha yüksek orana sahiptir (21). Travma oluş mekanizmasının değişmesi yada osteoporoz gibi altta yatan patolojik ve dejeneratif sürece bağlı olarak ileri yaşlarda düşmeye bağlı omurilik hasarı etyolojide ilk sırayı almakta ve bayanlarda daha sıklıkla görülmektedir.

Nörolojik seviye ve hasar: Omurilik yaralanmasında en sık oluşan hasar servikal bölgededir. Bunu torakolomber ve lumbosakral bölgeler izler (25). Nasıl ki etyoloji ile yaş ve benzer parametreler içi içe ise lezyon seviyesi ile meydana gelen hasar da iç içedir. Üst seviyedeki lezyonlar komplet, alt seviyedeki lezyonlar inkomplet yaralanmaya neden olur. Zileli ve ark.'larının 1982-1997 yılları arasında kendi kliniklerine başvuran hastalarda yaptıkları çalışmada, servikal bölge travmasında alt servikal bölge travma görülme oranı %78.5, üst servikal bölge travma görülme oranı %21.5 oranı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 42 hastanın 93 ünde tam omurilik hasarı, 55'inde kısmi omurilik hasarı, 28 hastada santral omurilik

hasarı, 20 hastada anterior omurilik hasarı, 8 hastada Brown-Sequard sendromu tespit edilmiştir (26).

Tüm bu anlatılanlar altında omurilik yaralanması ile ilgili epidemiyolojik bilgiler aşağıda Tablo 2.2' de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Travmatik omurilik hasarını epidemiyolojisi.

İnsidans: Yaklaşık 11,000/yıl
Prevelans: 200,000-250,000
Ortalama yaş: 32.1
Cinsiyet: %80.5 erkek
Etyoloji: Motorlu araç kazaları (%38.5); ateşli silah yaralanmaları; düşmeler; sportif ve diğer kazalar

2.5. Deneysel Spinal Travma Modelleri

Akut spinal kord travmasında tedavi edici yeni yaklaşımların geliştirilebilmesi için insan travma modeline benzer, uygulaması kolay ve aynı zamanda standardize edilebilir hayvan travma modellerine ihtiyaç vardır. Oluşturulan hayvan spinal kord travma modeli, insan spinal kord travmasının biyomekanik özelliklerine benzer olmalı, travma sonrası omurilikte benzer morfolojik ve patolojik özellikleri gösterebilmeli ve deneysel tedavi protokolleri sonrasında gelişecek fonksiyonel iyileşme insanlarda görülebilecek iyileşmeye benzer özellikler gösterebilmelidir.

İnsanlarda travmatik spinal kord travmalarının çok büyük bir kısmını, omurganın ya da intervertebral diskin travmaya bağlı olarak dislokasyon fraktürü ya da patlama kırığı oluşturur. Buna bağlı olarak spinal kord üzerine akut kompresyon veya laserasyon oluşmaktadır (27).

Dolayısı ile deneysel spinal kord travma modellerini oluşturmak için daha çok kompresyon tipi esas alınarak çeşitli travma modelleri geliştirilmeye çalışılmıştır (28).

Spinal kord yaralanmaları ile ilgili ilk çalışma 1890 ve 1897 yıllarında Lundberg tarafından yapılmıştır. Standardize edilmiş ilk model çalışma ise 1911 yılında Allen ve ark. (29) tarafından gerçekleştirilmiştir. *Ağırlık düşürme modeli* olarak tanımlanan bu modelde, dura üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık tüp içinden düşürülmüş, böylelikle travma oluşturulmuştur. Bu modelin en büyük dezavantajı, posterior kord kompresyonu oluşturmasıdır. Ancak insanlarda, anterior kord kompresyonu daha sık görülür. Ağırlık düşürme modelinin farklı sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. Daha sonra çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilen modellerin çoğu gerçekte Allen'in oluşturduğu modelin modifikasyonlarıdır (30,31,32).

Günümüze kadar epidural aralığa parafin enjeksiyonu, klemp ya da parmak ile kord kompresyonu, bone wax (balmumu) kullanımı, forceps ile kordun travması, balon kompresyon modeli gibi çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (33,34,35,36,37). Aşağıda tablo 3'de akut spinal travma modelleri yer almaktadır.

1978 yılında Tator ve Rivlin tarafından geliştirilen klip kompresyon modelinde ise omurilik çeşitli zaman aralıklarında anevrizma klipleri ile klibe edilmekte ve bu sayede değişen şiddet ve zamanla travma oluşturulabilmektedir. Bu modelde klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek istenen şiddette yaralanma oluşturulabilmektedir (38,39).

Bu modelin avantajı omuriliğin tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı zamanda iskemiye yol açmasıdır ki bu da insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmasına benzer bir model olmaktadır (40).

Tablo 2.3. Deneysel akut spinal travma modelleri.

<p>A. Travmatik yaralanma</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Akut kinetik kompresyon: kaf, klip, balon, impaktör 2. Akut statik kompresyon: ağırlık uygulama 3. Çarpma veya ağırlık düşürme 4. Akselerasyon-deselerasyon 5. Distraksiyon 6. Transsekiyon <p>B. Non-travmatik yaralanma</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. İskemi 2. Tümör kompresyon 3. Kimyasal ve fotokimyasal 4. Laser indüksiyon
--

Deneysel spinal kord yaralanması oluşturulan hayvanlarda, iyileşmenin takibi amacıyla birçok parametre geliştirilmiştir (Tablo 2.4) (42).

Bu parametrelerden biri olan Tarlov sistemi, klinik nörolojik muayenenin derecelendirilmesi esasına dayanan, subjektif bir yöntemdir (43). 1977 yılında Rivlin ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve objektif bir test olan Inclined Plane (eğik düzlem) ise, hayvanın eğik bir düzlem üzerine yatay pozisyonda yerleştirilmesinden sonra, düzlemin zeminle olan açısı giderek arttırılır; hayvanın 5 saniye süresince devrilmeden durabildiği en yüksek açı, o hayvanın Inclined Plane-eğik düzlem derecesi olarak belirlenir (42,44).

Tablo 2.4. Deneysel spinal kord yaralanmalarında takip parametreleri (42).

<ol style="list-style-type: none"> 1. Klinik muayene <ol style="list-style-type: none"> a. Subjektif: Tarlov motor skalası b. Objektif: Inclined plane 2. Histolojik Muayene <ol style="list-style-type: none"> a. Subjektif b. Objektif 3. Görüntüleme
--

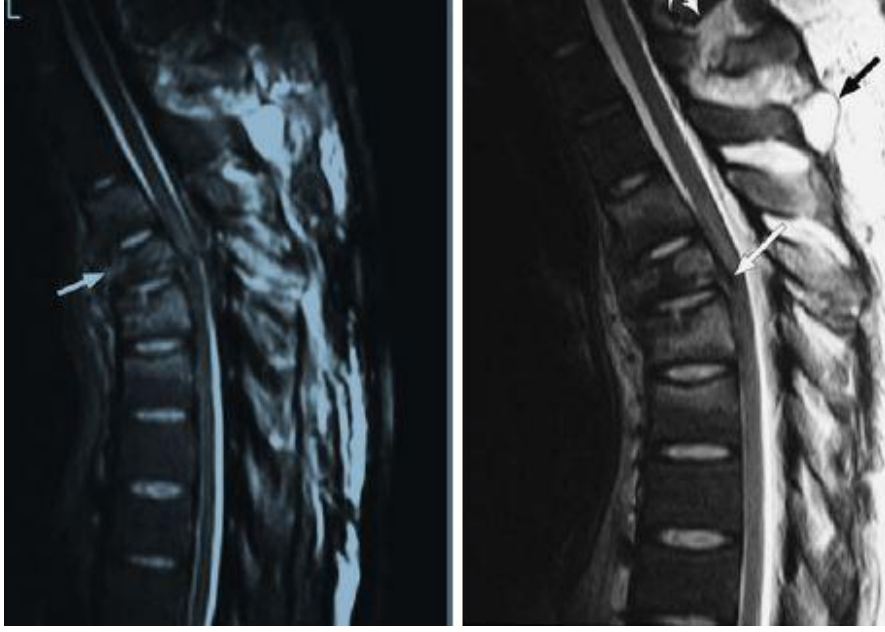
4. Anjiografi
5. Spinal kord kan ölçümü
6. Aksonal tarayıcılar ile değerlendirme
7. Biyokimyasal ölçümler
8. Nörofizyolojik değerlendirmeler

2.6. Spinal Kordun Yaralanma Mekanizması

Bugün artık kabul edilmektedir ki spinal travmanın oluş mekanizması ve devam eden patofizyolojik süreç birincil ve ikincil hasar mekanizması şeklinde yer almaktadır. Travmanın şiddeti ve oluş şekline bağlı olarak ortaya çıkan omurilik yaralanmasına birincil yaralanma denir. Birincil yaralanmadan sonraki saatler ve günler içerisinde bir dizi biyokimyasal ve fizyopatolojik sürece bağlı olarak gelişen medulla spinalis yaralanmasına ise, ikincil yaralanma denir (45).

2.6.1. Birincil Yaralanma

Birincil yaralanma genellikle hareketli omurga segmentinin dislokasyonu ya da kemik fragmentlerinin yer değiştirmesine bağlı olarak spinal kord üzerine künt kompresyon sonucu meydana gelen nöron ve aksonlardaki mekanik hasarlanmadır (27). Aşağıda Şekil 2.7’de mekanik hasarlanma sonrası korda oluşan kompresyon gösterilmiştir. İnsan spinal kord travmalarının çok büyük bir kısmında kordun tam kesisi yoktur. Başlangıçtaki dinamik kord kontüzyonundan uzun dönemde devam eden kord kompresyonuna kadar devam eden gidişatı vardır. Birincil yaralanmayı sonucu oluşan morfolojik ve klinik sonuçlar, spinal kord üzerine etki eden kompresyon gücüne, kompresyonun süresine, kordun yer değiştirme durumuna ve derecesine, etki eden kuvvetlerin aselerasyon derecesi ve travma anında kord tarafından absorbe edilen kinetik enerji miktarına bağlı olarak değişir (4,46,47). Travma doğası gereği eğer travma gerçekleşmiş ise birincil yaralanma önlenemez olarak öngörülmektedir.



Şekil 2.7. Spinal kord travması birincil yaralanma mekanizmasına örnek manyetik rönzonans görüntülemesi (MRI).

Şekil 2.7’de sagittal kesitte alınmış, T2 ağırlıklı görüntüleme izlenmektedir. Birinci resimde okla gösterilen vertebranın kompresyon ve dislokasyonu gösterilmiştir. İkinci resimde ok intervertebral diskin spinal kanala basısını göstermektedir. Her iki resimde de omurilikte hiperintens görünen ödem izlenmektedir.

2.6.2. İkincil Yaralanma

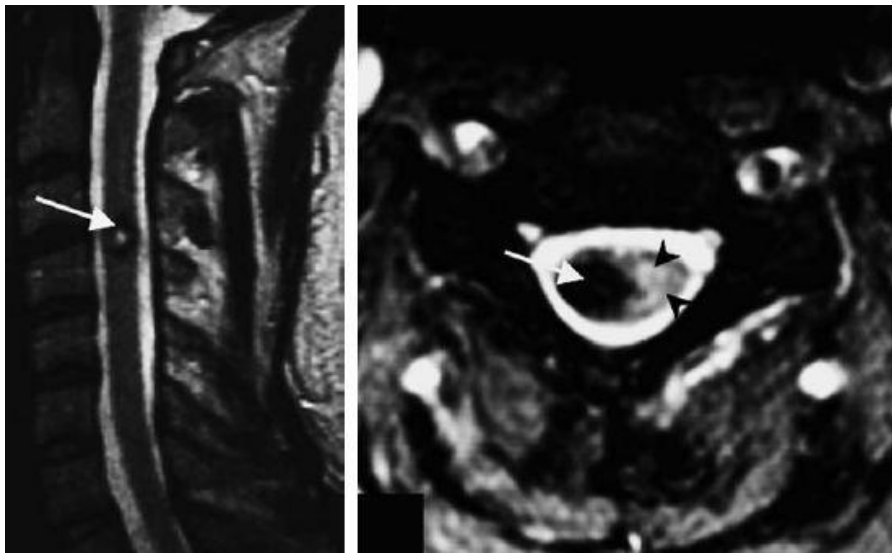
İkincil yaralanma modeli ilk olarak Allen 1911 yılında yaptığı çalışma sonucuna ortaya konulmuştur. Allen spinal travma oluşturduğu köpeklerde, posttravmatik hematomyelinin alınması ve myelotomi sonrasında nörolojik fonksiyonlarda iyileşme gözlemlemiştir. Bu sonuca dayanarak Allen, hemorajinin içinde bulunan bir biyokimyasal faktörün ilerleyici hasara yol açtığını teorize etmiştir. Günümüzde modern nörobilim, akut spinal kord travması sonrasında birçok kompleks, birbiri ile integre biyokimyasal ve moleküler olayların ilerleyici hücre hasarına ve ölümüne yol açtığını söylemektedir. Omurilik yaralanmasıyla oluşan patoloji, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalmaz. Kortikospinal inen yollardaki nöronlar omurilikteki lokal yaralanmadan etkilenerek atrofi, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar oluşabilir (4). Aşağıda Şekil 2.8 ve Şekil

2.9'da medulla spinalis travması sonrası görülen sekonder hasarlanma örnekleri verilmiştir.



Şekil 2.8. Spinal kord travması ikincil yaralanmaya örnek MRI görüntülenmesi.

T2 ağırlıklı sagittal kesitin olduğu resimde travma alanından başlayıp diffüz şekilde yayılan sinyal artışı izlenmektedir, oklar. Posttravmatik ödem.



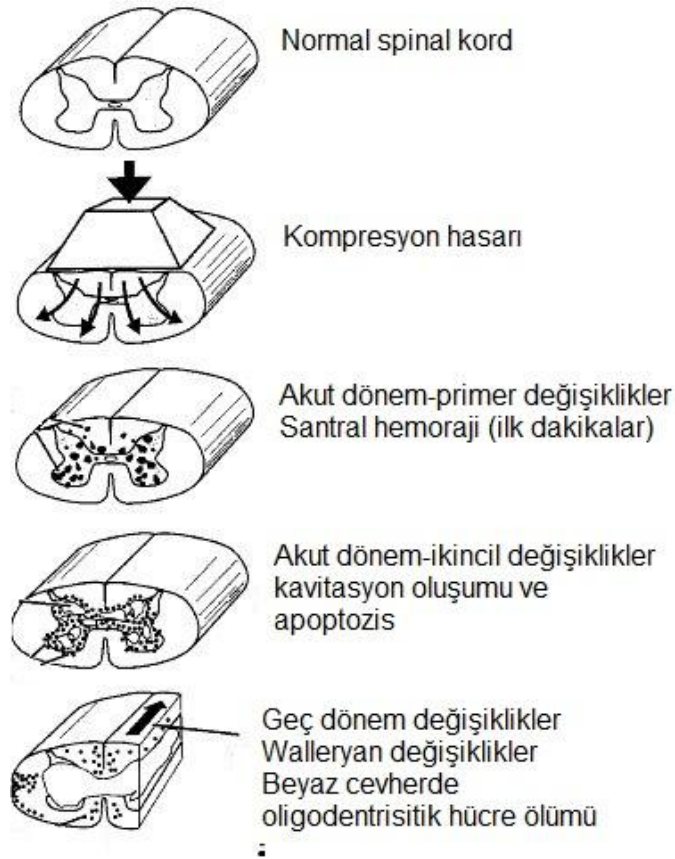
Şekil 2.9. Spinal kord travması ikincil yaralanmaya örnek MRI görüntülenmesi.

T2 ağırlıklı sagittal kesitin olduğu resimde etrafında hemosiderin çepherin izlendiği kanama alanı görülmektedir, beyaz ok. Aksiyel kesitte kanama alanının komşuluğuna yayılan sinyal artışı, ödem, siyah oklar.

2.7. Spinal Kord Travmasının Patofizyolojisi

Spinal kord travması sonrası oluşan akut kontüzyondan sonra ilerleyici patolojik değişiklikler oluşmaya başlar; bunlar hemoraji, ödem, nöronal nekroz, aksonal fragmantasyon, demyelinizasyon ve sonrasında kist formasyonudur (48,49). Elektron mikroskopisi ile yapılan çalışmalar sonucunda travma sonrası ilk beş dakikada gri madde venülleri etrafında eritrosit distansiyonu başlar (50). Bunu takiben, travma sonrası yaklaşık on beşinci ve otuzuncu dakikalarda perivasküler alanda küçük kanamalar ve bazı aksonal değişikliklerin oluşması başlar (50). Travma sonrası birinci saatte anterior ventral horn hücrelerinde karakteristik kromotolizis ve iskemi görülür (51). Dört saat sonra santral bölgede hemorajik nekroz oluşmaya başlar ve nekroz merkezden periferine doğru ışınal olarak yayılmaya başlar. Işık mikroskopisinde de görüldüğü üzere beyaz cevherde, gri cevher birleşme zonundan başlayan ilerleyici ödem ve spongiform değişiklikler tespit edilir (52,53). Aksonlarda mitokondri, nörofilament ve endoplazmik retinakülüm gibi bir çok organelin dahil olduğu glandüler dissolüsyon ve sonucunda da hücrede şişme görülür (48,49,54,55). Başlangıçta hasarlı bölgede polimorf nüveli hücre infiltrasyonu görülürken günler içerisinde makrofajların infiltrasyonu izlenir (56,57). Yaklaşık bir hafta içerisinde santral nekrotik alanda kistik değişiklikler oluşmaya başlar. Travma sonrası dördüncü haftada kronik değişiklikler oluşmaya başlayarak kistik kaviteler yerini astrositik gliozise ve demyelinizasyona bırakır (51).

Akut spinal travmanın patofizyolojisinde birbiri ile integre çok sayıda biyokimyasal ve moleküler kaskat sistemleri görev alır; bunlar sistemik vasküler değişiklikler, hücre içi elektrolit dengesi ve biyokimyasal değişiklikler, lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri, apoptozis, eksitoksisite, nörotransmitterler, immün cevap ve enerji metabolizmasıdır (4). Spinal kordun travma patofizyolojisi aşağıda Şekil 2.10'da şematize edilmiştir.



Şekil 2.10. Akut spinal kord travmasının patofizyolojik sürecin şematize edilmiş hali.

2.7.1. Sistemik Vasküler Değişiklikler

Spinal kord travmasının erken sistemik etkileri şok, bradikardi, hipotansiyon ve azalmış kardiyak output şeklindedir. Meydana gelen bu sistemik değişikliklerin sebebi azalmış sempatik tonus ve parasempatik myokardiyak etkidir. Bozulmuş olan otoregülasyon sonucu bölgesel end-kapiller kan akımı, sistemik arteryal basınca karşı pasif direnç oluşturur ve akımı azaltır (4,58). Aynı zamanda noradrenalin, dopamin ve seratonin gibi nörotransmitterler vasospazm oluşmasını sağlar. Bu durumda kan akımı giderek azalır ve iskemik süreci hızlandırır. Kord hasarının ciddiyeti posttravmatik iske mi ve aksonal disfonksiyon ile koreledir (59). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda travma sonrasında hemodinamiğin kısa sürede bazal seviyelere getirilmesi nöroprotektif etki sağlamaktadır (60,61). Spinal şok süresince gerek intravenöz mayilerle gerekse dopamin, streoid gibi ajanların kullanımı ile vasküler

direncin azaltılıp hemodinamiğin, kısa sürede, yeniden sağlanması tavsiye edilmektedir (62).

2.7.2. Hücre İçi Elektrolit Dengesi

Omurilik yaralanmasından sonra subpiyal bölgede kalan aksonlarda fonksiyonel ileti bozular. Bu aksonlarda refraktör periyod uzar, yüksek frekanslı ileti bozular, aktivasyon eşiği yükselir, ısı bağımlı ileti bloğu olur ve ileti hızı azalır. Hızlı aktive olan K⁺ kanalları, miyelin tarafından sarılmış olarak paranodal ya da internodal bölgelerde yerleşmiştir. Miyelin yaralandığında hızlı K⁺ kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli K⁺ denge potansiyeline yaklaşır ve aksonal ileti bloğu oluşur (63).

Santral sinir sisteminde (SSS)'de beyaz cevher yaralanmasında oluşan anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur. Na⁺ kanallarından hücre içine Na⁺ akar. İntrasellüler Na⁺ + konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, Na⁺-Ca⁺⁺ değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine zararlı miktarda Ca⁺⁺ girişine neden olur (64).

Kalsiyum iyon konsantrasyonu ekstrasellüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmasında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetmezliği ve bunun neticesinde Na⁺- Ca⁺⁺ değiştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, hücre içine Ca⁺⁺ iyon girişi olur. Ca⁺⁺ iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktifleyerek hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Fosfolipazlar hücre membranını yıkılmasını sağlayarak araşidonat gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz, araşidonik asiti prostaglandinler ve lökotrienlere dönüştürür. Fosfatazlar nitrik oksit sentetaz gibi diğer enzimleri aktifler, ayrıca Ca⁺⁺ iyon kanalları ve diğer iyon kanallarının çalışmasını düzenler. Hücreye Ca⁺⁺ girişi ve serbest radikal oluşumu eş zamanlı olur ve sinerjistik etki gösterebilir. Ca⁺⁺ iyonları mitokondrial respiratuar enzimlere bağlandığında elektron transportunu bozarak serbest radikal oluşmasına neden olurlar. Ca⁺⁺ tarafından aktive edilen fosfolipazlar ve proteazlar oksijen serbest radikalleri ile birlikte membranı yıkılmasına ve araşidonik asitin serbestleşmesine neden olur. Bundan başka, kuvvetli

vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla Ca^{++} girişine neden olurlar (65).

2.7.3. Apoptozis

Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü, sekonder spinal kord hasarında çok önemli bir rol oynamaktadır. Aşağıda bahsedileceği üzere ekzotoksisite, serbest radikal salınımı, sitokinler gibi çeşitli uyarımlarla aktive olmaktadır. Bilindiği üzere hücreler iki şekilde ölmektedir; nekroz ve apoptozis (66,67).

Nekroz klasik bilgi ile hücrenin pasif olarak şişmesi, enerji kaybı, mitokondriyal hasar ve internal hemostazın bozulması ile karakterizedir. Bunların sonucuna membran lizisi ve hücre rüptürü gelişir. Ortama salınan sitoplazmik ürünler inflamatuvar yanıtın başlamasını tetikler (68).

Apoptozis ise nekrozun tersine hücrenin kendini öldürmesidir. Apoptozis terimi ilk kez Kerr ve ark. (69) tarafından 1972 yılında kullanılmıştır. Kerr fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını görmüş ve buna büzüşme nekrozu adını vermiştir (69). Bu olayın dokularda tek tek hücre kaybına sebep olduğundan latince ayrı düşmek anlamına gelen apoptozis denmiştir (Apo; ayrı, Ptozis; düşmek) (69).

Apoptozis, doku dengesinde, farklılaşmada ve gelişmede önemli rol oynayan genetik olarak düzenlenen hücre ölüm şeklidir (70,71). Ayrıca dejeneratif hastalıkların gelişiminde de rol alır. Apoptozis protein sentezi ve enerji gerektiren hücrenin aktif ölümüdür (72). Apoptozis, önceleri hücre ölümünün fizyolojik bir şekli olarak düşünülmesine rağmen, patolojik hücre ölümüne de aracılık ettiği bilinmektedir (73,74). Apoptosis genetik olarak kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla regüle edilir (75,76). Embryonik gelişim esnasında nöronal hücre ölümünün bir formu olarak apoptozis uzun zamandan beri bilinmektedir. Apoptozis hücre intihar şeklidir ve hücre kendi kendisini aktif olarak yok eder. Bu olay nükleer büzülme ve DNA fragmantasyonu ile karakterizedir. Nekroza benzer olarak apoptozis de eksojen faktörlere bağlı olarak oluşur. Bunlar; radyasyon, hipertermi, eksitotoksinler ve serbest radikallerdir. Apoptozise giden hücre proteazlar tarafından otosindirime uğrar ve fagositler tarafından temizlenir. Bu olay inflamatuvar olay

gelişmeksizin ortaya çıkar. Morfolojik olarak apoptozisin nekroza göre ciddi farkları vardır. Bunlar; nükleusda kromatin kondensasyonu, nükleer büzülme ve DNA fragmentasyonudur. Membran ve organel yapıları korunur (76).

MSS'de apoptozis, hem nöronları hem de glial hücreleri etkiler (71,76,77,78). Glutamat, Ca²⁺ iyonları, serbest radikaller (76), fas bağımlı protein faktorleri (76) ve hücreler tarafından salınan sitokinler ve nitroz oksitler apoptozisin oluşumundan sorumludur. Kato ve ark.(79) 1996 yılında, Qiu ve ark. 2001 yılında kontüzyon sonrası spinal korda görülen apoptozisi, Lee ve ark.(80) 2000 yılında kompresyon sonrası spinal kordda, Kato ve ark. 1997 yılında iskemik yaralanma sonrası spinal kordda, Grossman ve ark. 2001 yılında nöronlarda, Zurita ve ark.(81) 2002 yılında glial hücrelerde apoptozisi göstermişlerdir. İnflamatuar hastalıklarda, nörodejeneratif durumlarda ve iskeminin sebep olduğu sinir sistemi hasarlarında son zamanlarda apoptozis büyük ilgi görmüştür (82,83,84,85).

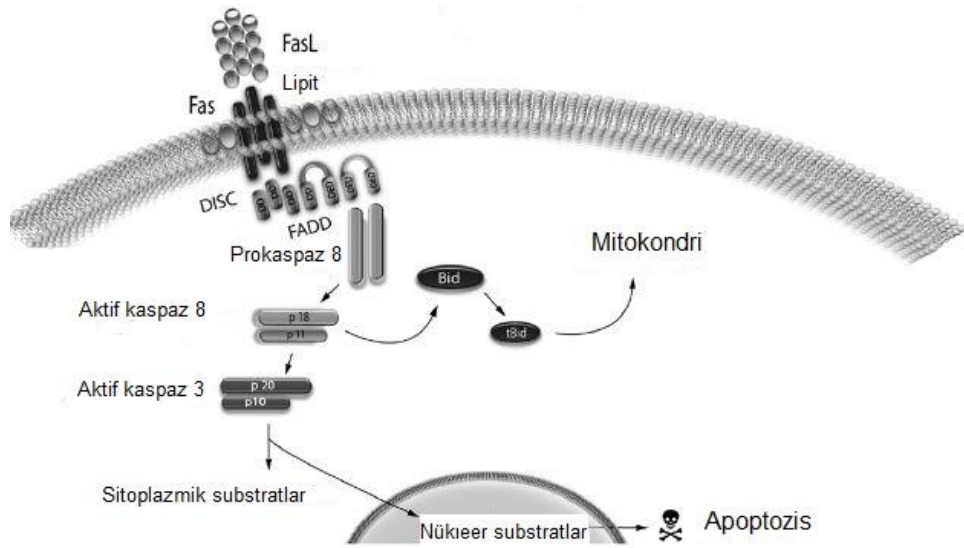
Apoptozis veya programlanmış hücre ölümü spinal kord travmasında önemli rol oynar ve glutaminerjik eksitotosisite, serbest radikal hasarı, sitokinler ve inflamatuvar yaralanma tarafından tetiklenir (86,87). Başlangıç yaralanmasından sonra spinal korda uygulanan travma ani fiziksel yaralanmaya neden olur. Günler ve aylarca süren doku yaralanması bu olayı izler. Sonuç olarak hücre nekroza veya apoptozise giderek son bulur (87).

Apoptozisin indüklenmesi için üç farklı yolak tanımlanmıştır (66,88):

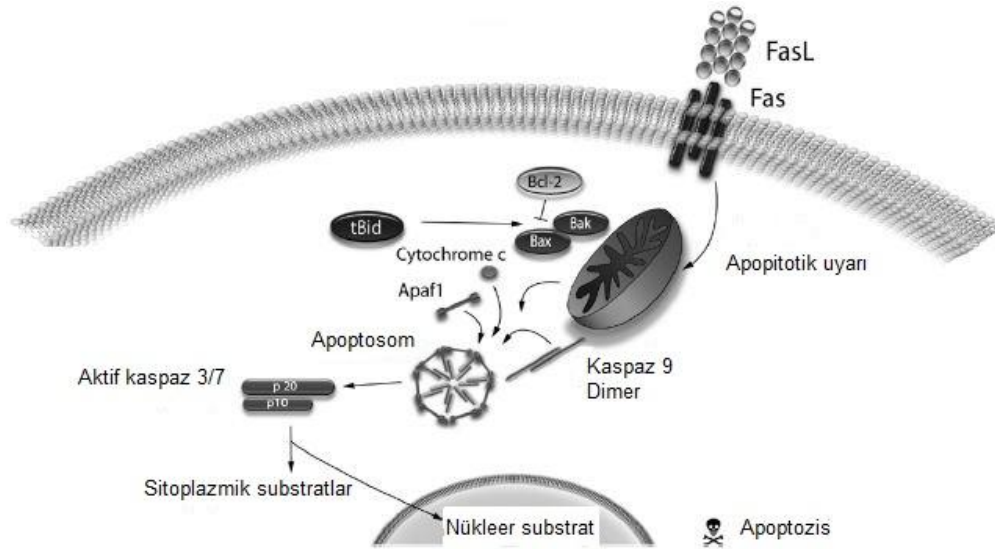
Birinci yolakta ölü hücre reseptörlerin ve ürünlerinin prokaspaz-8'i indüklemesi ile başlayan bir yol vardır. Spinal kord travması sonrası oligodendrositlerde görülen apoptotik dejenerasyon ölüm reseptörleri fas ve p75 ile bağlantılıdır. Diğer sistemlerde de oligodendrositlerde olduğu gibi apoptozis oluşumunda fas ve p75 in sorumlu olduğu gösterilmiştir. Fas reseptörü ile fas ligand karşılıklı etkileşimi FADD (FAS bağımlı olum domain proteini) aracılığı ile olur ve bunun sonucunda da kaspaz-8 aktive edilerek apoptotik döngü başlar. Kaspaz-3, fas ve p75 in her ikisi ile de aktiflenen efektor kaspazdır.

İkinci yolak mitokondriyal apoptotik yolaktır. Mitokondri tarafından kontrol edilen apoptotik proteaz aktive edici faktor (Apaf-1) ve kaspaz-9 u içerir. Ko-faktör nukleotid trifosfat (d-ATP ve ATP) ile aktive edilen sitokrom c ve Apaf-1 birleşerek prokaspaz-9'u aktive eder. Aktive kaspaz-9 da kaspaz-3'u aktive ederek kaspaz kaskadı sürdürülür. Mitokondri normal şartlar altında ATP oluşturmak üzere sitokrom c ihtiva eder. Mitokondriyal stres durumlarında serbestlenen sitokrom c apoptotik hücre ölümünde kaspaz-3 aktivasyonu için önemli rol teşkil eder (89,90).

Üçüncü yolak endoplazmik retikülüm aracılığı ile olan yolaktır. Endoplazmik retikülüm aracılı apoptotik yol, son zamanlarda amiloid 3 β nörotoksisitesine katkıda bulunan kaspaz-12 bağımlı endoplazmik retikülüm aracılı apoptotik yol tarif edilmiştir. Kaspaz-12 endoplazmik retikülümdan salınır. Son çalışmalar Ca^{+2} seviyelerinin ve kalpainin endoplazmik retikülümü etkilemesi ile prokaspaz-12 aktiflenir. Ayrıca kaspaz-7 salınımı ile de prokaspaz-12 salınımı arasında bir bağlantı bulunur (80,91,92). Aktiflenmiş kaspaz-12 sitoplazmaya yönelir. Kaspaz-9 ile karşılıklı olarak etkileşerek sitozolik kaspaz kaskadını aktive eder. Aşağıda Şekil 2.11 ve Şekil 2.12'de apoptozis mekanizması şematize edilmiştir.



Şekil 2.11. Apoptozis şematizasyonu 1



Şekil 2.12. Apoptozis şematizasyonu 2

Apoptozisin gerçek anlamda tam olarak mekanizması anlaşılmasına rağmen apoptozis ile bağlantı kurulan en önemli olay hücre içi sistein proteazlarının yani kaspazların aktivasyonudur. Kaspazlar, apoptozisi aktive eden sinyaller tarafından tetiklenir (93). Kaspazlar, (cysteine-dependent aspartate-specific proteases) kalsiyum bağımsız sistein sınıfının en önemli bölümünü oluşturur (94,95). Proksimal veya başlatıcı kaspazlar, terminal veya efektor kaspazlar olmak üzere iki grupta incelenir. Başlatıcı kaspazlar 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10 ve 12 olmak üzere 8 adettir. Efektör kaspazlar ise, proteinazlar tarafından aktive olur ve kaspaz 3, 6, 7, 11, 13 olmak üzere 5 adettir (96,97). Apoptozisin efektor fazında önemli bir rol oynayan sistein proteaz ailesi kaspazlardır. Kaspaz 3'ün nöronal gelişim ve yaralanmada oldukça önemli olduğu gösterilmiştir (97). Bu proteazın bozulması nörolojik defektlere yol acar. Deneysel iskemi ve travmatik beyin yaralanması sonucunda nöronal hücre ölümüne kaspaz- 3 aktivitesi katkıda bulunur. Bu iki yaralanmada da kaspaz inhibitörleri apoptozisi azaltmakla kalmayıp ayrıca hayvanlarda fonksiyonel iyileşme ile sonuçlanmıştır (94,96,97,98,99).

Günümüze kadar 14 kaspaz rapor edilmiştir. Merkezi sinir sistemi yaralanmasında görülen apoptozisde en önemli rol kaspaz 3'e aittir (100). Apoptozisin dış ve iç sinyallere bağlı olmak üzere iki yolu mevcuttur. Apoptozisin son fazı kaspaz 3 aktivasyonudur. Spinal kord yaralanmasını takiben nöronlar ve

glial hücreler apoptozise giderler (95,101). Dış sinyallerle meydana gelen apoptozide kaspaz kaskadı TNF- α 'nın TNFR1'e bağlanması ile başlar. TNF reseptör aracılı domain (TRADD) aracılığı ile ilerler ve trimerized ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) oluşur. Bu da başlatıcı kaspazlardan prokaspaz 8 veya prokaspaz 10'a bağlanır. Kaspaz 8, travmatik beyin yaralanması sonrası görülen apoptozide kaspaz 3 aktivasyonuna neden olur. Nöronal apoptozide dış sinyallere bağlı kaspaz kaskadında kaspaz 8'e bağlı olarak bcl-2 ailesinden bid salınımı uyarılır. O da mitokondri aracılı sitokrom c salınımını başlatır (95,96). İç sinyallere bağlı kaspaz kaskadı ise mitokondri tarafından oluşturulur. Apoptotik uyarıları alan mitokondri sitozole sitokrom c salınımını gerçekleştirir. Sitokrom c apoptotik proteaz aktivator faktor 1 (APAF 1) 'e bağlanır. Bu da prokaspaz 9'u aktive eder. Aktive olan kaspaz 9 ise kaspaz 3 aktivasyonuna neden olur (95). Spinal kord yaralanmasında, kaspaz bağımlı apoptozis oldukça iyi açıklanmış bir yoldur.

2.7.4. Lipit Peroksidasyonu Ve Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri ve lipit peroksidasyon ürünleri, meydana getirdikleri spinal kord hipoperfüzyonu, ödem gelişimi, aksonal yıkım ve enerji metabolizmasını yıkıcı etkileri gibi patolojik olaylarla spinal kord travmasında önemli yer edinirler (4,102). Serbest radikal ürünleri salındıktan sonra protein denatürasyonu ve DNA kırılmasını sağlarlar. Bu ürünlerin spinal kord travmasında yeri ve tedavi yaklaşımlarında yeri hakkında çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır (103,104,105).

2.7.5. Eksitoksisite

Omurilik yaralanması sonrası eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir (106). İn vitro çalışmalar EAA'in neden olduğu geç doku hasarında glutamat reseptörlerinin önemini vurgulamışlardır. EAA hasarında, hücre içinde Na⁺ ve Ca⁺⁺ artışı hücre şişmesi ile proteazlar, kinazlar ve fosfolipazlar gibi kalsiyum bağımlı olayların başlamasına neden olur (107). Glutamatın toksik özelliklerini açıklamak amacı ile glutamat, NMDA, Amino hidroksil Metilizoksalon propiyonik asit (AMPA) ve kainat gibi glutamat reseptör uyarıcıları SSS'ne enjekte edilmiş ve glutamatın eksitotoksik olduğu, bunun reseptör blokerleri ve serbest radikal tutucular ile önlendiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar bize

glutamat toksisitesinde serbest radikallerin de olaya katıldığını göstermiştir. Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri vasıtasıyla olurken, travmatik omurilik yaralanmasına AMPA ve kainat gibi non NMDA reseptörleri üzerinden olmaktadır (108). Glutamat ve aspartat salınımının omurilik yaralanmasının şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Orta şiddetli yaralanmalarda 2-4 kat yükselme olurken, şiddetli yaralanmalarda 10 kat kadar yükselme olabilir. Glutamat, yaralanmadan sonra 15 dakikada pik değerine ulaşırken 120 dakika kadar yüksek kalabilir (109).

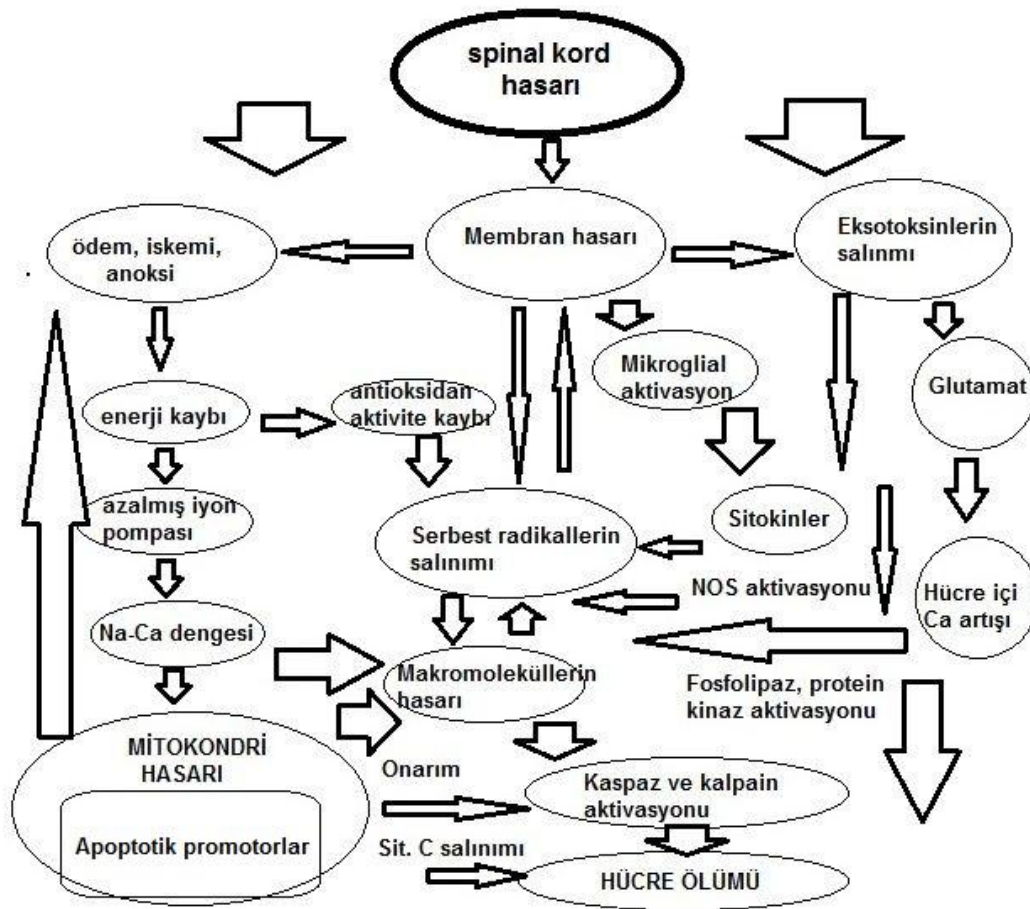
2.7.6. Nörotransmitterler

Spinal kord travması sonrasında endojen opioidlerin yeri ve önemi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (110). Deneysel modeller spinal kord yaralanması sonrasında belirgin bir endojen opioid peptid lokal salınımı olduğunu göstermiştir (111,112). Dinorfin kappa reseptörleri üzerinden etkilidir ve sistemik vasküler etkiden dolayı yaralanmada yer aldığı düşünülmüştür. Naloksan ve tirotropin releasing hormon gibi endojen antagonistler bazı hayvan modellerinde spinal kord kan akımını artırıp nörolojik defisitleri azaltmışlardır. Bazı çalışmalarda ise nörolojik iyileşmeye katkıları olmamıştır (111,112). Yapılan klinik çalışmada ise naloksan plasebodan daha iyi klinik göstermediği belirtilmektedir (113).

2.7.7. İmmün Cevap

İnflamasyon, spinal kord yaralanması sonrasında çok hızlı bir şekilde başlamaktadır. Yaralanmayla başlayan ve devam eden kanama, ödem, nöroeksitotoksinlerin akümüasyonu ve biyokimyasal değişiklikler, inflamasyonun santral sinir sistemi üzerindeki esas etkilerini belirlemede zorluklar yaratmaktadır. İnflamasyon, canlı dokunun her türlü zedelenmeye karşı gösterdiği ortak bir reaksiyondur. İnflamasyon yaralanma alanındaki vasküler, nörolojik, hümorale ve hücresele yanıtları içerir. İnflamasyon, organizmanın zedeleyici etkeni çevreleyerek yok etme ve zararlı süreçleri sınırlandırmasını sağlayan ve takiben doku onarımına yol açan bir süreçtir (114). Akut inflamasyonun ortaya çıkmasındaki en büyük etken yaralanma bölgesindeki vasküler yanıttır. Yaralanmadan hemen sonra kısa süren bir vazokonstriksiyon ve ardından arterioller vazodilatasyon oluşur. Bu da kapiller yatağa daha fazla kan gelerek konjesyona ve takiben vasküler permeabilitede artışa

sebepler olur. Lezyon bölgesine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) lezyon bölgesini birkaç saat içinde infiltre etmesiyle başlar ve travmanın ilk gününde en yüksek seviyeye ulaşır. Yapılan ışık ve elektron mikroskopi çalışmalarında 4. saatten önce kan damarları dışında çok az sayıda PMNL bulunurken, 4. saatte bunların damar içinde sayıca çok arttıkları ve damar duvarından çıkarak dokuya girmeye başladıkları görülmektedir. 8 saatlik preparatlarda, gri cevherde PMNL kümeleşmeleri görülmekte ve beyaz cevherde PMNL'ler nöronların içindeki inklüzyonlar olarak belirlenmektedir. 24 saatlik preparatlarda, dejenere nöronların PMNL tarafından sarıldığı ve PMNL'ler arasında sellüler kalıntıların bulunduğu gösterilmiştir. PMNL'ler üçüncü günde kaybolurlar. Bu süre içinde granüler içeriklerini ortama salarak litik enzimlerinin etkisiyle vasküler, nöronal ve glial yaralanmayı daha da artırabilmektedirler. PMNL infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarı korelasyon göstermektedir. Histamin, plazma proteazları, bradikinin, prostaglandinler, trombosit aktive edici faktör, lökotrienler, platelet-aktive edici faktör, serbest oksijen radikalleri, serotonin gibi inflamasyon mediatorleri yaralanmış spinal kordda lezyon bölgesinde birikirler. İnflamatuvar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku yaralanmasının hızla ilerlemesine neden olurlar (114). Ortamdan kaybolan PMNL'lerin yerini mikroglial hücrelerden ve dolaşımdan kaynaklanan makrofajlar almaktadır. Makrofajlar myelin, hemorajik ve nekrotik doku kalıntılarını fagosite etmektedir. Aynı zamanda makrofajlar, anjiogenezi başlatan interlekin -1 benzeri sitokinleri de salgılamaktadırlar (114). Aşağıda Şekil 2.13'de spinal kord travmasında yer alan patofizyolojik mekanizmalar özetlenmiştir.



Şekil 2.13. Spinal kord travmasındaki patofizyolojik olaylar.

2.8. Spinal Kord Travmasında Farmokoterapi

Spinal kord travmasında farmakoterapinin teröpatik rolü üç safhada olmaktadır (115,116). Birinci safha akut dönemdir ve immün ya da inflamatuvar yanıt, ekzotoksisite, lipid peroksidasyon ve serbest oksijen radikallerinin yer aldığı patofizyolojik hasarın önlenmesine yöneliktir (117). İkinci safha subakut dönemi yani nörorejenerasyonu ve nörotrofik tedavileri kapsar (118,119). Üçüncü ve son safha ise kronik dönemdir. Doku ya da mezenkimal stem cell transplantasyonunun olduğu nörotrofik tedavilerdir (120,121,122,123).

Metilprednizolon, spinal kord travmasında önerilen ilk farmokoterapidir. National Acute Spinal Cord Injury Study 2 (NASCIS 2) çalışmasında, randomize klinik çalışmadır, metilprednizolonun (30 mg/kg intravenöz bolus ve 5.4 mg/kg saat 23 saat) sadece ilk 8 saatte kullanımı ile plesebo ve naloksan tedavilerine kıyasla nörolojik iyileşme gösterdiği belirtilmiştir (4,124). Fakat elde edilen nörolojik

iyileşme çok azdır (124). Kortikosteroidler plazma glukoz ve elektrolit dengesini hedeflerler (125). Aynı zamanda membran stabilizasyonu ile lipit peroksidasyonu ile nöroprotektif etki gösterirler (125). Antiinflamatuvar özellikleri ile immün sistemi baskılar, ödemi azaltmaktadırlar. Fakat klinik uygulamada tüm bu özelliklere rağmen iyileştirici özellikleri çok kısıtlıdır (126,127). Tirilizad mesilat gibi diğer steroid ilaçlar, gangliozidler gibi çok sayıda ve çeşitteki farmakolojik ajan spinal kord travmasında klinik ve deneysel deneniş ve denenmeye devam edilmektedir (4).

2.9. Propolis

Propolis, bal arılarının bitkilerden elde ettiği, reçineli doğal bir maddedir (128). Oldukça kompleks biyokimyasal yapısı vardır. Eski çağlardan itibaren şifa kaynağı olarak halk arasında kullanılan propolisin çok çeşitli biyolojik aktivitesinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir; bunlar antiinflamatuvar, antioksidatif, hepatoprotektif, nöroprotektif ve veya tümörosidal aktivitedir (129,130,131,132,133,134,135).

Propolis benzoik asitler, flavonoidler ve sinamik asit başta olmak üzere 300 farklı komponentten oluşmaktadır (136). Doğal bir madde olan propolis arılar tarafından ortam bitki florasından yapıldığı için elde edilen bölgeye göre kısmi içerik farklılıkları göstermektedir (137).

İçeriğindeki maddeler nedeniyle lipofilik karakterde olan propolis etanol ile çözünüp ekstrat halini almakta ise son yapılan çalışmalarda propolisin suda çözünen formuyla elde edilen ekstratların eş biyodeğerliliği olduğunu göstermişlerdir (128). Suda çözünen formunun pratik kullanımı daha fazla olduğundan propolis ile yapılan çalışmalar suda çözünme üzerine yönelmektedir (128,138,139)

Propolisin apoptozis üzerine etkili olduğu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda kanserli hücrelerde propolisin apoptotik kaskatta yer alarak hücreleri etki ettiği, kemoterapi tedavisinde kemoduyarlılığı arttırdığını göstermişlerdir (140). Yine propolisin antiinflamatuvar etkisi nedeniyle astım tedavisinde faydalı olabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur (141).

Propolisin nörolojik hastalıkların tedavisinde etkinliğini araştırmak için yapılan deneysel çalışmalarında özellikle iskemik beyin hastalıklarında, iskemi-reperfüzyon hasarında propolisin nöroprotektif etkili olduğu gösterilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma tarih ve numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan deneyleri Yerel Etik Kurul 23.06.2010 tarih ve 166/2010 kayıt numaralı kararı ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (TİCAM) yapıldı. Çalışmada ağırlıkları 200-250 gr. arasında değişen Spraque Dawley ırkı dişi sıçanlar kullanıldı. Araştırma yeterli hava sirkülasyonu ve çevre ısısının sağlandığı odalarda yapıldı. Lezyon yapıldıktan sonra tüm deneklere ayrı ve kolay beslenmelerini sağlayan kafeslerde bakım uygulandı.

Deneklerin uyutulması işleminde 60 mg/kg Ketamin Hidroklorür (Ketalar, Parke-Davis lisansı ile Eczacıbaşı İlaç San., İstanbul) ve 12 mg/kg Ksilazin (Rompun, Bayer İlaç Sanayi, İstanbul) karışımının intraperitoneal yol ile verilmesi ile genel anestezi sağlandı. Rahat bir cerrahi girişim sağlamak amacı ile özel tahtalar ve sabitleyiciler ile deneklere cerrahi girişim yapıldı. Bu deneysel çalışmada beş grupta otuz beş rat üzerinde, cerrahi kesi sıçanın sırt kısmında, tıraş yapıp antisepti sağlandıktan sonra yapıldı (Şekil 3.1). Torakal dokuz ve torakal on bir vertebra hizasından lokal saha temizliği ve çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçildi (Şekil 3.2). Fasia açılarak paravertebral adaleler subperiosteal sıyrıldı. Torakal 10 vertebraya laminektomi yapıldı. Spinal kord açığa çıkarıldı (Şekil 3.3). Daha sonra klip kompresyon yöntemi ile spinal kord travması oluşturuldu. Klip kompresyon yönteminde 1,43 N kuvvet uygulayan (Yaşargil, FE 740 K, Aesculap AG, Almanya) anevrizma klipi kullanıldı. Klip epidural olarak altmış saniye süreyle uygulandı (Şekil 3.4). Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu görüldü (Şekil 3.5). Kontrol grubu hariç travma uygulanan sıçanlar travmadan sonra parapelejik oldu. Sıçanlar cerrahi işlem öncesinde rastlantısal beş gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Travma veya medikal tedavi uygulanmadı. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

2. Grup (Travma): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

3. Grup (Travma+Çözücü): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. Tek doz 1 cc. serum fizyolojik verildi. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

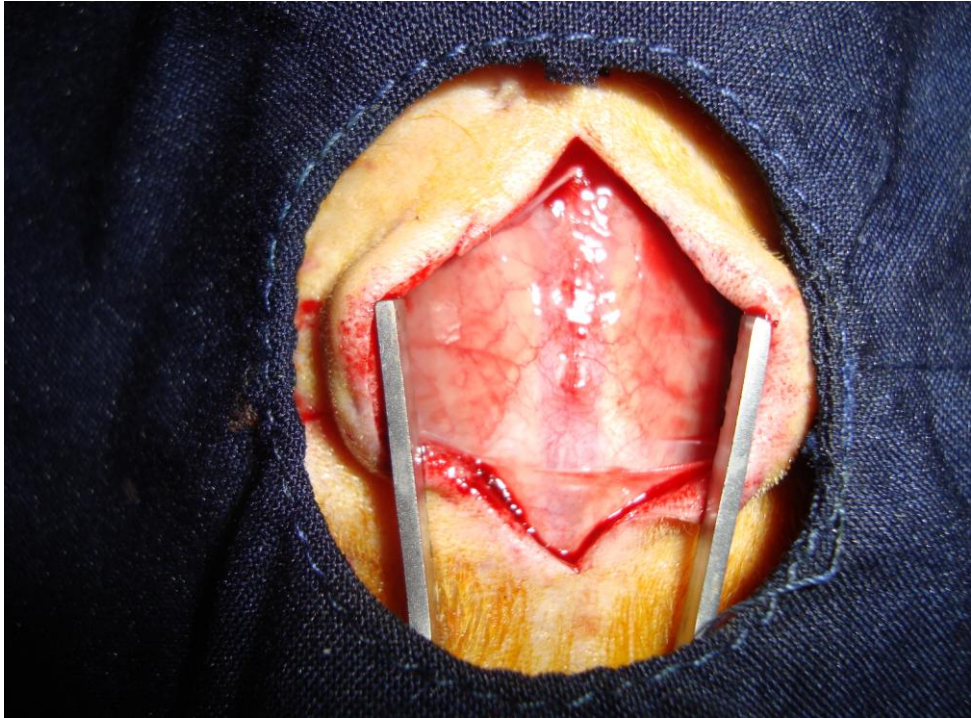
4. Grup (Tedavi 1): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. 30. dk. Ve 4. Saatte 100mg/kg dozunda propolis intraperitoneal yol ile verildi. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

5. Grup (Tedavi 2): 7 sıçan alındı ve laminektomi yapıldı. Anevrizma klibi ile 60 sn. kompresyon uygulanarak spinal kord travması oluşturuldu. 30. dk. Ve 4. Saatte 200mg/kg dozunda propolis intraperitoneal yol ile verildi. Biyokimyasal analiz için 48 saat sonra spinal kord örnekleri alındı.

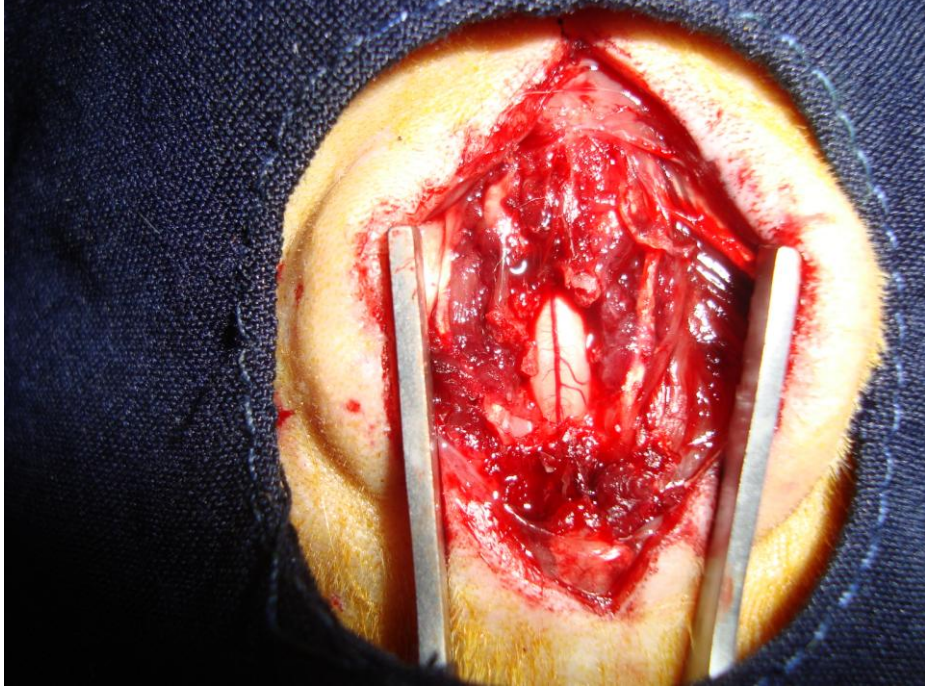
Deneklerin her biri beslenme ve motor aktivite için günlük olarak muayene edildi. Tüm gruptaki denekler 48 saat sonra sakrafiliye edildi. Bu işlem 18 G enjektör ile intrakardiyak olarak 3-5 mm kan alınarak yapıldı. Alınan doku örnekleri -80 °'de derin dorundurucuda korundu (Şekil 3.6).



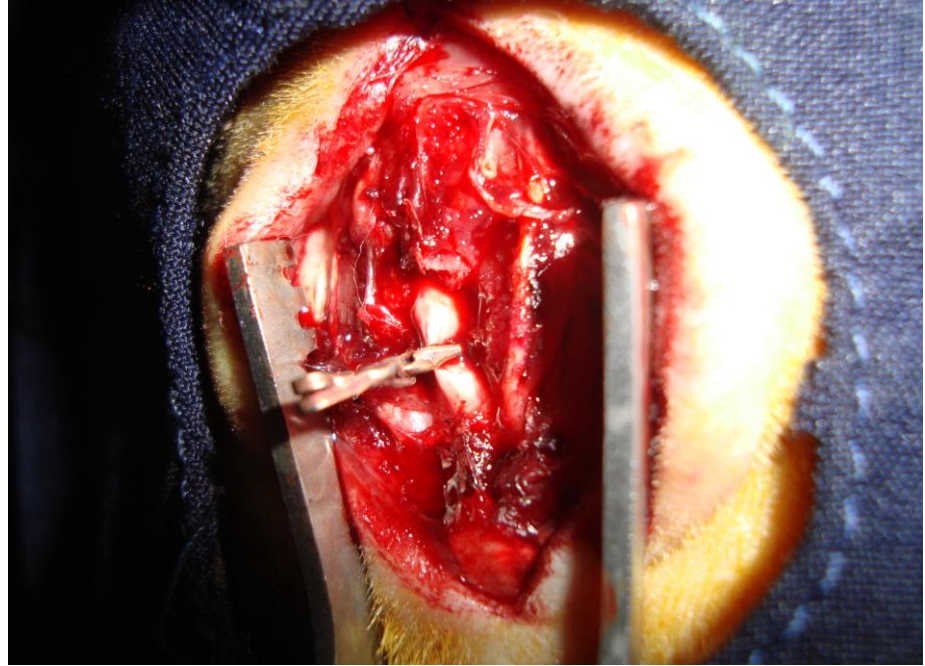
Şekil 3.1. Cerrahi kesi öncesi sıçanın sırt kısmının tıraş yapıp antisepti sağlanması.



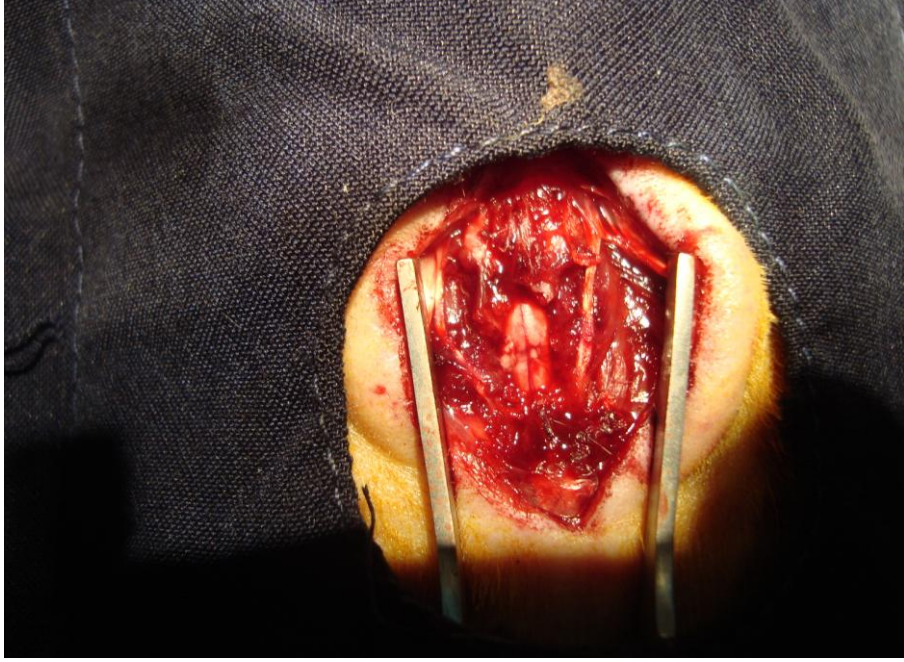
Şekil 3.2. Çevre izolasyonu sağlandıktan sonra cilt, cilt altı dokuları geçilmesi.



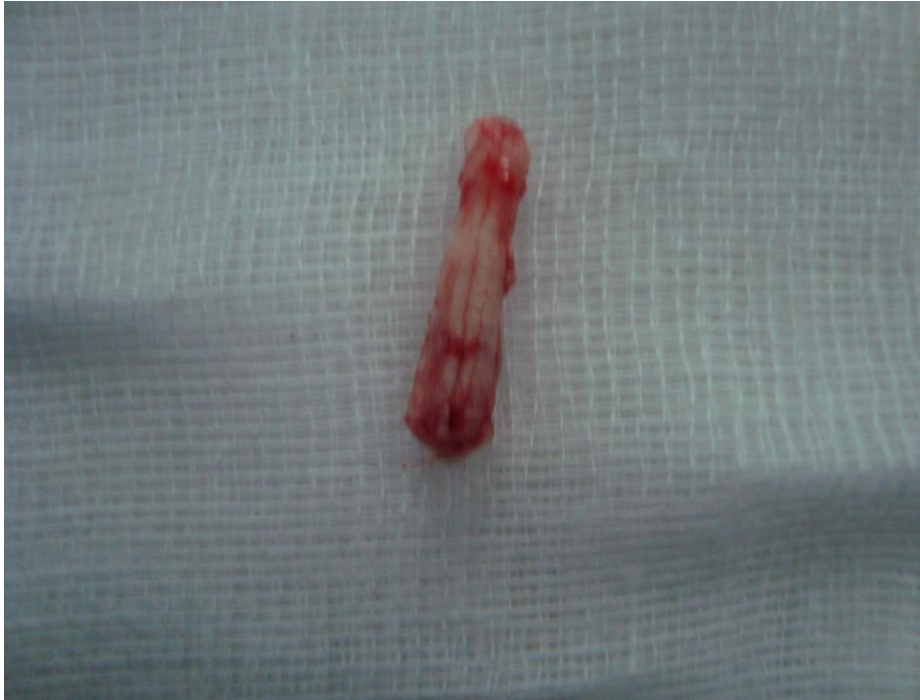
Şekil 3.3. Laminektomi sonrası açığa çıkarılan medulla spinalis.



Şekil 3.4. Klip kompresyon yönteminde ile anevrizma klipi kullanılması.



Şekil 3.5. Klip kaldırıldıktan sonra makroskopik olarak kompresyona uğramış spinal kord dokusu.



Şekil 3.6. Alınan doku örnekleri

3.1. Propolis

Çalışmada kullanılan propolis Altıparmak Gıda Sanayi ve Tic. Koll. Şti. (Balparmak), İstanbul firması tarafından Seoul Propolis Co. Şirketi, Kore ithal edilmiştir. Aşağıda Tablo 3.1’de kullanılan Propolisin ürün bilgileri ve Şekil 3.7’de sertifikalandırılmış ürün analizi ve tablo 6 ‘da sertifikanın Türkçeleştirilmiş hali bulunmaktadır

Tablo 3.1. Propolis ürün bilgileri.

İzin numarası: KFDA 2004-0003-004
Ürün adı: Propolis
Materyal: Propolis ekstraktı
Üretici Firma: Seoul Propolis Co. BI center Korea Atomic Energy Research Institute (KAERI) 150, Deokjindong
Yuseoung-Ku, Daejeon, KOREA
İthal edici firma: Altıparmak Gıda Sanayi ve Tic. Koll. Şti. (Balparmak), İstanbul
Hacim: 30 ml
Nutrisyon ve element içeriği: Karbonhidrat (%0), protein (%0), yağ (%0), sodyum (%0).
Fonksiyonu ile bilgi: Flavonoid miktarı 6,0 mg üzerinde (her uygulamada)

CERTIFICATE OF ANALYSIS

No. of Certificate F0900083

Name of Product Probee Propolis

Manufacturer Seoul Propolis Co., Ltd.
 Address. BI Center, KAERI, 150 Deokjin-dong, Yuseong-gu, Daejeon, KOREA.
 TEL. 82-42-862-4888, FAX. 82-42-862-4887

Analysis Results

Analysis Item	Specification	Result
Appearance	Black brown liquid	Passed
Flavor & Odor	Characteristic of propolis	Passed
Solubility in Water	Must be soluble	Passed
p-cumaric Acid	Must be detectable	Conformed
Cinamic Acid	Must be detectable	Conformed
Total Flavonoids (%)	More than 1.0 %	1.21%
Pb Content	< 5ppm	Not detected
Alcohol	Negative	Conformed
Diethylen Glycol	Negative	Conformed
E. Coli.	Negative	Conformed
Manufacturing Date	May. 24. 2010	
Shelf Life	Two years from the manufacturing date	
Storage	Tightly sealed in a dark, cool and dry area	

Test Method: According to Korea Food & Drug Administration[Korea Health Supplement Law]

Şekil 3.7. Propolis analizi

Tablo 3.2. Kullanılan propolisin sertifikasının Türkçeleştirilmiş hali.

Sertifika No: F0900083	
Ürün Adı: Bal arısı propolisi	
Üretici Firma: Seoul Propolis Co. Ltd.	
Adres: BI center KAERI, Deokin-dong. Yuseong-Gu Daejeon, Korea	
Görünüm: siyah-kahverengi	sonuç: geçti
Koku: Propolis karakteristiğinde	sonuç: geçti
Suda çözünürlük: çözünmeli	sonuç: onaylandı
Sinamik asit: bulunmalı	sonuç: onaylandı
Toplam flavanoidler: %1'den fazla olmalı	sonuç: %1.21
Kurşun: < 5ppm	sonuç: tespit edilmedi
Alkol: negatif	sonuç: onaylandı
Dietilen glikol: negatif	sonuç: onaylandı
E.coli: negatif	sonuç: onaylandı
Üretim tarihi: 24 Mayıs 2010-08-24	
Son kullanım tarihi: üretim tarihinden itibaren 2 yıl	
Saklanma: Kuru, soğuk, karanlık alanlarda saklanmalı	

3.2. Nörolojik Muayene

Hayvanların klinik motor muayeneleri subjektif ve objektif olarak 48. saatte değerlendirildi.

3.2.1. Klinik Motor Muayene Skorlaması

Subjektif olarak Tarlov (142) tarafından tanımlanan şekilde değerlendirildi.

Buna göre;

Klinik Motor Muayene Skorlaması;

1. Hareket yok.

2. Arka bacaklarında minimal istemli hareket var, arka ayakları üzerinde duramıyor.

3. Ayakta durabiliyor, ancak yürüyemiyor.
4. Yürüyebiliyor, ancak arka bacaklarında bir miktar spastisite ve inkoordinasyon var.
5. Normal motor hareket.

3.2.2. Eğik Düzlem ile Değerlendirme

Objektif değerlendirme, Rivlin ve Tator (143) tarafından tanımlandığı şekilde yapıldı. Şöyle ki; hayvan eğik bir düzlem üzerine yatay yerleştirilerek, bu eğik düzlemin yatay düzlemle olan açısı gittikçe arttırıldı, hayvanın 5 sn. boyunca düşmeden durabildiği en yüksek derece, o hayvanın eğik düzlem derecesi olarak saptandı.

3.3. Biyokimyasal Analiz

3.3.1. Katepsin B Ve L Düzeyinin Ölçümü

Süpernatandan sitozolik fraksiyonun elde edilmesi için spinal kord dokusu homojenatı sükröz Tris-HCL tamponunda (0.32 M sucrose, 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.4) homojenizatör kullanılarak hazırlandı. Daha sonra homojenatlar +4 °C'de 5 dakika boyunca 1000 g'de santrifüj edildi. Pelletler ayrıldıktan sonra süpernatantlar +4 °C'de 20 dakika boyunca 10 000 g'de santrifüj edildi. Süpernatantlar sitozolik fraksiyon olarak kullanıldı. Pellet ise 1 ml Triton X 100 içeren tampon ile resüspanse edilerek lizozomal fraksiyon olarak kullanıldı. Sitozolik ve lizozomal fraksiyonlarda ayrı ayrı ölçülen katepsin aktivitelerinin oranı lizozomal bütünlüğün miktarını gösterdi. Katepsin B ve L enzim aktivitesi Kirschke ve ark.'nın modifiye ettikleri yöntemle çalışıldı. Enzim aktivitesi metilkumarilamid substratı kullanılarak ölçüldü. 75 ml. Madde B (8.0 mM L-sistein) 0.90 ml. Madde C (% 0.1 (v/v) Brij 35 çözeltisi), 0.10 ml. homojenat karıştırıldı. Üzerine 0.75 ml madde D (0.02 mM Z-arg-arg-7-amido-4-metilkumarin ve 0.02 mM Z-Phe-Arg-7-Amido-4-Methylcoumarin) konulduktan sonra oluşan floresans 348 nm eksitasyon ve 440 nm emisyonunda ölçüldü (144).

3.3.2. Kaspaz 3 Aktivasyonu Ölçümü

Kaspaz-3 aktivitesini ölçmek için ticari kit kullanıldı. Bu kit, asetil-Asp-Glu-Val-Asp-p-nitroanilidin (AC-DEVD-pNA), p-nitroanilin (pNA) oluşacak şekilde kaspaz-3 tarafından hidrolizi ile oluşan pNA'nin absorbanasının 405 nm'de ölçümü prensibine dayanmaktadır. Spinal kord doku örnekleri lizis tamponunda (250 mM HEPES, pH:7.4, %1 CHAPS, 50 mM DTT, 10 mM EDTA) homojenize (1/10) edilerek 3000 rpm'de +4 °C'de 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant 14000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilecek, süpernatanda santrifüj işlemi tekrarlandı. Süpernatant fraksiyonunda Kaspaz-3 aktivitesi belirlendi (145).

4. BULGULAR

4.1. İstatiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 17.0 programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotları (Ortalama, Standart sapma) kullanılmıştır.

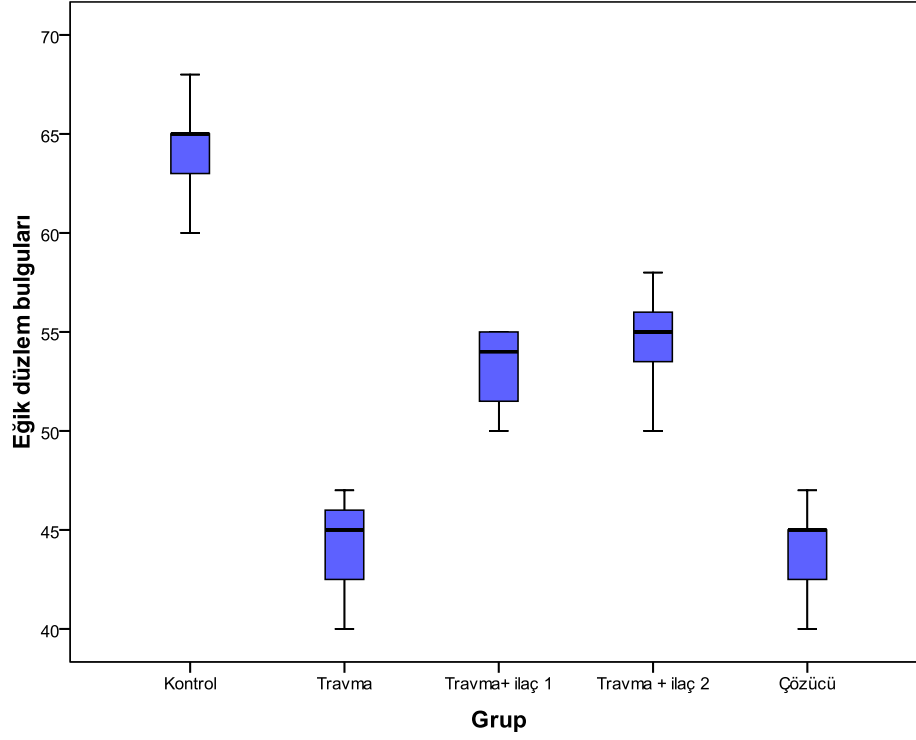
Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında ikiden fazla grup durumunda parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Tek yönlü (One way) Anova testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Tukey testi kullanılmıştır.

Nicel değişkenler arası ilişkileri saptamak için Spearman Korelasyon analizi kullanılmıştır.

Sonuçlar % 95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde çift yönlü olarak değerlendirilmiştir.

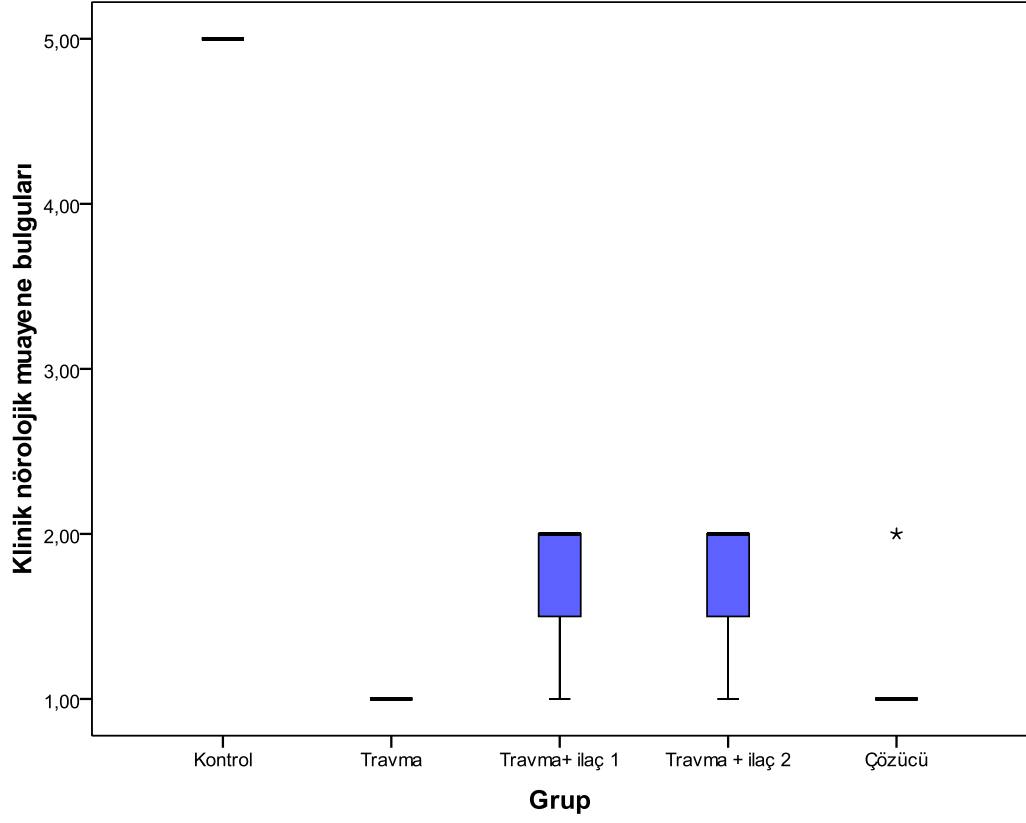
4.2. Sonuçlar

Tüm grupların 48. saat sonra eğik düzlem bulgularına bakıldı. Elde edilen veriler tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Eğik düzlem bulgularının gruplara göre dağılımı.

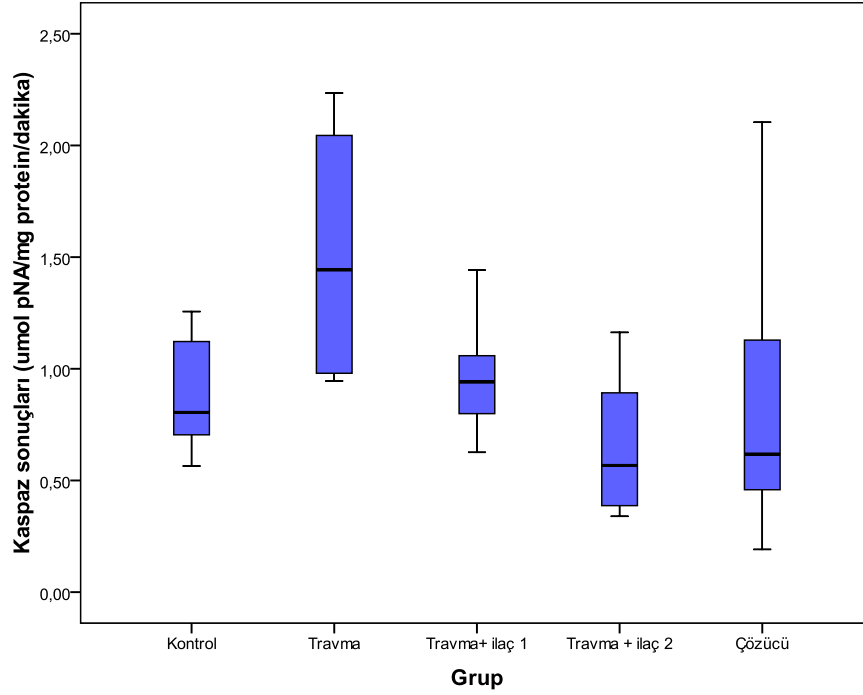
Kontrol grubu, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p < 0,01$). Travma grubundaki olguların Eğik düzlem bulguları, Travma+ ilaç 1 ve Travma + ilaç 2 grubundaki olguların Eğik düzlem bulgularından istatistiksel olarak düşük bulundu. ($p < 0,01$). Çözücü grubundaki olguların Eğik düzlem bulguları, Travma+ ilaç 1 ve Travma + ilaç 2 grubundaki olguların Eğik düzlem bulgularından istatistiksel olarak düşük bulundu. ($p < 0,01$).

Tüm grupların 48. saat sonra nörolojik muayene bulgularına bakıldı. Elde edilen veriler Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Klinik nörolojik muayene bulgularının gruplara göre dağılımı

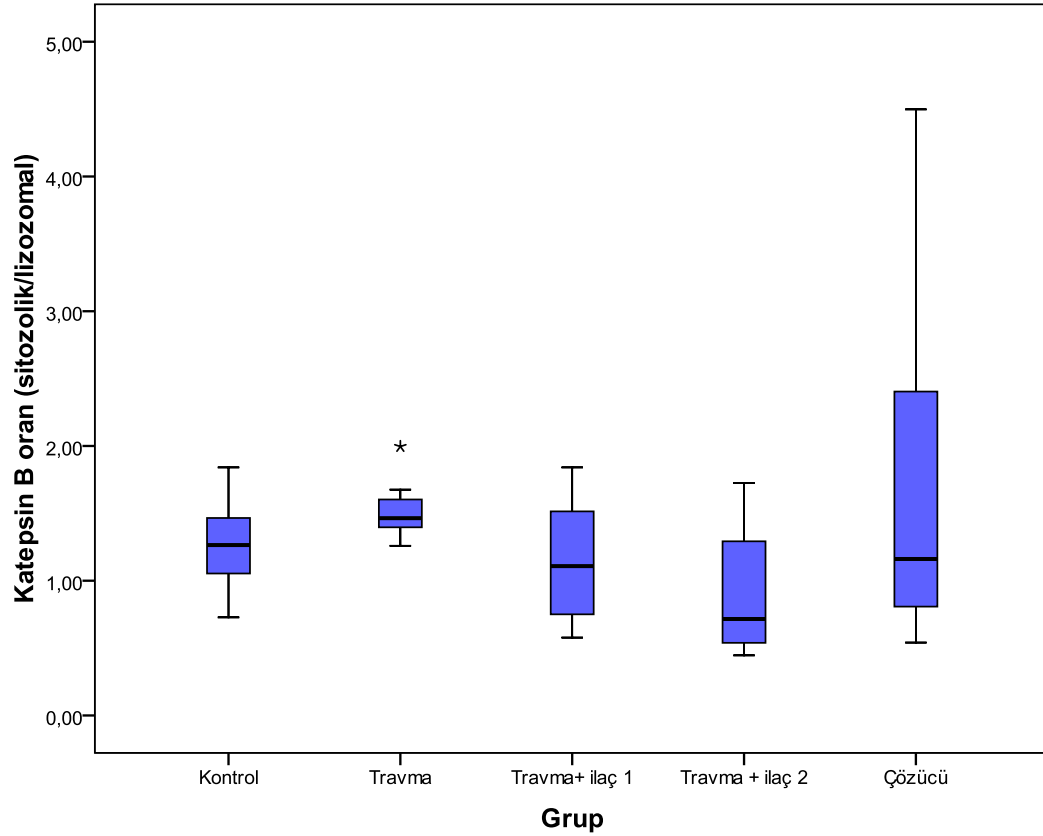
48. saat sonra Klinik nörolojik muayene bulgularında; Kontrol grubu, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. ($p<0,01$). Travma+ ilaç 1 ve Travma + ilaç 2 grubundaki olguların Klinik nörolojik muayene bulguları, travma grubundaki olguların Klinik nörolojik muayene bulgularından yüksek bulundu. ($p<0,01$). Çözücü grubundaki olguların Klinik nörolojik muayene bulguları, Travma+ ilaç 1 ve Travma + ilaç 2 grubundaki olguların Klinik nörolojik muayene bulgularından istatistiksel olarak düşük bulundu. ($p<0,05$).

Elde edilen kaspaz 3 değerleri aşağıda Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Kaspaz sonuçlarının gruplara göre dağılımı.

Kaspaz sonuçlarında; Kontrol grubundaki olguların Kaspaz sonuçları, Travma, Travma+ ilaç 1, Travma + ilaç 2, Çözücü gruplarının Kaspaz sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,05$). Travma + ilaç 2 grubundaki olguların Kaspaz sonuçları, Travma grubundaki olguların Kaspaz sonuçlarından anlamlı olarak düşük bulundu. ($p<0,05$). Travma + ilaç 1 grubundaki olguların Kaspaz sonuçları ile Travma grubundaki olguların Kaspaz sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmasada travma + ilaç 1 grubunun kaspaz değerleri travma grubuna göre azalmış bulunmuştur. ($p>0,05$).

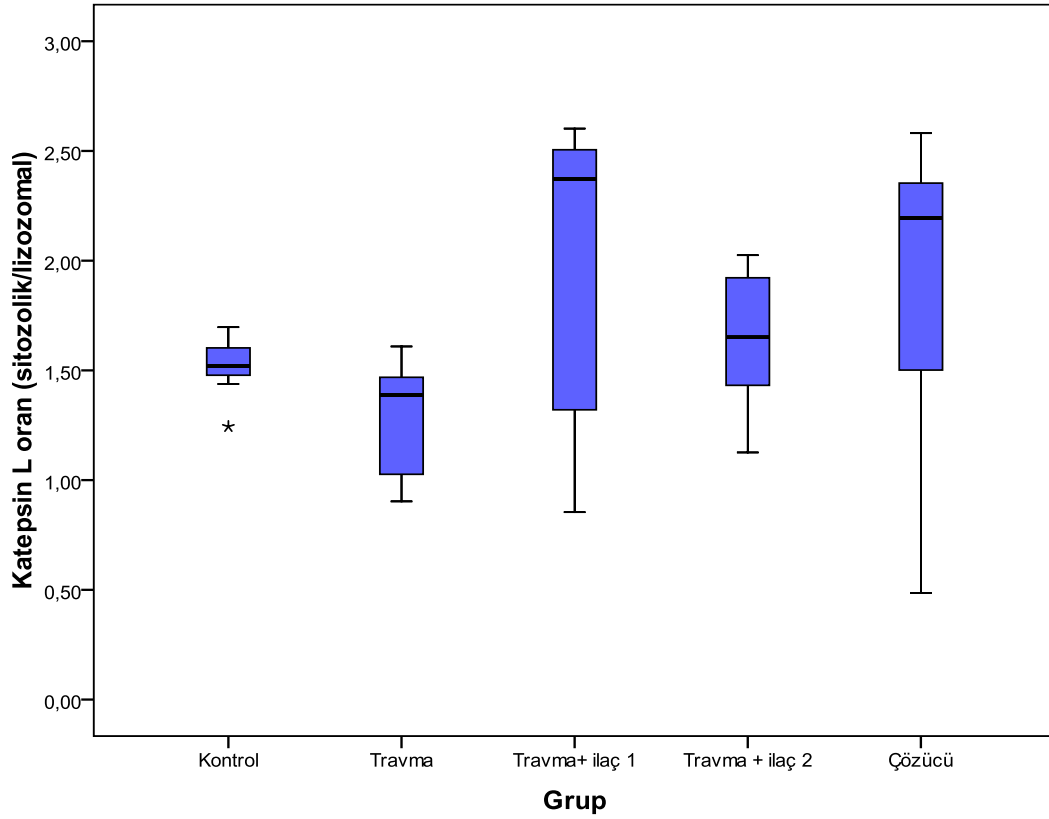
Elde edilen Katepsin B oran bulgularının gruplara göre dağılımı aşağıda tablo 4.4.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Katepsin B oran bulgularının gruplara göre dağılımı.

Katepsin B oran bulgularında; Travma+ ilaç 1 Katepsin B oranı (1,15); Travma Katepsin B oranından (1,53) düşük bulundu ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. ($p>0,05$). Travma+ ilaç 2 Katepsin B oranı (0,94); Travma Katepsin B oranından (1,53) düşük bulundu ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. ($p>0,05$).

Kontrol, Travma, Travma+ ilaç 1, Travma + ilaç 2, Çözücü gruplarının Katepsin B oran bulguları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,05$)

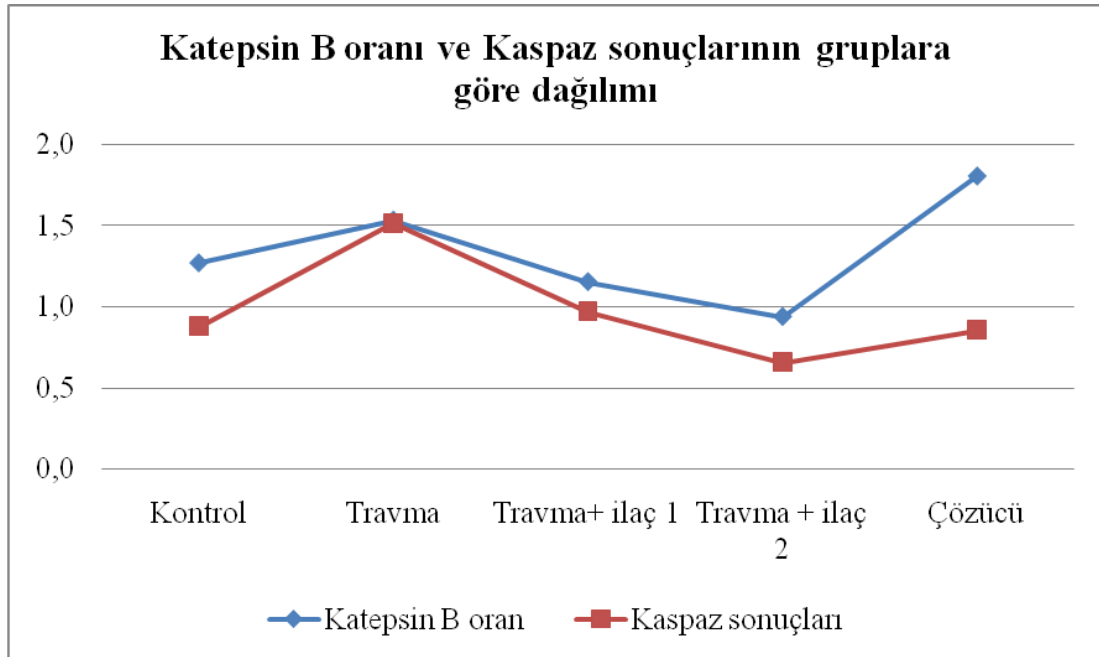
Elde edilen Katepsin L oran bulgularının gruplara göre dağılımı aşağıda Tablo 4.5'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Katepsin L oran bulgularının gruplara göre dağılımı.

Katepsin L oran bulgularında; Kontrol, Travma, Travma+ ilaç 1, Travma + ilaç 2, Çözücü gruplarının Katepsin L oran arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0,005$).

Tüm gruplar ele alındığında; Katepsin B oranı ile kaspaz sonuçları korele idi. Katepsin B oranı ile kaspaz sonuçları arasında %60,7 düzeyinde pozitif yönlü ilişki bulundu ve istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlıydı. ($r=0,607$; $p<0,01$) tablo 4.6.

Tablo 4.6. Katepsin B ile Kaspaz 3 sonuçları arasındaki ilişki.



5. TARTIŞMA

Sahip olduğu yüksek mortalite ve morbite oranları ile önemli bir halk sağlığı problemi olan akut travmatik spinal kord travmasının patofizyolojisinde birincil ve ikincil yaralanma mekanizması mevcuttur (45). Birincil yaralanma travma ile oluşan hasarlanmadır ve önlenemez olarak öngörülmektedir. Nörolojik bozulma ve ilerleyen patolojik hasarın sorumlusu olan ikincil yaralanma ise birbiri ile entegre birden fazla biyokimyasal ve moleküler kaskatlar sistemi bütünüdür (4). Günümüzde travmatik spinal kord travmasının modern anlamda tedavisine yönelik çalışmalar, hasarın ikincil yaralanma mekanizmalarıyla olan şiddetlenmesine odaklanmıştır. Gelen süreç içerisinde travmanın meydana getirdiği patofizyoloji hakkında geniş bir bilgi birikimi elde edilmesi rağmen, kalıcı ve ciddi derecede etkili aynı zamanda evrensel kabul gören bir tedavi protokolünün bulunmamış olması nedeni ile özellikle nöral hasarın azaltılmasına yönelik moleküler ve hücresel düzeyde laboratuvar ve klinik çalışmalar halen devam etmektedir (143,66). Yapılan deneysel çalışmaların odak noktasında ise apoptotik süreç yer almaktadır. Medulla spinalis travması ikincil yaralanmanın sonucunda gerçekleşen apoptozisin önlenmesi tedavi protokolunda yeni ufuklar açacaktır.

Apoptozis ile spinal kord travmasının ilişkisi günümüzde net olarak gösterilmiş ve kanıtlanmıştır (66). Spinal kord travması sonrasında görülen apoptozis ile travma sonrasında apoptotik hücreler özellikle beyaz cevherde longitudinal traktlarda ve oligodentrosit hücrelerinde lokalize olmaktadır. Lui ve ark. yaptığı çalışmada kontüzyon hasarı sonrasında 5 dakikadan 30 güne kadar çeşitli değişikliklerin olduğu bir süreç tespit edilmiştir. Travma sonrası yaklaşık 4 saat sonra apoptotik hücreler nöronlarda ve lezyon bölgesinde görülmeye başlarlar. Bu bölgede travma sonrası 8. saatte nöronal apoptozis pik yapar. Glial hücrelerde apoptozis yaklaşık 4. saate görülmeye başlar ve 24. saatte pik yapar. İlerleyen 7 gün içerisinde progresif patolojik ilerleme, glial ve nöronal hücrelerde ölme ve kavitasyon görülür (66,99).

Apoptozis ile ilişkilendirilen mekanizmada yer alan en önemli olay hücre içi sistein proteazlarının yani kaspazların aktivasyonudur. Kaspazlar, apoptozisi aktive eden sinyaller tarafından tetiklenir (93). Kaspazlar, (cysteine-dependent aspartate-

specific proteases) kalsiyum bağımsız sistein sınıfının en önemli bölümünü oluşturur (94,95). Merkezi sinir sistemi yaralanmasında görülen apoptozisde en önemli rol kaspaz 3'e aittir (100). Apoptozisin dış ve iç sinyallere bağlı olmak üzere iki yolu mevcuttur. Apoptozisin son fazı kaspaz 3 aktivasyonudur (100).

Lizozomal proteazlar iskemik ve eksitoksik nöronal hücre ölümünde önemli rol oynarlar. Lizozomal proteazlardan katepsin B'nin travmatik beyin hasarında ve travmatik spinal kord hasarında arttığı, özellikle spinal kord travmasında ikincil hasar mekanizmasında yer aldığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Katepsin B potent bir lizozomal proteazdır ve beyin tümörlerinde, Alzheimer hastalığında, amyotrofik lateral skleroziste ve inmede artmaktadır (144,145,146).

Biz çalışmamızda deneysel spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda apoptotik belirteç olan kaspaz 3 ve lizozomal proteazlar olan katepsin B ve katepsin L'nin ölçümlerini yaptık. Bu amaçla, çalışmamızda klip kompresyon yöntemi ile spinal kord travması oluşturulan sıçanlarda intraperitoneal propolis (100mg/kg ve 200 mg/kg) dozlarında olmak üzere travma sonrası 0. dk ve 4. saatte verilerek ikincil yaralanmayı azaltmayı planladık. Shimazawa ve ark. yaptığı beyin iskemisi modeli çalışmasında, fokal serebral iskemisi yapılan sıçanlarda 30 veya 100 mg/kg propolis intraperitoneal, günde 4 doz olarak travma öncesi 2. günde, 1. günde, travma sonrası 1. saat ve travma sonrası 4. saatte uygulanmış, fokal serebral iskemisi modelinde nöroprotektif etkisi olduğu bildirilmiştir (134).

Propolis bal arılarının topladıkları bitki özlerinden oluşturduğu, reçineli bir maddedir. Genel anlamda propolisin %50'si reçine ve balsam, %30'u balmumu, %10'u esansiyel yağ, %5'i polen ve kalan %5'lik kısmı diğer organik atıklardan oluşmaktadır (147). Propolisin kimyasal analizinde başta fenolik komponentler (flavanoidler, aromatik asitler ve benzopirenler), di ve triterpenler, esansiyel yağlardan oluşan 300 farklı komponent yer almaktadır (147,136). Doğal madde olan propolisin içerik kompozisyonu ortamın bitki florasına göre farklılıklar göstermektedir. Örneğin Avrupa kıtası ve Çin'den elde edilen propolislerde çeşitli flavanoid türleri ve fenolik asit esterleri daha yoğun iken, Brezilya'da elde edilen propoliste terpenoidler ve kumarik asit deriveleri daha fazla yer almaktadır (148, 149, 150). Kimyasal kompozisyonların farklılığına göre biyolojik aktivitesi

değişmektedir (148). Biz çalışmamızda Asya propolisi olarak Kore propolisini temin ettik. Propolisin içerik analizi sertifikalı olarak yapılmış olup flavanoid içeriği daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bağımsız kuruluşça sertifikalandırılan propolis içeriğinde flavanoidler yeterli miktarda yer alırken; alkol ve diğer metabolitler yer almamıştır.

Flavanoidler farklı oranlarda çeşitli sebze, meyve ve çayda bulunmaktadır. En potent antioksidan özelliği olan, NF- κ B inhibitörü olan flavanoid ise propoliste yoğun olarak bulunan ve ana komponent yer alan kafeik asit fenil eter esteri (CAPE)'dir (151). En potent lipofilik antioksidandır. Yapılan çalışmalarda CAPE'nin, lipooksijenaz, protein tirozin kinaz ve lipit peroksidasyon enzim inhibitörü olduğu gösterilmiştir (151).

İçeriğinin büyük kısmını lipofilik maddelerden oluşan propolis daha kolay olarak etanol ile çözülmekte ise de son yıllarda yapılan çalışmalarda propolis su ile çözünerek pratik kullanımının daha kolay olduğu suda çözünen ekstratları hazırlanmıştır. Yapılan çalışmalarda suda ve alkolde çözülmüş olan propolis ekstratları arasında biyoaktivite olarak belirgin fark saptanmamıştır. Nakajima ve ark. yaptığı çalışmada suda çözünen propolis ekstratlarının in vitro nöroprotektif olduğunu göstermişlerdir (125).

Son yıllarda giderek artan ivme ile gerek CAPE gerekse bütün olarak propolis literatürde birçok çalışmaya konu olmaktadır (126, 127, 128, 129, 130, 131, 147, 148, 149, 150). Doğal ve kuvvetli antioksidan özellikleri yanında propolisin immün sistemi etkileyerek immün restore etkili olduğu ve özellikle hümmoral bağışıklık sistemini etkilediği ortaya konmuştur (147). Akciğer kanseri hücre kültürü ile yapılan çalışmada propolis özellikle apoptotik yolağı kaspaz 8 ve kaspaz 9 üzerinden etkileyerek apoptozisi indüklediği bildirilmiştir (152). Alkol ile hazırlanmış propolis ekstratlarının prostat kanserli hücrelerde kanserli hücrelerin apoptozise daha duyarlı olduğu, CAPE ile indüklenen apoptoziste lösemi kanserli hücrelerin kemoterapiye ve radyoterapiye daha duyarlı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (153,154). Kanserli hücrelerde apoptozisi uyaran propolisin, iskemi-reperfüzyon çalışmalarında, neonatal beyin hipoksik-iskemik modelinde nöroprotektif etkili, kardiyak iskemik reperfüzyon modelinde hemodinamik stabilize edici özellikte

olduğu gösterilmiştir (155,156). CAPE'nin tedavi edici özelliği yanında tedavi öncesi kullanımının yapıldığı bir başka çalışmada, plazmada ve dokuda NO seviyelerini azaltarak subaraknoid kanama sonrasında vazospazm gelişimini azalttığı bildirilmiştir (157). Khan ve ark. tarafından yapılan çalışmada CAPE'nin apoptotik protein ekspresyonunun etkilediği, kaspaz 3 seviyelerini etkilediği böylelikle apoptotik hücre ölümünü azaltarak beyin iskemi modelinde nörovasküler koruma sağladığı gösterilmiştir (151). Propolisin nöroprotektif etkisi antioksidan ve immün sistem üzerine olan etkisi ile açıklanmaktadır.

İlhan ve ark.'nın yaptığı çalışmada spinal kord iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan tavşanlarda CAPE tedavisinin spinal korda oluşan hasarda koruyucu etkili olduğunu göstermişlerdir (158). Bu çalışmada oluşturulan geçici iskemi sonrasında CAPE'nin özellikle antioksidan özelliği ile nörolojik iyileşme üzerine etkili olduğu söylenmiştir. Literatürde propolisin deneysel spinal kord travma modelinde etkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık.

Çalışmamızın sonucunda yapılan nörolojik değerlendirmede kontrol grubu ile travma grubu karşılaştırıldığında nörolojik muayene skorlarının arasında belirgin fark olması ($p<0,01$) oluşturulan travma modelinin doğru etkinliği olarak yorumlanabilir. Kontrol grubu deneklerin hiçbirinde nörolojik defisit yok iken travma grubundaki tüm deneklerde tam felç gelişmiştir. Eğik düzlem skorları da benzer yönde istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,01$). Propolis tedavisi ile gerek nörolojik muayene skorlarında gerekse eğik düzlem bulgularında travma grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı iyileşme gösterilmiştir ($p<0,01$). Nörolojik değerlendirmede her iki ilaç grubu arasında fark tespit edilmemiştir. Kaspaz 3 sonuçlarında travma oluşturulan tüm deneklerde kontrol grubuna göre yükselme bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar literatür bilgileri ile uyumludur. Spinal kord travması sonrası apoptotik yolak çok çeşitli uyarılarla aktive olmakta ve kaspaz proteinlerinin ekspresyonu artmaktadır. İlaç gruplarında ise her iki ilaç grubunun kaspaz 3 ekspresyonu üzerine negatif etkili olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak 200 mg/kg dozu verilen ilaç 2 grubun sonuçları travma grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Her iki ilaç grubun da kaspaz 3 sonuçlarının azalmış olması, propolisin spina kord travmasında antiapoptotik etkisi olarak yorumlanabilir. Spinal kord travma modelinde propolis sahip olduğu

antioksidan özelliği başta olmak üzere diğer nöroprotektif özellikleri ile spinal kord travmatik kontüzyon modelinde apoptozisi inhibe ettiği söylenebilir. Literatürde bu konuda daha önce bir çalışma yapılmamış olması çalışmamızın yapılacak diğer çalışmalarla desteklenmesini gerektirir. Çalışmamızda spinal kord travması ikincil yaralanma mekanizmasında yer alan lizozomal sistein proteazlarını da inceledik. Lizozomal sistein proteazlarında katepsin B'nin spinal kord travmatik hasarlanmasında arttığı ve ikincil yaralanma mekanizmasında etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Elde ettiğimiz sonuçlarda katepsin B değerlerinin, travma grubunda kontrol grubuna göre yükselmiş olması; ilaç gruplarında travma grubuna kıyasla azalmış olması tespit edilmiş ama aradaki ilişki istatistiksel olarak gösterilememiştir ($p>0,05$). Çalışmada katepsin L değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Katepsin B ile Kaspaz 3 değerleri arasındaki regresyon analizinde her iki parametre arasında anlamlı derecede ilişki gösterilmiştir. Lizozomal proteazlar ile mitokondriyal apoptotik yolak arasında ilişkinin gösterilmesi, sonuçların nörolojik değerlendirme ile uyumlu olması propolisin spinal kord travmasında antiapoptotik özelliği ile ikincil yaralanmayı azalttığı hipotezimizi desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Travma sonrası spinal kord yaralanması olan hastaların yarısından fazlası normal yaşantısına geri dönememektedir. Spinal kord yaralanması sonrasında gerçekleşen ikincil yaralanma mekanizmaları hastalığın morbitide ve mortalitesinin yüksek olmasında önemli bir etkindir. Bu nedenle hayvan spinal kord travma modelleri üzerinde yoğun bir çalışma mevcuttur. Fakat yapılan tüm araştırmalara rağmen metilprednizolonun kısıtlı etkisi dışında evrensel geçerliliği olan bir medikal tedavi yöntemi bulunamamıştır.

Klip kompresyon modeli kullanılarak yapılan spinal kord travması sonrası uygulanan propolisin nöroprotektif etkileri; nörolojik değerlendirme ve spinal kord dokusunda kaspaz 3, katepsin B ve katepsin L değerleri ölçümlerine göre değerlendirilmiş ve araştırılmıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda tedavi grubunun nörolojik değerlendirmeleri travma grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuş ($p<0,01$), kaspaz 3 değerleri tedavi grubunda travma grubuna göre azalmış, yüksek doz ilaç uygulamamızda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$). Kaspaz 3 ile katepsin B arasında ilişki tespit edilmiştir. Buna göre propolis tedavisinin spinal kord travmasında antioksidan, antiapoptotik, immün sistem restore edici etkisi ile nöroprotektif etkili olduğu görülmüştür.

Doğal bir madde olan propolis, spinal kord travması sonrasında sahip olduğu özellikler ile ikincil yaralanmayı azaltarak nöroprotektif özellikleri ile tedavi edici amaçla kullanılabilir. Ancak propolisin klinik kullanımı için daha fazla sayıda deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Elsberg LA. The Edwin Smith Surgical Papyrus and the diagnosis and treatment of injuries of skull and spine 500 years ago. *Ann Med Hist* 1931;3:271.
2. McColl MA, Walker J, Stirling P, Wilkins R, Corey P. Expectations of life and health among spinal cord injured adults. *Spinal Cord*. 1987;35(12):818-28.
3. Anderson DK, Meaans ED, Waters TR, Green ES: Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg* 1982;56: 106-113.
4. Carlson G.D, Gorden C. Current developments in spinal cord injury research. *The Spine Journal* 2002 116–128.
5. Shimazawa M, Chikamatsu S, Morimoto N, Mishima N, Nagai H, Hara H. Neuroprotection by Brazilian Green Propolis against In vitro and In vivo Ischemic Neuronal Damage *eCAM* 2005;2(2)201–207.
6. Netter FH: Embriyoloji, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007; pp:130-147.
7. Taner D. Fonksiyonel Nöranatomi. İkinci baskı. Ankara: Metu pres; 1999.s.33-48.
8. Netter FH: Beyin ve omurluğun anatomisi, The Netter Collection of Medical illustration Nervous System, Volume 1: Part I: Anatomy and Physiology, Ed: Brass A, Elsevier Saunders, 2007, pp: 36-66.
9. Snell RS: Medulla spinalis, Klinik Nöroanatomi, Lipicott-Williams & Wilkins/Nobel, İstanbul, 2000; s: 157-177.
10. Çavdar S: Omurga ve omurilik anatomisi ve embriyolojisi, Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Ed. Zileli M, Özer AF, 2.Baskı, cilt 1, Meta Basım, Bornova, İzmir, 2002; s: 15-42.
11. Wilkins RH: Neurosurgical classics1: American association of neurosurgical surgeons. Park ridge, II, 1992, sf: 1-5.
12. Güçlü B, Naderi S. Dünyada ve Türkiye’de spinal travmaların Tarihçesi. İç: Hancı M, Çağlı S, editör. Omurilik ve Omurilik Yaralanmaları. Ankara: Buluş Matbaacılık.2007. s.1-7.
13. Marketos SG, Skiadas PK. Hippocrates. The father of spine surgery. *Spine* 1999;24.2358-2362.
14. Naderi S, Acar F, Merol T, Arda MN. Functional anatomy of the spine by Avicenna in his eleventh century treatise *Al-Quanun fi al-Tibb*. *Neurosurgery* 2003;52:1449-1453.
15. Devivo M. Epidemiology of traumatic spinal cord injury. In:Kirshblum SC, Campagnolo D, DeLisa JE, EDs. *Spinal cord medicine*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins,2002; 69-81.

16. Spinal Cord Injury: Fact Sheet. National Center for Injury Prevention and Control Mailstop Buford Highway NE Atlanta, GA, 2006; 30341-3724.
17. Berkowitz M, O'leary P, Kruse D, Harvey C. Spinal cord injury: An analysis of medical and social costs. Demos Medical pub.1998; New York.
18. Karamehmetoğlu SS, Unal S, Karacan I, Yılmaz H, Togay HS, Ertekin M, Döşoğlu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T. Traumatic spinal cord injuries in Istanbul, Turkey. An epidemiological study. *Paraplegia*. 1995;33(8):469-71.
19. Karamehmetoğlu SS, Nas K, Karacan I, Sarac AJ, Koyuncu H, Ataoğlu S, Erdoğan F. Traumatic spinal cord injuries in southeast Turkey: an epidemiological study. *Spinal Cord*. 1997;35(8):531-3.
20. Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kirnap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalinkiliç A, Unalan HI, Nas K, Orkun S, Tekeoglu . Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord*. 2000;38(11):697-701.
21. Roche SJ, Sloane PA, McCabe JP. Epidemiology of spine trauma in an Irish regional trauma unit: a 4-year study. *Injury*. 2008;39(4):436-4.
22. Wyndaele M, Wyndaele JJ. Incidence, prevalence and epidemiology of spinal cord injury: what learns a worldwide literature survey? *Spinal Cord*. 2006;44(9):523-9.
23. O'Connor PJ. Prevalence of spinal cord injury in Australia. *Spinal Cord*. 2005; 43(1):42-6.
24. Dahlberg A, Kotila M, Leppänen P, Kautiainen H, Alaranta H. Prevalence of spinal cord injury in Helsinki. *Spinal Cord*. 2005;43(1):47-50.
25. Stevan Kirshblum, Çeviri: Erhan B, Bardak AN. In: Delisa J ed - Arasil T, Gök H, Yavuzer G, EDs. *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon İlkeler ve Uygulamalar*. İkinci Baskı, Ankara, GüneşTıp Yayınevi,2007; sf. 1715-1751.
26. Zileli M. Omurilik yaralanmasında epidemiyoloji ve prognoz. In Zileli M, Özer F. EDs. *Omurilik ve Omurga cerrahisi*. İzmir, Meta Basım Evi.2002; Sf: 885-892.
27. Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, Marcillo A, Quencer RM. Observations on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* 1993;59:75–89.
28. Anderson TE, Stokes BT. Experimental models for spinal cord injury research: physical and physiological considerations. *J Neurotrauma* 1992;9(Suppl 1):S135–42.
29. Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *JAMA* 1911;57: 877-880.
30. Freeman, I. W. and Wright, T. W. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. *Ann. Surg.* 1953;137, 433-443.

31. Kajihara, K., Kawanga, H. and de la Torre, J. C. Demethyl sulfoxide in the treatment of experimental spinal cord injury. *Surg. Neurol.* 1973;1, 16-22.
32. Koozekanani, S. H., Vise, W. M., Hashemi, R. M. and McGhee, R. B. Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. *J. Neurosurg.* 1976;44, 429-434.
33. Ayer, J. B. Cerebrospinal fluid in experimental compression of the spinal cord. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1919;2, 158-164.
34. Mcveigh, J. F. Experimental cord crushes with especial reference to the mechanical factors involved and subsequent changes in the areas of the spinal cord affected. *Arch. Surg.* 1923;7, 573-600.
35. Thompson, J. E. Pathological changes occurring in the spinal cord following fracture dislocation of the vertebrae. *Ann. Surg.* 1923;78, 260-293.
36. Craig, W. M. Pathology of experimental compression of the spinal cord. *Proc. Staf Meeting Mayo Clinic* 1932;7, 680-692.
37. Tarlov, I. M., Klinger, H. and Vitale, S. Spinal cord compression studies: I. Experimental techniques to produce acute and gradual compression. *A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat.* 1953;70, 813-819.
38. Tator CH, Fehlings MG: Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms *J Neurosurg* 1991; 75:15 - 26.
39. Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W: Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* 2002; 27(14):1504 -1510.
40. Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the Spine in ancient times. *Spine* 2003; 28(13):1481-1484.
41. Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 44 (5)1027 -1040.
42. Tator CH, Fehlings MG: Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms *J Neurosurg*; 1991;75:15-26.
43. Tarlov IM: Spinal cord compression. Mechanism of paralysis and treatment. Springfield III, 1957;Charles C Thomas.
44. Pleban, PA., Munyani, A., Beachum, J.:Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. *Clin Chem.*,1982; 28:311-316.
45. Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in. Wilkins RH, Rengachary (ed). *Neurosurgery*. McGrawHill,1996;pp 2623-2637.
46. Ross IB, Tator CH: Fooher studies of nimodipine in experimental spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 1991;8:229-238.

47. Sakamoto A, Ohnishi ST, Ohnishi T et al. Relationship between free radical production and lipid peroxidation during ischemia-reperfusion injury in the rat brain. *Brain Res.* 1991;554:186-192.
48. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6(6): 593- 597.
49. Aydın A., Sayal A., Isimer A. Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi GATA ayın kitabı 2001; Sayı 20.
50. Dohrman G, Wagner FJ, Bucy P. The microvasculature in transitory traumatic paraplegia. An electron microscopic study of the monkey. *J Neurosurg* 1971;35:263–71.
51. Wagner F, Dhormann G, Bucy P. Histopathology of transitory traumatic paraplegia in the monkey. *J Neurosurg* 1971;35:272–6.
52. Ducker T. Experimental injury of the spinal cord. In: *Handbook of clinical neurology.* Vinken P, Bruyn GW, editors. New York: Elsevier, 1976:9–26.
53. Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1971;35:700–8.
54. Bresnahan J. An electron-microscopic analysis of axonal alterations following blunt contusion of the spinal cord of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Neurol Sci* 1978;37:59–82.
55. Bresnahan J, King J, Martin G, et al. A neuroanatomical analysis of spinal cord injury in the rhesus monkey. *J Neurol Sci* 1976;28:521–42.
56. Blight A. Delayed demyelination and macrophage invasion: a candidate for secondary cell damage in spinal cord injury. *CNS Trauma* 1985;2:299–315.
57. Means E, Anderson D. Neuronophagia by leukocytes in experimental spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 1983;42:707–19.
58. Senter HJ, Venes JL. Loss of autoregulation and posttraumatic ischemia following experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1979;50:198–206.
59. Fehlings M, Tator C, Linden R. The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials and spinal cord blood flow. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1989;74:241–59.
60. Carlson G, Gorden C, Nakazowa S, Wada E, LaManna J. Perfusion limited recovery after spinal cord injury. *Spine* 2000;25(10):1218–26.
61. Carlson G, Gorden C, Wada E, Nakazawa S, Biro C, LaManna J. Vascular re-perfusion and neural preservation after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1998;15:860.
62. Levi L, Aizik W, Belzberg H. Hemodynamic parameters in patients with acute cervical cord trauma: description, intervention, and prediction of outcome. *Neurosurgery* 1993;33(6):1007–16.
63. Nashmi R, Fehlings MG: Role of voltage gated K⁺ channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator.* 2001;14:5-9.

64. Stys PK, Waxman SG, Ransom BR: Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian spinal CNS white matter: Role of Na⁺ channels and Na⁺-Ca⁺⁺ exchanger. *J Neurosci.* 1992;12:430-439.
65. Young W, Huang P, Kume K: Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the injury process: Editorler: Benzel EC, Tator CH. Bolum 4 , AANS, Illinois,1995;Sayfa 27-42.
66. Jike Lu, MD, Ken W. S. Ashwell, PhD, and Phil Waite, PhD Advances in Secondary Spinal Cord Injury Role of Apoptosis SPINE Volume 25, Number 14, pp 1859–1866.
67. Raff M. Cell suicide for beginners. *Nature* 1998;396:119–22.
68. Cohen JJ. Apoptosis. *Immunol Today* 1993;14:126–30.
69. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1992; 26: 239-245.
70. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature*, 1980; 284: 555-556.
71. Wyllie AH: The genetic regulation of apoptosis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1995; 5: 97- 104.
72. Nakano R: Apoptosis: Gene directed cell death. *Horm Res.* 1997; 48: 2-4.
73. Schwartzman RA, Cidloski JA: Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Reviews.*1993; 14: 133- 144.
74. Cohen JJ: Apoptosis: The physiological pathway of cell death. *Hosp Pract.* 1993; 15: 35-43.
75. Zurita M, Vaquero J: Presence and significance of CD-95 (Fas/APO1) expression after spinal cord injury. *J Neurosurg. (Spine).* 2001;94: 257-264.
76. Li GL, Brodin G, Farroque M, et al: Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996; 55: 280-289.
77. Uçankale M: SJA6017 Noroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Taksim Eğitim Araştırma Hast. Nöroşirürji Kliniği, 2004, İstanbul.
78. Katoh K, Ikata T, Katoh S, et al: Induction and its spread of apoptosis in rat spinal cord after mechanical trauma. *Neurosci Lett.* 1996; 216: 9-12.
79. Lee D, Scott AL, Jerry LA: Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptosis and maintain cell functionality. *The J Biol Chem.* 2000; 275: 16007-16014.
80. Bracken MB, Holford TR: Effects of timing of methylprednisolone or naloxane administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg.* 1993; 79: 500-507.

81. Bracken MB, Shepard MJ, Collinbs WF, et al: A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxane in the treatment of acute spinalcord injury. *N Engl J Med.* 1990; 322: 1405-1411.
82. Choi DW: Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture in calcium dependent. *Neurosci Lett.* 1985; 58: 293-297.
83. Choi WS, Lee EH, Chung CW: Cleavage of bax is mediated by caspase dependent or independent calpain activation in dopaminergic neuronal cells: protective role of Bcl 2. *J Neurochem.* 2001; 77:1531-1541.
84. Lou J, Lenke LG, Ludwig FJ, O'Brien MF: Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord.* 1998; 36 : 683-690.
85. Lu J, Ashwell K, Ken WS, Waite P: Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine.* 2000; 25: 1859-66.
86. Wyllie AH: Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature.* 1980, 284: 555-556.
87. Cohen JJ: Apoptosis. *Immunol Today.* 1993; 14: 126-130.
88. Wolman L: The disturbance of circulation in traumatic paraplegia in acute and late stages: a pathological study. *Paraplegia.* 1995; 2: 213-226.
89. Krajewski S, Krajewska M, Ellerby LM, Welsh K, Xie Z, Deveraux QL, Salvesen GS, Bredesen DE, Rosenthal RE, Fiskum G, Reed JC: Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci, USA,* 1996; 96: 5752-5757.
90. Toshiyuki Nakagawa, Junying Yuan: Cross-talk between Two Cysteine Protease Families: Activation of Caspase-12 by Calpain in Apoptosis. *J. Cell Bio.* 2000; 150: 887-894.
91. Takagi T, Takayasu M, Mizuno M et al: Caspase activation in neuronal and glial apoptosis following spinal cord injury in mice. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2003;43: 20-29.
92. Chan S.L, Mattson MP: Caspase and calpain substrats: Roles in synaptic plasticity and cell death. *J. Neurosci. Res.*1999; 58: 167-190.
93. Swapan KR, Edward LH, Naren LB: Calpain in the pathophysiology of spinal cord injury: neuroprotection with calpain inhibitors. *Brain Res. Reviews.* 2003; 42: 169-185.
94. Kaya M: Bir kalpain inhibitörü olan AK295'in nöroprotektif etkilerinin deneysel spinal kord travması modelinde incelenmesi. *Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi. Taksim Eğitim. Araştırma Hast. Nöroşirurji Kliniği,* 2005, İstanbul.
95. Li M, Ona VO, Chen M, Kaul M et al: Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience.* 2000; 99: 333-342.
96. Choi DW: Calcium mediated neurotoxicity: relationship to spesific channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci.* 1998; 11: 465- 469.

97. Himi T, Ishizaki Y, Murota S: A caspase inhibitor blocks ischaemia induced delayed neuronal death in the gerbil. *Eur J Neurosci.* 1998;10: 777- 781.
98. Yakovlev AG, Faden AI: Caspase-dependent apoptotic pathways in CNS injury. *Mol Neurobiol.*2004; 24: 131-144.
99. Liu XZ, Xu XM, Hu R, Du C, Zhang SX, McDonald JW, Dong HX, Wu YJ, Fan GS, Jacquin MF, Hsu CY, Choi DW: Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury. *J Neurosci.*1997; 15: 5395-5406.
100. Hall E, Braughler J. Free radicals in CNS injury. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 1993;71:81–105.
101. Anderson DK, Braughler JM, Hall ED, Waters TR, McCall JM, Means ED. Effects of treatment with U-74006F on neurological outcome following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1988;69:562–7.
102. Hall ED. Effects of the 21-aminosteroid U74006F on post-traumatic spinal cord ischemia in cats. *J Neurosurg* 1988;68:462–5.
103. Hall ED, Yonkers PA, Horan KL, Braughler JM. Correlation between attenuation of posttraumatic spinal cord ischemia and preservation of tissue vitamin E by the 21-aminosteroid U74006F: evidence for an in vivo antioxidant mechanism. *J Neurotrauma* 1989;6:169–76.
104. Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ: Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *BrainRes.* 1991; 547:344- 348.
105. Choi DW: Excitotoxic cell death. *J Neurobiol.* 1992; 23:1261 1276.
106. Regan FR: the vulnerability of spinal cord neurons to excitotoxic injury: Comparison with cortical neurons. *NeurosciLett.* 1996;213:9-12.
107. Alessandri B, Bullock R: Glutamate and its receptors in the pathophysiology of brain and spinal cord injuries. *Prog Brain Res.* 1998; 116:303-330.
108. Faden A. Opioid and nonopioid actions mechanisms may contribute to dynorphin's pathophysiological actions in spinal cord injury. *Ann Neurol* 1990;27:67–74.
109. Faden A, Jacobs P, Holaday J. Opiate antagonist improves neurologic recovery after spinal injury. *Science* 1981;211:493–4.
110. Faden A, Jacobs T, Holaday J. Thyrotropin-releasing hormone improves neurologic recovery after spinal trauma in cats. *N Engl J Med* 1981;305:1063–7.
111. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF, et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. *N Engl J Med* 1990;322(20):1405–11.
112. Uzun O, Unal S. Guncel bilgiler ışığında Enfeksiyon hastalıkları. *Bilimsel Tıp, Ankara* 2002;821-834.
113. Greene KA, Marciano FF, Sonntag VKH. Pharmacological management of spinal cord injury: current status of drugs designed to augment functional recovery of the injured human spinal cord. *J Spinal Disord* 1996;9(5):355–66.

114. Greene KA, Marciano FF, Sonntag VKH. Pharmacological strategies in the treatment of spinal cord injuries: a critical review. *Crit Rev Neurosurg* 1994;4:254–64.
115. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. GM-1 ganglioside in human spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992;9(2):S517–30.
116. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal cord injury—a randomized placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 1991;324(26):1829–38.
117. Bregman BS, Broude E, McAtee M, Kelley MS. Transplants and neurotrophic factors prevent atrophy of mature CNS neurons after spinal cord injury. *Exper Neurol* 1998;149(1):13–27.
118. Bregman BS, Diener PS, McAtee M, Dai HN, James C. Intervention strategies to enhance anatomical plasticity and recovery of function after spinal cord injury. *Adv Neurol* 1997;72:257–75.
119. Bregman BS, McAtee M, Dai HN, Kuhn PL. Neurotrophic factors increase axonal growth after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exper Neurol* 1997;148(2):475–94.
120. Diener PS, Bregman BS. Fetal spinal cord transplants support growth of supraspinal and segmental projections after cervical spinal cord hemisection in the neonatal rat. *J Neurosci* 1998;18(2):779–93.
121. De La Torre JC. Spinal cord injury: review of basic and applied research. *Spine* 1981;6(4):315–35.
122. Lewin MG, Hansebout RR, Pappius HM. Chemical characteristics of spinal cord edema in cats: effects of steroids on potassium depletion. *J Neurosurg* 1974;40:65.
123. Nacimiento AC, Bartels M, Herrmann HD. Dexamethasone prevents loss of axonal conduction and reflex activity, and reduces spread of structural damage in acute spinal cord trauma. *Soc Neurosci Abstr* 1979;5:727.
124. Anderson DK. Chemical and cellular mediators in spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992;9:143–5.
125. Yoshimi Nakajima a, Masamitsu Shimazawa a, Satoshi Mishima b, Hideaki Hara a, Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions *Life Sciences*. 2007; 370–377.
126. Bankova, V., Marcucci, M.C., Simova, S., Nikolova, N., Kujumgiev, A., Popov, S. Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, A Journal of Biosciences*. 1996; 51 (5–6), 277–280.
127. Drago, L., Mombelli, B., de Vecchi, E., Fassina, M.C., Tocalli, L., Gismondo, M.R. In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *Journal of Chemotherapy*. 2000; 12 (5), 390–395.

128. Mirzoeva, O.K., Calder, P.C. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response, prostaglandins. *Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2000; 55 (6), 441–449.
129. Krol, W., Czuba, Z., Scheller, S., Gabrys, J., Grabiec, S., Shani, J. Antioxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochemistry International*. 1990; 21 (4), 593–597.
130. Basnet, P., Matsushige, K., Hase, K., Kadota, S., Namba, T. Four di-Ocaffeoyl quinic acid derivatives from propolis. Potent hepatoprotective activity in experimental liver injury models. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 1996; 19 (11), 1479–1484.
131. Chen, C.N., Weng, M.S., Wu, C.L., Lin, J.K. Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells by Taiwanese propolis from different sources. *Evidencebased Complementary and Alternative Medicine*. 2004; 1 (2), 175–185.
132. Matsuo, T. Isolation and characterization of the tumoricidal substance from Brazilian propolis. *Honeybee Science*. 1992; 13, 49–54.
133. Mani F., Damasceno H.C.R., Novelli ELB, Martins EAM, Sforcin JM. Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seic biochemical variables. *Journal of Ethno-Pharmacology*, 2006; 95-98
134. Masamitsu Shimazawa¹, Satomi Chikamatsu, Nobutaka Morimoto, Satoshi Mishima, Hiroichi Nagai and Hideaki Hara. Neuroprotection by Brazilian Green Propolis against In vitro and In vivo Ischemic Neuronal Damage *eCAM* 2005;2(2)201–207.
135. Shimazawa, M., Chikamatsu, S., Morimoto, N., Mishima, S., Nagai, H., Hara, H. Neuroprotection by Brazilian green propolis against in vitro and in vivo ischemic neuronal damage. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2005; 2 (2), 201–207.
136. Ichikawa, H., Satoh, K., Tobe, T., Yasuda, I., Ushio, F., Matsumoto, K., Endo, K., Ookubo, C. Free radical scavenging activity of propolis. *Redox Report: Communications in Free Radical Research*. 2002; 7 (5), 347–350.
137. Ewelina Szliszka, Zenon P. Czuba, Joanna Bronikowska, Anna Mertas, Andrzej Paradysz and Wojciech Krol. Ethanolic Extract of Propolis Augments TRAIL-Induced Apoptotic Death in Prostate Cancer Cells *eCAM* 2009; Page 1-10.
138. Li-Chieh Wang, Yu-Li Lin, Yu-Chih Liang, Yao-Hsu Yang, Jyh-Hong Lee, Hsin-Hui Yu, Wen-Mein Wu and Bor-Luen Chiang. The effect of caffeic acid phenethyl ester on the functions of human monocyte-derived dendritic cells *BMC Immunology* 2009, 10-39.
139. Taoka Y, Okajima K: Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobio*. 1998;156:341- 358.
140. Rivlin AS, Tator CH: Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J Neurosurg*. 1978; 49: 844-853.
141. Barrett A. J. Kirschke H. *Methods Enzymology*. 1980; Volume 80, 535-538.

142. Ann Zovein, Judy Flowers-Ziegler, Shanthie Thamotharan, Don Shin, Raman Sankar, Khoi Nguyen, Sanjiv Gambhir, and Sherin U. Devaskar. Postnatal hypoxic-ischemic brain injury alters mechanisms mediating neuronal glucose transport *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004; 286: R273–R282.
143. Dumont AS, Dumont RJ, Oskouian R. Will improved understanding of the pathophysiological mechanism involved in acute spinal cord injury improve the potential for therapeutic intervention? *Current Opinion in Neurology* 2002;15:713-720
144. Ellis RC, O'Steen WA, Hayes RL, Nick HS, Wang KK, Anderson DK. Cellular localization and enzymatic activity of cathepsin B after spinal cord injury in the rat. *Exp Neurol*. 2005 May;193(1):19-28.
145. Ellis RC, Earnhardt JN, Hayes RL, Wang KK, Anderson DK. Cathepsin B mRNA and protein expression following contusion spinal cord injury in rats. *J Neurochem*. 2004 Feb;88(3):689-97.
146. Banik NL, Hogan EL, Powers JM, Smith KP. Proteolytic enzymes in experimental spinal cord injury. *J Neurol Sci*. 1986 May;73(3):245-56.
147. Pagliarone AC, Missima F, Orsatti CL, Bachiega TF, Sforcin JM. Propolis effect on Th1/Th2 cytokines production by acutely stressed mice. *J Ethnopharmacol*. 2009 Sep 7;125(2):230-3
148. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins *Food Chemistry* 84 (2004) 329–339
149. Bankova, V. S., Castro, S. L. D., & Marcucci, M. C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*,2000; 31, 3–15.
150. Marcucci, M. C., & Bankova, V. Chemical composition, plant origin and biological activity of Brazilian propolis. *Current Topics in Phytochemistry*,1999; 2, 115–123.
151. Khan M, Elango C, Ansari MA, Singh I, Singh AK. Caffeic acid phenethyl ester reduces neurovascular inflammation and protects rat brain following transient focal cerebral ischemia. *J Neurochem*. 2007 Jul;102(2):365-77
152. Seda Vatansever H, Sorkun K, Ismet Deliloğlu Gurhan S, Ozdal-Kurt F, Turkoz E, Gencay O, Salih B. Propolis from Turkey induces apoptosis through activating caspases in human breast carcinoma cell lines. *Acta Histochem*. 2009 Sep 3, p. 1-10.
153. Yu-Jen Chen, Ming-Shi Shiao and Sheng-Yuan Wang. The antioxidant caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis associated with selective scavenging of hydrogen peroxide in human leukemic HL-60 cells *Anti-Cancer Drugs* 2001;12, pp. 143-149
154. Szliszka E, Czuba ZP, Bronikowska J, Mertas A, Paradysz A, Krol W. Ethanolic Extract of Propolis Augments TRAIL-Induced Apoptotic Death in Prostate Cancer Cells. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2009 Nov 5 ,p 1-10.

155. Wei X., Zhao L., Ma Z., Holtzman D. M., Yan C., Dodel R. C., Hampel H., Oertel W., Farlow M. R. and Du Y. Caffeic acid phenethyl ester prevents neonatal hypoxic-ischaemic brain injury. *Brain*,2004; 127, 2629–2635.
156. Ozer M. K., Parlakpınar H. and Acet A. Reduction of ischemia– reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin. Biochem.* 2004;37, 702–705.
157. Aladag M. A., Turkoz Y., Ozcan C., Sahna E., Parlakpınar H., Akpolat N. and Cigremis Y. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) attenuates cerebral vasospasm after experimental subarachnoidal haemorrhage by increasing brain nitric oxide levels. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2006;24, 9–14.
158. İlhan A, Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, Ciralik H, Akyol O. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999 Oct;16(4):458-63.