



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

**TAVŞANDA DENEYSEL KİSMİ OMURİLİK HASARI
MODELİNİN TANIMLANMASI**

**Dr. Tekin TAZEGÜL
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**SİVAS
2010**



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

**TAVŞANDA DENEYSEL KISMİ OMURİLİK HASARI
MODELİNİN TANIMLANMASI**

**Dr. Tekin TAZEGÜL
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır**

**Doç. Dr. Özen KARADAĞ
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ**

**SİVAS
2010**

ONAY SAYFASI

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Üye: Prof. Dr. H. Zafer Kars

Üye: Doç. Dr. Mustafa Gürelık

Üye: Doç. Dr. Özen Karadağ

Bu tez,tarih vesayılı Yönetim Kurulu Kararı ile belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Şencan

Tıp Fakültesi Dekanı

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

• TEŞEKKÜR	ii
• ÖZET	iii
• İNGİLİZCE ÖZET	iv
• SİMGELER ve KISALTMALAR	v
• ŞEKİLLER	vi
• TABLOLAR	vii
• GİRİŞ	1
• GENEL BİLGİLER	2
1. OMURİLİK YARALANMASI MODELLERİ VE TARİHSEL GELİŞİMİ	2
2. OMURİLİK YARALANMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ	4
3. AKUT OMURİLİK YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ	5
• GEREÇ VE YÖNTEM	8
1. GEREÇLER	8
2. YÖNTEM	8
2.1. DENEY PROTOKOLÜ	8
2.2. CERRAHİ İŞLEM	10
2.3. MOTOR İŞLEVLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	12
2.4. YAPISAL HASARIN MRG İLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE HACİMİN HESAPLANMASI	12
2.5. HİSTOPATOLOJİK HASARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	13
2.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	14
• BULGULAR	15
1. MOTOR İŞLEVLER	15
2. YAPISAL HASAR	18
3. HİSTOPATOLOJİK HASAR	20
• TARTIŞMA	24
• SONUÇ	29
• KAYNAKLAR	30

TEŞEKKÜR

Maddi, manevi destekleri ve fedakarlıkları için aileme, tıp eğitiminde bana emeği geçen tüm hocalarıma, beyin ve sinir cerrahisi alanında beni yetiştiren, ilgilerini eksik etmeyen, bitirme tezimi hazırlamamda deneyim ve bilgileriyle bana destek olan Doç. Dr. Özen Karadağ'a teşekkür ederim. Prof. Dr. H. Zafer Kars, Doç. Dr. Mustafa Gürelik, Doç. Dr. Ünal Özüm ve Yard. Doç. Dr. Fatih Bayraklı'ya beyin ve sinir cerrahisi eğitimime olan katkılarından dolayı teşekkür ederim. İhtisas sürem boyunca beraber çalıştığım tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Araştırmanın patolojik incelemesindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Reyhan Eğilmez'e, radyolojik çalışma aşamasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. İbrahim Öztoprak'a ve çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesinde katkılarından dolayı Yard. Doç. Dr. Ziynet Çınar'a teşekkür ederim.

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (CÜBAP) tarafından desteklenmiştir (CÜBAP Proje No: T-397).

ÖZET

Omurilik yaralanmalarının mortalite ve morbidite yönünden sonuçlarının kötü olması, araştırmacıları yeni tedavi yöntemleri bulmak ve geliştirmek için omurilik yaralanmasının fizyopatolojisini incelemeye yöneltmiştir. Bu nedenle, hayvanlar üzerinde insan omurilik yaralanmalarına benzer deneysel modeller oluşturma gereksinimi doğmuştur.

Bu çalışmadaki amacımız; tavşanlarda epidural bası ile oluşturulan kısmi omurilik hasarı modelinde ikincil hasara bağlı nöral doku kaybının sonuçlarını Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), işlevsel kayıp ve histopatolojik olarak saptamaktı.

Çalışmamızda denekleri 4 gruba ayırdık; I. Grupta genel anestezi altında L3 laminektomi yapıldı, perkütanöz transluminal koroner anjiyografi (PTCA) kateteri L1 seviyesine kadar ilerletildi, balon şişirilmeden geri çekildi. II. Grupta işlem sonrası kateter balonu 30 dk, III. Grupta işlem sonrası kateter balonu 60 dk, IV. Grupta işlem sonrası kateter balonu 90 dk 4 atm basınçta şişirilerek epidural bası uygulandı. Hedefimiz tavşanda oluşturulan kısmi omurilik hasarı modelinin farklı sürelerdeki etkisini göstermekti.

Deneklerin bası sonrası ortalama Tarlov puanları karşılaştırıldı. İlk haftadan sonra II, III, IV. gruptaki deneklerin arka ayakların motor işlevleri yavaş yavaş iyileşirken, sham grubunda işlevsel kayıp olmadığı tespit edildi. I, II, III ve IV. Grupların 1. ve 21. günde çekilen MRG'de hesaplanan lezyon hacim oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Deneklerden 21. gün sonunda alınan omurilik örnekleri histopatolojik olarak incelendi. Hemotoksilen-Eozin (H-E), Luksol Fast Mavis (LFM) boyama yöntemleri uygulandı. I., III, ve IV. Gruplarda nöronların, omurilik basısına bağlı bölgesel iskemiden etkilendiği görüldü.

Sonuç olarak deneysel epidural omurilik basısıyla oluşturulan kısmi omurilik hasarında bası süresi ile orantılı olarak nörolojik kayıpların arttığını ve sonuçlarının nörolojik muayene, MRG ve histopatolojik olarak tespit edilebildiğini ortaya koymuş olduk.

Anahtar Sözcükler: omurilik basısı, travma, tavşan

SUMMARY

Spinal cord injuries resulting in severe mortality and morbidity have led researchers to examine the pathophysiology of spinal cord injuries to find and develop new treatment strategies. For this reason, the need for developing animal models of experimental spinal cord injury resembling to human spinal cord injuries occurred.

In this study, we aimed to establish the results of neural tissue loss due to secondary injury on rabbit model of partial cord injury through epidural compression with Magnetic Resonance Imaging (MRI), the functional loss, and histopathologically.

We divided the subjects into 4 groups; we applied L3 laminectomy to group I under general anaesthesia. The percutaneous transluminal coroner angiography (PTCA) catheter was moved to L1 level, the balloon was withdrawn without being inflated. After the process of laminectomy, the catheter balloon was inflated at 4 atm pressure and applied epidural compression for 30 minutes in group II, 60 minutes in group III, and 90 minutes in group IV. Our goal was to show the effect of rabbit spinal cord injury model on different time intervals.

The mean after compression Tarlov scores of the subjects were compared. After the first week, while hind limb motor function of the subjects in groups II, III, and IV improved slowly, there found no functional loss in sham group. The difference between lesion volume rates of the groups I, II, III, IV on MRI taken on day 1 and 21 after compression was statistically significant.

Spinal cord sections obtained from the subjects on day 21 were examined histopathologically. Haematoxylin-Eosin (H-E), Luxol Fast Blue (LFM) staining methods were applied. In groups I, III, and IV, neurons were effected by regional ischemia due to spinal cord compression.

As a result, we established that the neural tissue loss increased in proportion to the compression time in partial spinal cord injury and that could be established through MRI, functionally, and histopathologically.

Key words: spinal cord compression, trauma, rabbit

SİMGELER ve KISALTMALAR

Atm	atmosfer
ATP	Adenozin Tri-Fosfat
Ca ⁺²	Kalsiyum
cm	Santimetre
dk	Dakika
DTP	Düzenlenmiş Tarlov Puanlaması
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz
g	Gram
H-E	Hematoksilen-Eozin
İM	İntra musküler
K+	Potasyum
kg	Kilogram
LFM	Luksol Fast Mavisi
mg	Miligram
Mhz	Megahertz
mm	Milimetre
ml	Mililitre
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MUP	Motor Uyarılmış Potansiyeller
Na+	Sodyum
PTCA	Percutaneous Transluminal Coronary Artery Angioplasty
®	Ticari kayıtlı marka
sn	Saniye
SUP	Somatosensoriyel Uyarılmış Potansiyeller
T1 A	T1 Ağırlıklı
T2 A	T2 Ağırlıklı

<u>SEKİLLER</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: PTCA kateteri ucunun epidural aralığa yerleştirilmesi	11
Şekil 2: PTCA kateterinin basınç kontrollü inflatör ile şişirilmesi	11
Şekil 3: MRG’de T2 ağırlıklı sagittal ve aksiyel kesitlerde lezyonun görünümü	13
Şekil 4: I, II, III ve IV. Grupların motor işlevlerini gösteren DTP ortalama \pm standart sapma eğrileri	18
Şekil 5: MRG’ de lezyon oranlarının ortalama \pm standart sapma grafiği	20
Şekil 6: Beyaz maddede iskemik nekroz, köpüklü histiyositler (H-E, x40)	21
Şekil 7: Gri maddede kırmızı nöronlar (H-E, x40)	21
Şekil 8: Ortada büyük alanda iskemik nekroz (H-E, x10).	22
Şekil 9: Tavşanlarda omurilik ve omurga kanalı anatomisi	25

<u>TABLolar</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Omurilik yaralanma modellerinin tarihsel gelişimi	3
Tablo 2: Omurilik yaralanmasına fizyolojik cevap	5
Tablo 3: Omurilik yaralanmasında bölgesel fizyolojik değişiklikler	6
Tablo 4: Omurilik yaralanmasında ikincil hasar mekanizmaları	7
Tablo 5: Düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemi	12
Tablo 6: I. Grup Düzenlenmiş Tarlov puanları	15
Tablo 7: II. Grup Düzenlenmiş Tarlov puanları	16
Tablo 8: III. Grup Düzenlenmiş Tarlov puanları	16
Tablo 9: IV. Grup Düzenlenmiş Tarlov puanları	17
Tablo 10: II. Grup lezyon oranı değerleri	18
Tablo 11: III. Grup lezyon oranı değerleri	19
Tablo 12: IV. Grup lezyon oranı değerleri	19
Tablo 13: II. Grup H-E ve LFM boyama sonuçları	22
Tablo 14: III. Grup H-E ve LFM boyama sonuçları	23
Tablo 15: IV. Grup H-E ve LFM boyama sonuçları	23

GİRİŞ

Travma sonrası oluşan omurilik yaralanmaları giderek görülme sıklığı artan, önemli sosyal ve ekonomik kayıplara neden olan sağlık sorunlarından biridir. İlerleyen teknolojiyle birlikte gelişen taşıma araçlarına bağlı olarak görülme oranları artmaktadır. Omurilik yaralanmasına maruz kalan kişiler tekerlekli sandalyeye bağımlı (paraparezik) olarak günlük işlerini yapabilen sakatlanmış bireyler olabileceği gibi, tetraplejik olup tamamen bakıma muhtaç bireyler olarak da kalabilirler.

Omurilik yaralanması olan olguların iyileştirilmesinde yeni düzenlemeler ile hastanede yatış süreleri 2000 yılı öncesine göre günümüzde yaklaşık olarak %50 azalmıştır. Bununla birlikte yaşa ve yaralanmanın şiddetine bağlı olarak çeşitli masraflar ve sağlık hizmetleri için ortalama bir kişinin iyileştirilmesinde tıbbi tedavi gideri 100.000 ile 300.000 dolar arasındadır.

Travmatik omurilik yaralanmasında birincil zedelenme travma anında gelişen zedelenme şeklidir, ve bugün için birincil hasarın önlenmesi konusunda aktif, pasif güvenlik önlemleri ile vücudun hareketsizliğini sağlama dışında ilaç ile tedavisi mümkün değildir. İkincil zedelenme ise birincil zedelenmenin tetiklediği metabolik ve biyokimyasal olayların neden olduğu hasarlanma şeklidir, bu ilerleyici süreçte rol oynayan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Travmatik omurilik yaralanmasında tıbbi tedavide amaç daha çok bu mekanizmaların önlenmesidir.

Araştırmacılar bir yandan omurilik yaralanmasında rol oynayan fizyopatolojik olayları araştırırken, diğer yandan bulunan yeni fizyopatolojik mekanizmalardan hareket ederek yeni tedavi yöntemleri keşfetmeye çalışmaktadırlar. İşte tüm bu çabalar için insan omurilik yaralanmalarına benzer modelleri hayvanlarda oluşturmak gereksinimi vardır.

Bu çalışmada amacımız, deneysel bir modelde omuriliğe bası yaparak oluşturulan lezyon ile basının kaldırılmasından sonra işlevsel, patolojik, radyolojik olarak lezyonu ve çevresindeki sağlam kalabilmiş nöral dokuları ortaya koyarak deneysel modelin uygulanabilirliğini kanıtlamaktır.

GENEL BİLGİLER

Travmatik omurilik yaralanmalarının en yaygın nedenleri sıklık sırasına göre; motorlu araç kazaları (yaklaşık % 50), düşmeler, ateşli silah yaralanmaları veya kesici-delici aletlerle oluşmuş yaralanmalar ve spor kazalarıdır. En sık etkilenen bölge servikal ve dorsolomber bileşkedeki omuriliktir (1, 2, 3).

Ülkemizde omurilik yaralanmasına ait epidemiyolojik çalışmaların sayısı azdır. Yapılan bir çalışmada, omurilik yaralanma insidansı İstanbul'da milyonda 21, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde ise milyonda 16,9 olarak saptanmıştır. En sık omurilik yaralanma sebebi olarak yüksekten düşme saptanmış, bunu İstanbul'da trafik kazaları Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ise ateşli silah yaralanmaları izlemiştir (4). Çeşitli ülkelerde travma olgularında omurilik yaralanmaları %2–4 arasında görülmektedir (5). Travmatik omurilik yaralanması ve tedavisi üzerine yapılan birçok araştırma olmasına rağmen, tam bir tedavi seçeneği halen bulunamamıştır (3, 5). Omurilik yaralanmasının etkin tedavisindeki gelişmeler, omurilik yaralanmasına eşlik eden patofizyolojik değişiklikleri anlamamıza bağlıdır. İnsan omuriliğinin karmaşıklığı, büyüklüğü ve kemik yapı ile korunmuş olması akut travmaları iyi değerlendirmemizi zorlaştırmaktadır. Yeni nörofizyolojik ve görüntüleme teknikleri, insanda akut omurilik yaralanmasını belirlemede sınırlı güce sahiptir (3).

Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisini anlamak için omurilik yaralanmalarında görülen kan akımı ve metabolik değişikliklerin deneysel hayvan modellerinde gösterilmesi gerekmektedir (6).

1. OMURİLİK YARALANMASI MODELLERİ VE TARİHSEL GELİŞİMİ

Omurilik yaralanmasının patofizyolojisini araştırmak ve nöron koruyucu ajanların etkilerini araştırmak için çeşitli deneysel modeller kullanılmıştır. İlk kez Galen II. yüzyılda omurilik kesisi yapmıştır (5). Allen, 1911 yılında omurilik üzerine yüksekten ağırlık düşürerek deneysel omurilik yaralanması oluşturmuştur (5, 7).

Tarlov 1953'te epidural aralıkta balon şişirerek omurilik yaralanması oluşturmuştur (8). Rivlin ve Tator, 1978'de omuriliği ekstradural olarak anevrizma klipi ile sıkıştırmıştır (9). Watson, 1986 da lazer ile omurilik kesisi yapmıştır (10). Stokes ve Reier, 1990'da omuriliğe yapılacak darbenin şiddetini ve hızını önceden belirleyip darbe sonunda öngörülen travmanın olup olmadığını denetleyen elektromekanik bir cihaz geliştirmiştir (11). Omurilik yaralanması modellerinin tarihsel gelişimi Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1: Omurilik yaralanması modellerinin tarihsel gelişimi (12).

Araştırmacı	Tarih	Model
Galen	II. yüzyıl	Omurilik kesisi
Watson	1891	Köpekleri yüksekten düşürme
Allen	1911	Omurilik üzerine ağırlık düşürme
Mc Veigh	1923	Omurilik üzerine parmakla basma
Tarlov	1953	Epidural aralıkta balon şişirme
Fontaine	1954	Klemp ile omuriliği sıkıştırma
Rivlin	1978	Omuriliği anevrizma klipiyle sıkıştırma
Watson	1986	Omurilikte lazer ile kesi oluşturma
Benzel	1990	Omurgayı klemp ile sıkıştırma
Stokes	1990	Elektromekanik kontüzyon

Omurilik yaralanması modelleri Tator tarafından sınıflandırılmıştır (13).

A) Travmatik yaralanma

1- Akut kinetik bası; Klip, Balon, Omurga kırığı, Darbeli cihaz, Ağırlık düşürme

2- Akut statik bası

3- Akselerasyon-deselerasyon

4- Germe

5- Yatay düzlemde kesi

B) Travmatik olmayan yaralanma

1- İskemik hasar

2- Tümör basısı

3- Kimyasal hasar

4- Fiziksel hasar

2. OMURİLİK YARALANMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ

2.1. Klinik muayene:

Tarlov testi: Tarlov, sıçanın motor işlevlerini 6 dereceye ayırarak öznel muayeneyi nicel hale getirdi. Tam felçli sıçana 0 puan, normal motor davranışı olan sıçana 5 puan verdi (14, 15). Stokes ve Reier, Tarlov'un testini yeniden düzenlediler (Tablo 5) (15).

Eğimli yüzey testi: Rivlin ve Tator 1977'de nicel bir test olan eğimli yüzey (*Inclined table*) testini ortaya koydular. Hayvanın 5 sn süre ile kaymadan kalabildiği en yüksek açıyı hayvanın puanı olarak değerlendirdiler (16).

2.2. Histopatolojik inceleme:

Histopatolojik kesitlerde nekroz alanı ve nöronlardaki değişiklikler nicel hale getirilebilir. Bu amaçla rutin boyama yöntemlerinin yanı sıra, myelindeki değişiklikleri gözlemlemek için LFM ve NO belirlemede immün histokimyasal yöntemlerden faydalanılır (17).

2.3. MRG (Manyetik Rezonans Görüntüleme):

Omurilikte ödem, kanama ve omurilik kesisi sadece MRG ile görülebilir. Akut hematomyeli T2 A kesitlerde hipointens, T1 A kesitlerde izo-hipointens izlenir. Hematomun emilimi sürdükçe T2 A kesitlerde methemoglobine bağlı hiperintensite, en son aşamada ferritin-hemosiderin oluşumu ile hipointensite gelişimi ile seçici tanı konur. Kontüzyonda ise T2 A kesitlerde hiperintens, T1 A kesitlerde hipointens sinyaller görülür (18).

2.4. Akson izleyicileri:

Travmanın ve terapötik etkenin omuriliğin özellikli traktuslarına olan olumlu veya olumsuz etkilerini belirlemede kullanılır. Horseradish peroksidaz yöntemi en yaygın kullanılanıdır (12).

2.5. Biyokimyasal ölçümler:

Kalsiyum iyonunun hücre içine girişi sitotoksik zinciri başlatır. Kalsiyum iyonunun ölçümü mümkündür. Mikrodiyaliz yöntemi ile omurilikte in vivo laktat, pürüvat, aspartat, glutamat düzeylerinin ölçüm yöntemleri bildirilmiştir. Lipid

peroksidasyonun son ürünlerinin nicel ölçümleri yapılabilmektedir. Antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz) düzeylerine bakılabilmektedir (12).

2.6. Omurilik kan akımının ölçülmesi:

Ağır omurilik yaralanmasından hemen sonra omurilik kan akımında belirgin bir azalma olur. Omurilik yaralanmasından 1–2 saat sonra travmaya bağlı iskemide ilerleme başlar (12, 19).

2.7. Elektrofizyoloji:

SUP (Somatosensoriyal Uyarılmış Potansiyeller): Omurilik yaralanmasının şiddetini göstermede önemli bir teknik haline gelmiştir. SUP omurilik yaralanması sırasında dorsal kolondaki aksonlar üzerindeki stresin izlenmesini mümkün kılmaktadır. Travma sonrası SUP ölçümleri sonuçta meydana gelecek iyileşmeyi tahmin etmede iyi bir yöntemdir (12).

MUP (Motor Uyarılmış Potansiyeller): Piramidal yolların izlenmesini mümkün kıldığı için motor işlevlerin düzelmesini tahmin etmede SUP'e göre daha değerlidir. Ancak Fehlings rubrospinal, vestibulospinal ve retikulospinal traktusların da MUP'e katkıda bulunduğunu bildirmektedir (13).

3. AKUT OMURİLİK YARALANMASININ PATOFİZYOLOJİSİ

Omurilik yaralanmasına fizyolojik cevap Tablo 2'de görüldüğü gibi çok hızlı ve karmaşıktır (20).

Tablo 2: Omurilik yaralanmasına fizyolojik cevap

Olay	Yaralanmadan sonra geçen süre
Kanama	İlk dakikalar
Hızlı nekroz ve apoptozisin ilk piki	İlk saatler
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	6–48 saat
Reaktif mikrogliya formasyonu	2 gün–2 hafta
Reaktif astrosit formasyonu	3 gün–2 hafta
Apoptozisin ikinci piki	7. gün
Kavite ve skar oluşumu	2. hafta

Wallerian dejenerasyon	2. hafta
------------------------	----------

Tablo 3'de omurilik yaralanmasında meydana gelen değişiklikler görülmektedir (20).

Tablo 3: Omurilik yaralanmasında bölgesel fizyolojik değişiklikler

<p>1. Sistemik Etkiler (nörojenik şoka bağlı etkiler)</p> <ul style="list-style-type: none"> -Nabız; önce taşikardi, daha sonra da uzamış bradikardi olur -Kan basıncı; önce hipertansiyon, daha sonra da uzamış hipotansiyon olur -Periferel damarsal direnç azalır -Kardiyak output azalır -Katekolamin düzeyi; önce artar, daha sonra düşer <p>2. Omurilik mikrosirkülasyonunun yerel damarsal hasarı</p> <ul style="list-style-type: none"> -Kapiller ve venüllerin mekanik parçalanması -Kanama; özellikle gri cevherde -Mikrosirkülasyonun kaybı; tromboz ve vazospazm sonucu omurilik kan akımı azalır -Otoregülasyonun kaybı <p>3. Biyokimyasal değişiklikler</p> <ul style="list-style-type: none"> -Eksitotoksisite; özellikle glutamata bağlı -Nörotransmitter birikimi: Noradrenalin, dopamin gibi -Araşidonik asit serbestleşmesi -Serbest radikal üretimi -Eikosanoidlerin üretimi -Lipid peroksidasyonu -Endojen opioidler -Sitokinler <p>4. Elektrolit bozuklukları</p> <ul style="list-style-type: none"> - İntrasellüler Ca^{+} artışı - İntrasellüler Na^{+} artışı - Ekstrasellüler K^{+} artışı <p>5. Ödem</p> <p>6. Enerji metabolizmasının bozulması</p> <p>7. Apoptosis</p>

3.1. Akut omurilik yaralanmasında ikincil yaralanma mekanizmaları

Akut omurilik yaralanmasında rol oynayan birçok fizyopatolojik mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmaların hepsinin altında yatan esas patolojik süreç, bozulmuş omurilik perfüzyonu ve hücresel düzeyde enerji yetersizliğidir (21).

İskemi gri cevherde en şiddetli olup, hem kranilyale hem de kaudale doğru uzanır (21).

Akut omurilik yaralanmasında birincil hasar önlenemez. Ancak birincil hasardan sonra ortaya çıkan ikincil hasarın yan etkilerinden nöronlar korunabilir. Bu nedenle ikincil hasar mekanizmalarının bilinmesi, yeni tedavi yöntemlerine yönelik teorilerin kurulmasını sağlar (22). Akut omurilik yaralanmasında görülen ikincil yaralanma mekanizmaları Tablo 4’de özetlenmiştir (21).

Tablo 4: Omurilik yaralanmasındaki ikincil hasar mekanizmaları

Sistemik etkiler	Bradikardi, hipotansiyon, periferik damarsal direnç ↓, kalp debisi ↓
Yerel damarsal değişiklikler	Kapiller ve venüllerde parçalanma, kapiller dolaşımında ve omurilik kan akımında ↓ (mekanik etki, tromboz, vazospazm), otonöregülasyonda bozulma
Biyokimyasal değişiklikler	Glutamat ↑, noradrenalin ↑, dopamin ↑, araşidonik asit salıverilmesi, serbest radikal oluşumu, eikosanoid oluşumu, lipid peroksidasyonu, endojen opioidler, sitokinler
Elektrolit değişiklikleri	Hücre içi kalsiyum ve Na ⁺ düzeyi ↑, hücre dışı K ⁺ düzeyi ↑
Ödem	Mekanik etki ve/veya iskemiye bağlı hücre içi sodyum ↑
Enerji metabolizması	ATP üretimi ↓

Omurilik yaralanmasında nörojenik şokun nedeni, sempatik tonus azalması, vagusun anormal kardiyak etkisiyle bradikardi gelişmesidir (23). Omurilik yaralanması sonrasında bu sistemik olumsuzluklarının iyi bilinmesi ve tedavisi, omurilikteki mevcut iskeminin daha da derinleşmemesi açısından çok önemlidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. GEREÇLER

Bu çalışmada ağırlıkları 2820–4020 gr (ortalama 3540 g) arasında değişen, erkek cinsten 40 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Deneklere yapılacak işlemler konusunda Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulunun 07.05.2009 / 316 tarih ve sayılı onayı alındı. Çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı, Radyoloji Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi. Deney süresince denekler C.Ü.T.F. Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde tutuldu. Deney süresince serbest beslenme rejimi uygulandı. Tüm denekler için çevre ısısı, ışığı ve nemi aynıydı.

Çalışmaya 40 adet erişkin erkek tavşanla başlandı. Bunlardan 8 tanesi deneylere başlamadan öldü, 32 tanesi çalışmanın 22. gününde patolojik inceleme amacıyla öldürüldü.

2. YÖNTEM

2.1. Deney protokolü

Çalışma kısmi omurilik hasarı oluşturulması amacıyla epidural balon basısı yöntemi kullanılarak, deneklerde görüntüleme (MRG) ve histopatolojik inceleme yapılarak yöntemin etkinliğinin ve kullanılabilirliğinin kanıtlanması için planlandı. Bu amaçla omuriliğe 30 dk, 60 dk, 90 dk süreyle epidural bası yaparak oluşturulan omurilik yaralanmasında basının kaldırılmasından sonra, işlevsel hasarın, yapısal hasarın ve histopatolojik hasarın şiddetinin gösterilmesi ve uygulanan yöntemin etkinliği araştırıldı. Denekler şu şekilde gruplandırıldı:

- I. Grup: Sham grubu (8 adet)
- II. Grup: 30 dk epidural bası uygulanan grup (8 adet)
- III. Grup: 60 dk epidural bası uygulanan grup (8 adet)
- IV. Grup: 60 dk epidural bası uygulanan grup (8 adet)

Gruplara aşağıdaki işlemler yapıldı:

I. Grup: Genel anestezi altında L3 laminektomi yapıp, L1 seviyesinde epidural mesafeye PTCA kateteri yerleştirilip, balon şişirilmeden (bası

uygulanmadan) 5 dk sonra kateter çıkarıldı. Deneklerde motor işlevler 21 gün süreyle, düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine göre her gün belirlendi ve kaydedildi. Mesanenin durumu palpasyonla kontrol edildi. Deneklere cerrahi işlemden sonra 1. ve 21. günlerde MR (T2 A sagittal ve aksiyel görüntüleri) çekilerek omurilik incelendi. Yirmibirinci gün sonunda omurilik örnekleri histopatolojik çalışma için alındı.

II. Grup: Genel anestezi altında L3 laminektomi yapıp, L1 seviyesinde epidural mesafeye PTCA kateteri yerleştirilip, balon basıncı 4 atm olacak şekilde şişirildi ve 30 dakika süreyle bası uygulandı, daha sonra kateter balonu söndürülüp çıkarıldı. Deneklerde motor işlevler 21 gün süreyle, düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine göre her gün belirlendi ve kaydedildi. Mesanenin durumu palpasyonla kontrol edildi. 1. ve 21. günlerde MR (T2 A sagittal ve aksiyel görüntüleri) çekilerek omurilikte oluşan lezyonun boyutu hesaplandı. Yirmibirinci gün sonunda omurilik örnekleri histopatolojik çalışma için alındı.

III. Grup: Genel anestezi altında L3 laminektomi yapıp, L1 seviyesinde epidural mesafeye PTCA kateteri yerleştirilip, balon basıncı 4 atm olacak şekilde şişirildi ve 60 dakika süreyle bası uygulandı, kateter balonu söndürülüp çıkarıldı. Deneklerde motor işlevler 21 gün süreyle, düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine göre her gün belirlendi ve kaydedildi. Mesanenin durumu palpasyonla kontrol edildi. 1. ve 21. günlerde spinal MR (T2 ağırlıklı sagittal ve aksiyel görüntüleri) çekilerek omurilikte oluşan lezyonun boyutu hesaplandı. Yirmibirinci gün sonunda omurilik örnekleri histopatolojik çalışma için alındı.

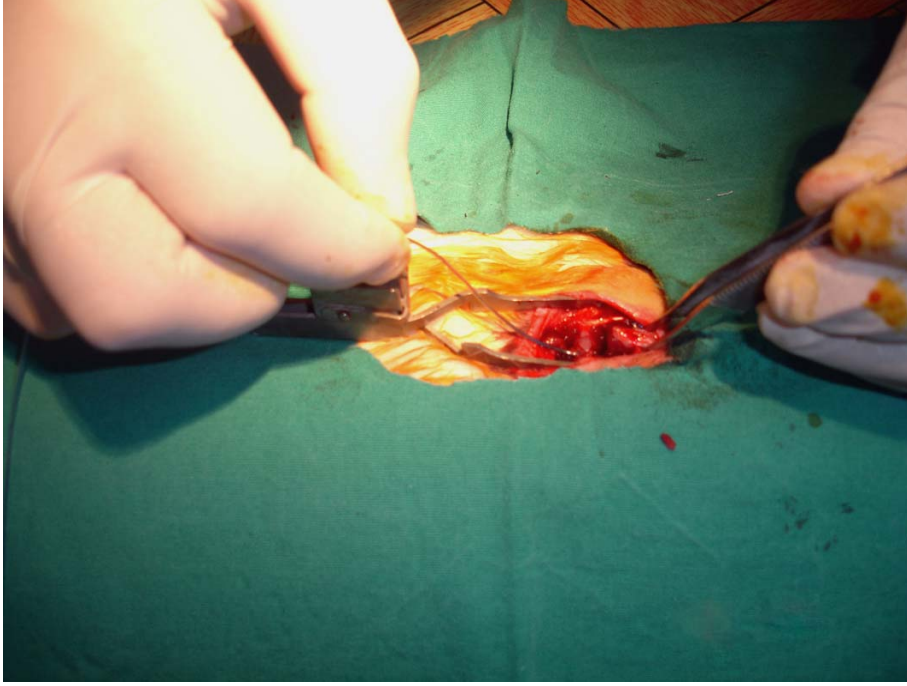
IV. Grup: Genel anestezi altında L3 laminektomi yapıp, L1 seviyesinde epidural mesafeye PTCA kateteri yerleştirilip, balon basıncı 4 atm olacak şekilde şişirildi ve 90 dakika süreyle bası uygulandı, kateter balonu söndürülüp çıkarıldı. Deneklerde motor işlevler 21 gün süreyle, düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine göre her gün belirlendi ve kaydedildi. Mesanenin durumu palpasyonla kontrol edildi. 1. ve 21. günlerde spinal MR (T2 ağırlıklı sagittal ve aksiyel görüntüleri) çekilerek omurilikte oluşan lezyonun boyutu hesaplandı. Yirmibirinci gün sonunda omurilik örnekleri histopatolojik çalışma için alındı.

2.2. Cerrahi işlem

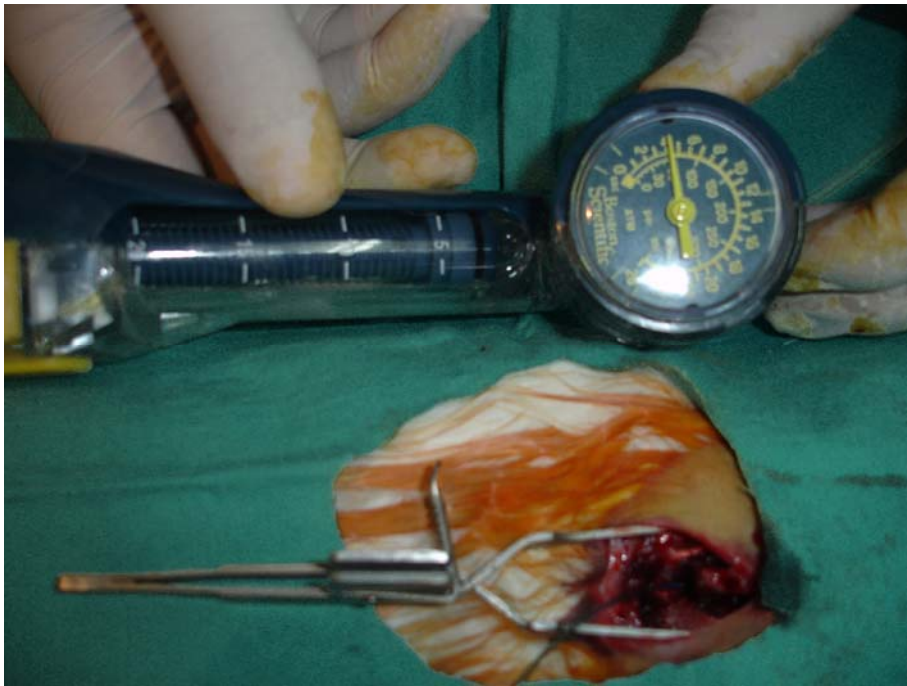
Anestezi: Tüm deneklerde anestezi için 3 mg/kg xylazine hydrochloride (Rompun %2,50 ml, Bayer®) ve 10 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar 50 mg/ml, Eczacıbaşı®) intramusküler yolla uygulandı.

Epidural omurilik basısı oluşturulması: Yüzüstü pozisyonda tavşanların üst ve alt ekstremiteleri ameliyat masasına tespit edildi. Silikon yastıklarla karın ve göğsü desteklendi. Sırt bölgesindeki kıllar tıraş edildi. %10'luk polyvinylpyrrolidone (Poviiodeks 1000 ml, Kimpa ®) ile alan temizliği yapıldı. Steril örtülerle örtüldü. Posterior longitudinal kesiyle cilt ve ciltaltı geçilerek, paravertebral adaleler künt diseksiyonla sıyrıldı. L3 omurgaya ulaşıldı, düz grafi ile seviye tespitini takiben laminektomi yapıldı ve dura görüldü. Epidural aralıktan PTCA kateteri kranial yönde 3 cm ilerletildi ve L1 seviyesinde epidural mesafeye yerleştirildi (Şekil 1). PTCA kateterinin distal ucunda 2,5 mm çapında 10 mm uzunluğunda balon mevcuttu (Ballon Dilatation Catheter-Sprinter RX, Medtronic ®). Kateter ucundaki balon basınç kontrollü inflatör yardımıyla balon çapı 2,43 mm, balon içi basıncı 4 atm değere ulaşacak şekilde şişirildi (Şekil 2). Sırasıyla II. Grupta 30 dk, III. Grupta 60 dk, IV. Grupta 90 dk süreyle bası uygulanarak balon söndürüldü ve kateter çıkarıldı. Kanama kontrolünden sonra yara 3/0 ipek sütür ile anatomik olarak kapatılıp, analjejik ilaç olarak corprofen 4mg/kg (Rimadyl, Pfizer ®) verildi. Enfeksiyon profilaksisi için cerrahi işlemden 30 dakika önce 100 mg/kg seftriakson (Novosef 1 g, Eczacıbaşı ®) IM yapıldı.

Deneklerin bakımı ayrı kafeslerde yapıldı. Mesanede glob oluşumunu önlemek için günde en az bir kez mesane masajı yapılarak deneklerin idrar yapması sağlandı. Başarısız olan deneklerin mesaneleri üzerine sıcak su torbaları konularak idrar yaptırıldı. Mesane masajları ve muayene için kafeslerinden çıkarılan deneklerin pozisyonları değiştirilerek, bası yarası oluşması önlendi.



Şekil 1: PTCA kateteri ucunun epidural aralığa yerleştirilmesi



Şekil 2: PTCA kateterinin basınç kontrollü inflatör ile şişirilmesi.

2.3. Motor işlevlerin değerlendirilmesi

Deneklerin motor işlevleri 21 gün süreyle tavşanlar için düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine (Tablo 5) göre her gün belirlendi ve kaydedildi.

Tablo 5: Düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemi

Puan	Motor işlev
0	Paraplejik
1	Arka ayaklarını oynatabilir
2	Arka ayaklarını güçlü bir şekilde hareket ettirir
3	Arka ayakları ile 1–2 adım atabilir
4	Arka ayaklarıyla düzenli adım atar, kalça fleksiyonu zayıf, dengesiz
5	Dengeli yürür

2.4. Yapısal hasarın MRG ile değerlendirilmesi ve hacimin hesaplanması

Tüm deneklere manyetik rezonans incelemesinden 10 dakika önce intramusküler yolla 10 mg/kg ketamine hydrochloride (Ketalar 50 mg/ml, Eczacıbaşı®) uygulandı.

Tüm deneklerde omurilikte bası sonucu oluşan yapısal hasara bağlı lezyon, cerrahi işlemden sonraki 1. ve 21. günlerde yapılan omurilik manyetik rezonans incelemesi 1,5 Tesla cihaz (Toshiba Exelart, Tokyo, Japonya) ile görüntüledi. MRG incelemede aksiyel ve sagittal T2 ağırlıklı görüntüler fast spin eko ve şu parametreler ile; (TR: 4500, TE: 120, NEX: 2, FA: 90/160, matriks: 160x320, FOV: 23x23cm, Kesit kalınlığı: 2,2mm) alındı (Şekil 3).

Lezyonun aksiyel kesitlerde saptanan en geniş alanı (**a**, mm²) ve sagittal kesitlerde saptanan en uzun kranioyokaudal boyutu (**s**, mm) belirlendi. İki değer çarpımıyla lezyon hacmi (**lh**) elde edildi: **lh** (mm³) = **a** (mm²) x **s** (mm)

Omurilik hacmini (**oh**) belirlemek için **s** (mm) değeri, sağlam omurilik aksiyel kesitlerinde saptanan en geniş alan (**a**¹, mm²) ile çarpıldı: **oh** (mm³) = **a**¹ (mm²) x **s** (mm)

Lezyon hacmi (**lh**), omurilik hacmine (**oh**) bölünerek lezyon oranı (**LO**)

bulundu:

$$LO = lh/oh$$



Şekil 3: MRG’de T2 ağırlıklı sagittal ve aksiyel kesitlerde bası ile oluşturulan lezyon (beyaz oklar) hiperintens olarak görülmekte.

2.5. Histopatolojik hasarın değerlendirilmesi

Tüm deneklerin, cerrahi işlemden 21 gün sonra intravenöz olarak yüksek dozda tiyopental (Pentothal Sodium, Abbott ®) verilerek hayatları sonlandırıldı ve omuriliğin çıkarılması için eski kesi kranial ve kaudale doğru uzatılarak lezyon seviyesinin üst ve alt segmentinde laminektomi yapıldı. Omurilik lezyonunun 1 cm alt ve üstünden kesilerek çıkarıldı ve %10 formaldehit eriyiği içine konuldu. Örnekler, formaldehit ile tespitten sonra takibe alındı. Proksimalden distale doğru 10 eşit parçaya ayrılan örneklerden, rutin doku takibiyle hazırlanmış parafin bloklara 4–5 mikron kalınlığında kesitler yapıldı.

Hazırlanan kesitler öncelikle H-E ile boyandı, ışık mikroskopunda incelendi. Omurilikte oluşan nekroz, kırmızı nöron oluşumu ve miktarı değerlendirildi. H-E ile yapılan boyamada görülen köpüklü histiositler LFM ile yapılan boyamada daha net görüldü, miyelin kaybı görülmedi.

Çalışmada '*iskemik nekrozu*' değerlendirirken; nekroz bulunmayan olgulara '*yok*', x20 büyütmede 1/2 alanda nekroz varsa '*hafif*', x20 büyütmede 1-3 alanda nekroz varsa '*orta*', x20 büyütmede üçten fazla alanda nekroz varsa '*şiddetli*' olarak kabul edildi.

'*köpüklü histiositler*' değerlendirilirken; köpüklü histiosit olmayanlar '*yok*', x20 büyütmede 1-2 köpüklü histiosit varsa '*hafif*', 2-4 köpüklü histiosit varsa '*orta*', 4-6 köpüklü histiosit varsa '*şiddetli*' olarak kabul edildi.

'*Kırmızı nöronlar*' değerlendirilirken; kırmızı nöron olmayanlar '*yok*', x20 büyütmede 1-2 kırmızı nöron varsa '*hafif*', 2-4 kırmızı nöron varsa '*orta*', 4-6 kırmızı nöron varsa '*şiddetli*' olarak kabul edildi.

2.6. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmamızın verileri SPSS (Ver:14) programına yüklenerek değerlendirildi, verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis testi, Friedman testi, Mann-Whitney U testi, Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı; $p < 0.05$ sonucu istatistiksel açıdan önemli kabul edildi.

BULGULAR

1. MOTOR İŞLEVLER

Cerrahi işlemden sonra, tüm deneklerin 21 gün süreyle nörolojik muayeneleri yapılarak, arka ayakların motor işlevleri, düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine göre günlük olarak belirlendi ve kaydedildi. I. Grubun düzenlenmiş Tarlov puanları (DTP) Tablo 6’da, II. Grubun düzenlenmiş Tarlov puanları Tablo 7’de, III. Grubun düzenlenmiş Tarlov puanları Tablo 8’de, IV. Grubun düzenlenmiş Tarlov puanları Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 6: I. Grup düzenlenmiş Tarlov puanları

Denek No	DTP (1. gün)	DTP (3. gün)	DTP (7. gün)	DTP (14. gün)	DTP (21. gün)
1	5	5	5	5	5
2	5	5	5	5	5
3	5	5	5	5	5
4	5	5	5	5	5
5	5	5	5	5	5
6	5	5	5	5	5
7	5	5	5	5	5
8	5	5	5	5	5
Ort±S.sapma	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00	5.00±0.00

Tablo 7: II. Grup düzenlenmiş Tarlov puanları

Denek No	DTP (1. gün)	DTP (3. gün)	DTP (7. gün)	DTP (14. gün)	DTP (21. gün)
1	3	3	3	4	4
2	2	2	3	3	3
3	3	3	3	4	5
4	3	3	4	4	4
5	3	3	3	4	5
6	3	3	4	4	4
7	2	2	3	4	4
8	3	3	4	4	5
Ort±S.sapma	2.75±0.46	2.75±0.46	3.37±0.51	3.87±0.35	4.25±0.70

Tablo 8: III. Grup düzenlenmiş Tarlov puanları

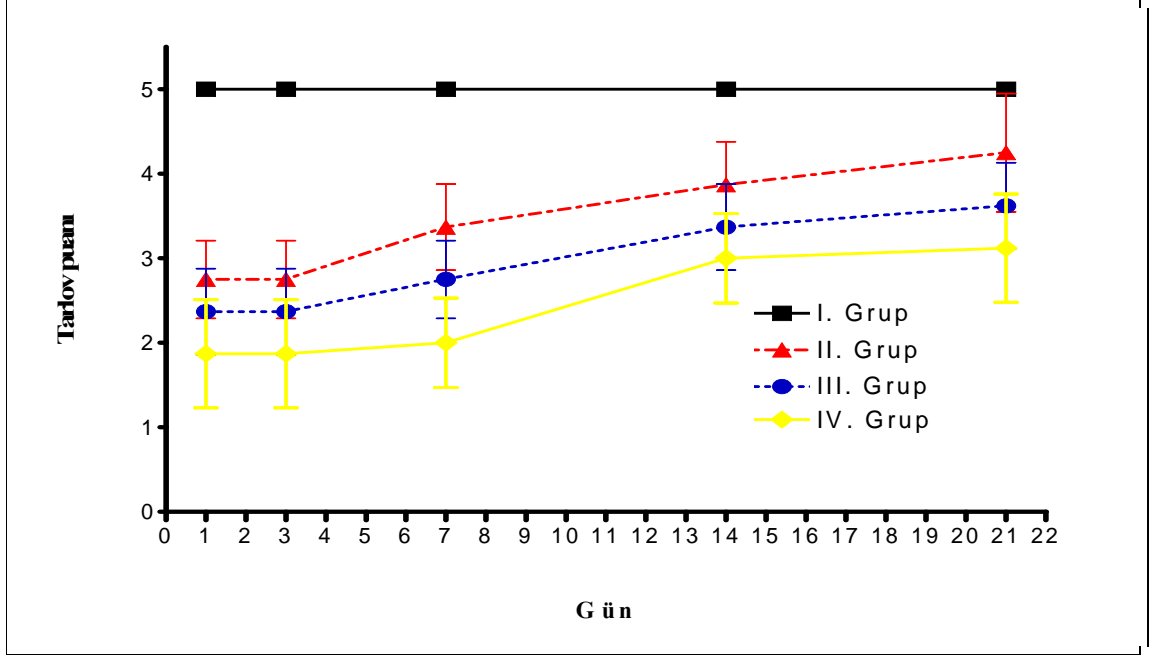
Denek No	DTP (1. gün)	DTP (3. gün)	DTP (7. gün)	DTP (14. gün)	DTP (21. gün)
1	2	2	3	3	3
2	2	2	3	4	4
3	3	3	3	4	4
4	3	3	3	4	4
5	2	2	3	3	4
6	3	3	3	3	4
7	2	2	2	3	3
8	2	2	2	3	3
Ort±S.sapma	2.37±0.51	2.37±0.51	2.75±0.46	3.37±0.51	3.62±0.51

Tablo 9: IX. Grup düzenlenmiş Tarlov puanları

Denek No	DTP (1. gün)	DTP (3. gün)	DTP (7. gün)	DTP (14. gün)	DTP (21. gün)
1	2	2	2	3	3
2	1	1	1	2	2
3	2	2	2	3	3
4	2	2	2	3	3
5	3	3	3	4	4
6	1	1	2	3	3
7	2	2	2	3	4
8	2	2	2	3	3
Ort±S.sapma	1,87±0,64	1,87±0,64	2,00±0,53	3,00±0,53	3,12±0,64

Sham Grubu dışındaki tüm deneklerde cerrahi işlemden sonraki birinci gün ciddi işlevsel bozukluk görüldü (II. Grup ortalama Tarlov puanı 2.75 ± 0.46 , III. Grup ortalama Tarlov puanı 2.37 ± 0.51 , IV. Grup ortalama Tarlov puanı $1,87 \pm 0,64$).

Her üç grupta 7. günden sonra motor işlevlerde ilerleyici ve anlamlı düzelme görüldü. Her üç grupta Tarlov puanlamaları 3.-14. günler arasında ve 3.-21. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteriyordu ($p < 0.05$). II, III ve IV. Grupların 1., 3., 7., 14. ve 21. günlerdeki ortalama DTP'leri karşılaştırıldı. Motor işlevlerin düzelmesinde gruplar arası görülen fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulundu (Şekil 4).



Şekil 4: I, II, III ve IV. Grupların motor işlevlerini gösteren düzenlenmiş Tarlov puanları ortalama ± standart sapma eğrileri

2. YAPISAL HASAR

Tüm deneklerde basıdan sonra 1. ve 21. günlerde oluşan lezyonların normal omurilik dokusuna oranı bölüm 2.4'te belirtildiği şekilde hesaplanarak lezyon oranları (LO) bulundu.

I. Grupta çekilen MRG'lerde lezyon tespit edilmedi. II. Gruptaki deneklerin lezyon oranları Tablo 10'da, III. Gruptaki deneklerin lezyon oranları Tablo 11'de, IV. Gruptaki deneklerin lezyon oranları Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 10: II. Grup lezyon oranı değerleri (LO) %

Denek No	1. gün lezyon oranı değerleri (LO) %	21. gün lezyon oranı değerleri (LO) %
1	16.66	19.63
2	18.42	11.28
3	15.38	8.18
4	17.64	8.37
5	19.42	11.06
6	15.38	10.09
7	13.33	9.02
8	15.78	8.83
Ort±S.sapma	16.50±1.95	9.55±1.17

Tablo 11: III. Grup lezyon oranı değerleri (LO) %

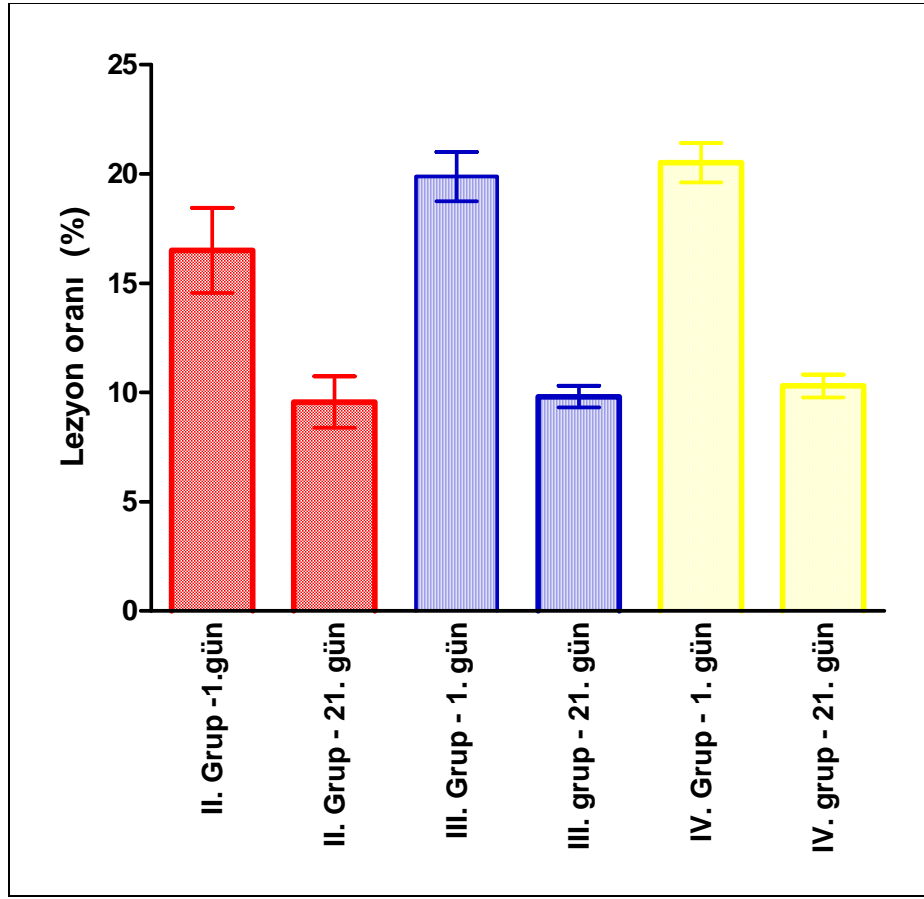
Denek No	1. gün lezyon oranı değerleri (LO) %	21. gün lezyon oranı değerleri (LO) %
1	18.75	10.35
2	19.04	10.08
3	20.05	10.18
4	19.05	8.73
5	20.07	9.82
6	21.22	9.76
7	21.80	10.02
8	19.05	9.56
Ort±S.sapma	19.88±1.13	9.81±0.50

Tablo 12: IV. Grup lezyon oranı değerleri (LO) %

Denek No	1. gün lezyon oranı değerleri (LO) %	21. gün lezyon oranı değerleri (LO) %
1	21.52	11.08
2	20.80	10.55
3	20.15	10.02
4	21.12	11.05
5	19.80	9.82
6	18.76	9.73
7	20.83	10.06
8	21.15	10.11
Ort±S.sapma	20.52±0.90	10.30±0.53

Her üç grupta basıdan sonra 1. günde oluşan lezyonların oranları (LO) karşılaştırıldığında II. Grup ile III. ve IV. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulundu. III. Grup ile IV. Grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) bulundu. Her üç grupta da basıdan sonra 1. ve 21. günlerde oluşan lezyonların oranları (LO) karşılaştırıldığında lezyon hacimlerindeki azalma istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulundu.

Her üç grupta da basıdan sonra 21. gün lezyon oranları gruplar arasında karşılaştırıldığında ise aradaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) bulundu (Şekil 6).

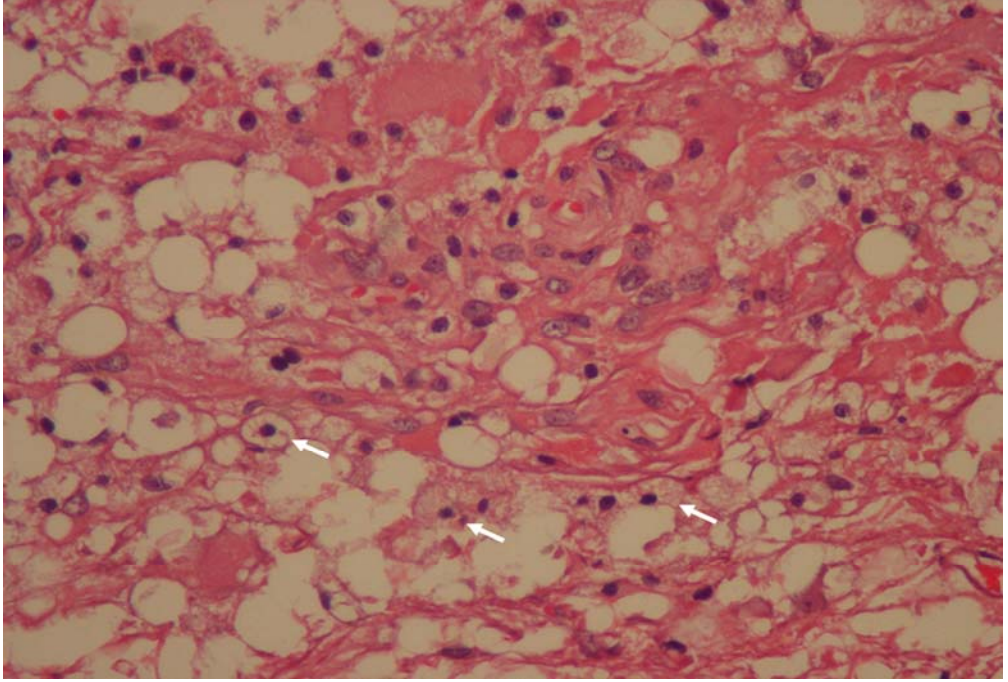


Şekil 5: MRG' de lezyon oranlarının ortalama \pm standart sapma grafiği

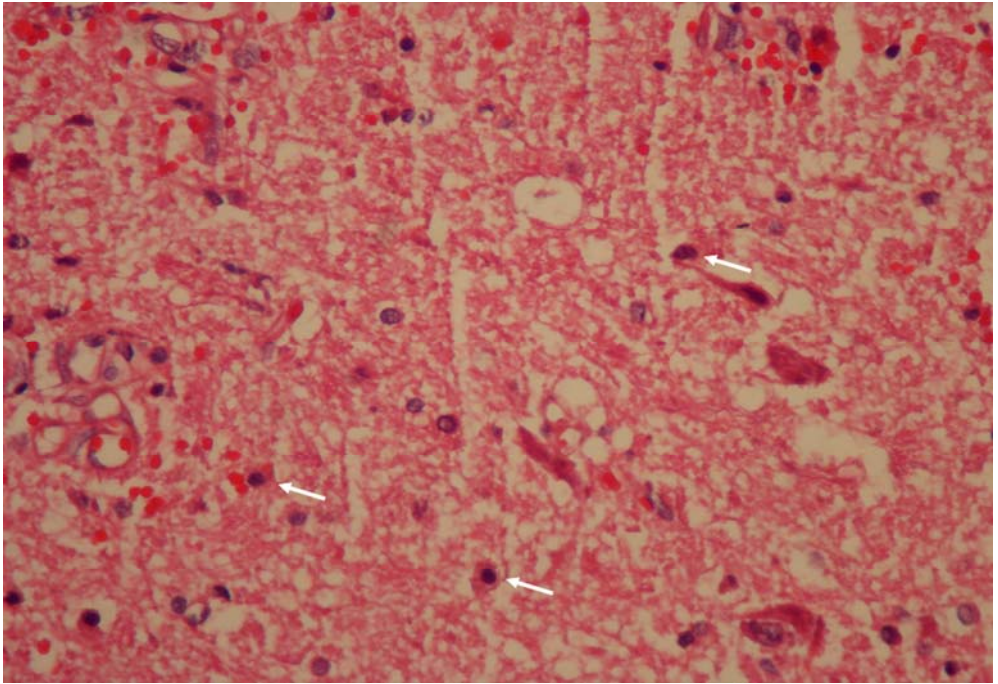
3. HİSTOPATOLOJİK HASAR

H-E ile boyanan kesitlerde beyaz cevher alanında, iskemik nekroz, kapiller proliferasyon, gliosis ve köpüklü histiyosit infiltrasyonu vardı (Şekil 6). Gri cevher alanında interstisiyel ödem, nöronlarda hidropik değişiklikler, sitoplazmada yuvarlaklaşmalar ve kırmızı nöronlar görüldü (Şekil 7). Ayrıca 17 olguda gri cevherde hiperemi alanları görüldü.

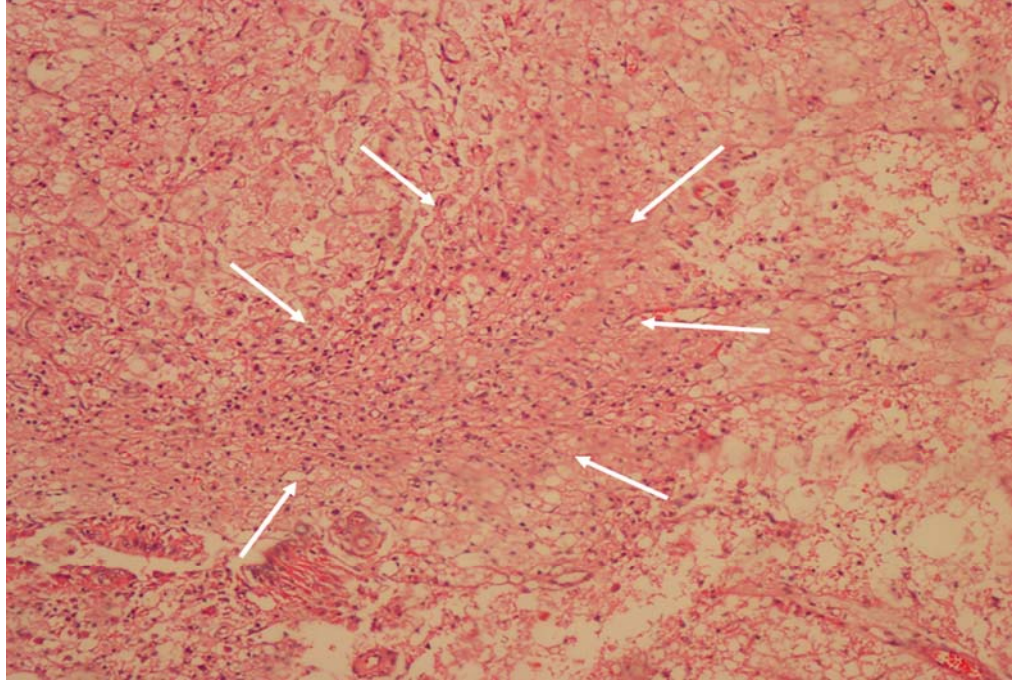
İskemik nekroz bulunan olgularda nekrozun sınırları LFM ile H-E boyamasına göre daha net belirlendi. Bir olguda nekroz miktarı H-E boyamada hafif derece olarak değerlendirilirken LFM ile orta derecede olarak değerlendirildi (Şekil 8).



Şekil 6: Beyaz maddede iskemik nekroz, köpüklü histiyositler (H-E, x40)



Şekil 7: Gri maddede kırmızı nöronlar (H-E, x40)



Şekil 8: Ortada büyük alanda iskemik nekroz (H-E, x10).

I. Gruptaki deneklerin H-E ve LFM ile boyama sonuçlarında patolojik bir değişiklik saptanmadı. II. Gruptaki deneklerin H-E ve LFM ile boyama sonuçları Tablo 13’de, III.. Gruptaki deneklerin H-E ve LFM ile boyama sonuçları Tablo 14’de, IV. Gruptaki deneklerin H-E ve LFM ile boyama sonuçları Tablo 15’ de gösterilmiştir.

Tablo 13: II. Grup H-E ve LFM boyama sonuçları

DENEK	HİPEREMİ	KIRMIZI NÖRON	NEKROZ	HİSTİYOSİT
1	Hafif	Yok	Hafif	Hafif
2	Şiddetli	Yok	Yok	Hafif
3	Orta	Orta	Yok	Yok
4	Şiddetli	Orta	Yok	Yok
5	Hafif	Orta	Hafif	Hafif
6	Hafif	Yok	Hafif	Hafif
7	Yok	Yok	Hafif	Hafif
8	Yok	Yok	Yok	Yok

Tablo 14: III. Grup H-E ve LFM boyama sonuçları

DENEK	HİPEREMİ	KIRMIZI NÖRON	NEKROZ	HİSTİYOSİT
1	Hafif	Yok	Hafif	Yok
2	Hafif	Yok	Orta	Yok
3	Hafif	Şiddetli	Orta	Yok
4	Orta	Orta	Hafif	Orta
5	Yok	Hafif	Yok	Hafif
6	Yok	Yok	Orta	Orta
7	Hafif	Orta	Yok	Yok
8	Hafif	Yok	Şiddetli	Orta

Tablo 15: IV. Grup H-E ve LFM boyama sonuçları

DENEK	HİPEREMİ	KIRMIZI NÖRON	NEKROZ	HİSTİYOSİT
1	Hafif	Yok	Yok	Hafif
2	Orta	Hafif	Orta	Hafif
3	Hafif	Orta	Yok	Yok
4	Şiddetli	Şiddetli	Şiddetli	Orta
5	Orta	Orta	Hafif	Hafif
6	Şiddetli	Şiddetli	Orta	Şiddetli
7	Hafif	Orta	Orta	Yok
8	Yok	Yok	Şiddetli	Şiddetli

TARTIŞMA

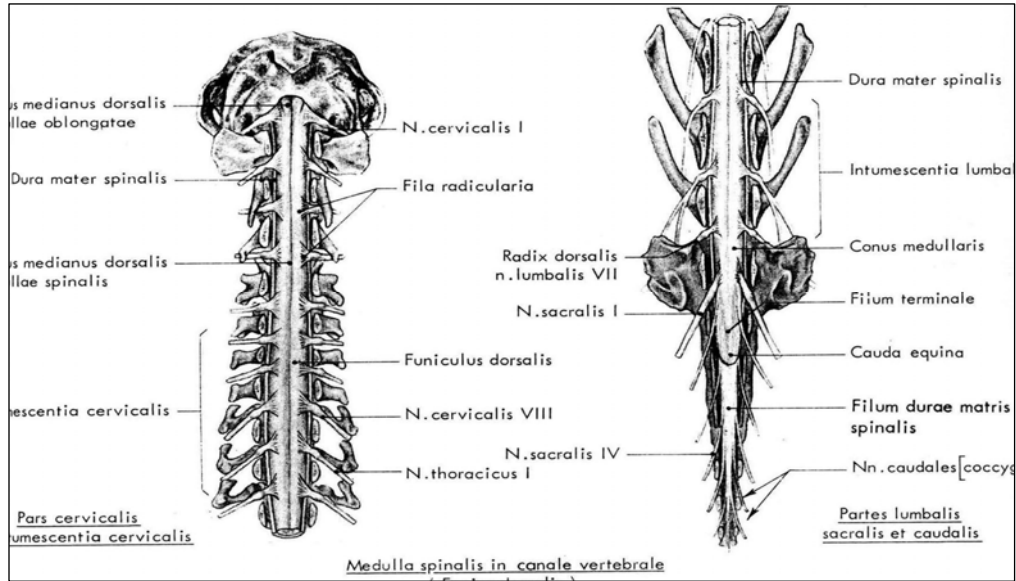
Omurilik yaralanmaları bilim ve teknolojiye gelişmelere rağmen tedavisi zor hastalıklardan biridir. İnsan omurilik yaralanmalarının fizyopatolojisi oldukça karmaşık olup benzeri bir hayvan modeli oluşturmak oldukça zordur (24).

Yayımlarda omurilik yaralanması için oluşturulmuş birçok kinetik bası modeli vardır. Bunların çoğu insanda travmatik omurilik yaralanmalarını taklit eder. Bası süresi ile işlevlerin geri dönüşünün karşılaştırıldığı çalışmalar çeşitli türlerde ekstradural balon basısı, klip ile sıkıştırma, bilgisayar destekli pistonla sıkıştırma gibi tekniklerle yapılmıştır (25 – 29). Cerrahi ağırlık düşürme modelleri literatürde bolca yer alırken balon kullanılan modellere nispeten daha az rastlanmaktadır (30, 31). Kuchner ve ark. köpeklerde T13 seviyesinde orta hatta küçük bir delik açmışlar ve epidural bir balon yerleştirerek bası yapmışlardır. Bu model bizimkine çok benzemekle birlikte, bu çalışmada görüntüleme yapılmamıştır (32). Tarlov ve Klingler köpeklerde omurilik ve kauda ekuina yaralanması için ekstradural balon basısı tekniğini kullanmışlardır (8, 14). Bu çalışmaların eksikliği bası kuvvetinin ya da balon basıncı miktarının tam olarak bildirilmemiş olmasıdır. Kobrine ve ark. maymunlarda T6 seviyesinde ekstradural balon ile bası yapmışlardır. Balonun şişirilme hızına bağlı olarak işlevlerin düzelmesini araştırmışlardır. Bir dakika bası uygulanan hayvanlarda işlevler 1 saatte geriye dönmüştür (6, 30).

Çalışmamızda, klinik durumların çoğunda görüldüğü gibi, dinamik olaydan sonra omuriliğin sürekli basısı ile geçici basının ilişkisini model alan epidural balon basısı yöntemini kullandık. Epidural balon ile sırasıyla 30, 60, 90 dk süresince uygulanan omurilik basısıyla oluşan histolojik hasarın, omurilikte bası sonucu meydana gelen viskoelastik gevşeme ve kontüzyon dışında, bölgesel kan akımının azalmasına bağlı oluşan iskemi ve hipoksinin, ikincil yaralanmaya neden olduğunu öne sürdük. Bu hipotezi irdelemek için 21 gün boyunca günlük işlevsel değerlendirmeler, 1. ve 21. günlerde MRG ve son olarak histopatolojik inceleme yaptık.

Epidural bası için tavşan anatomisini incelediğimizde konus medüllerinin sakral seviyede olduğunu, lomber seviyelerde ise omurga kanalının nispeten daha geniş ve laminektomi için daha elverişli olduğunu tespit ettik (Şekil 9) ve L3

seviyesinde mikrolaminektomi yaparak kateteri L1 seviyesine kadar ilerletip balonu bu seviyede şişirdik.



Şekil 9: Tavşanlarda omurilik ve omurga kanalı anatomisi (33)

Kullandığımız modelin diğer cerrahi (ağırlık düşürme ya da kliple sıkıştırma gibi) yöntemlere göre bazı üstünlükleri olduğunu düşünüyoruz. Bu yöntemle omurilik hasarının kontrolü mümkündür, balonlar çok değişik çap ve uzunlukta seçilebilir, şişirme basıncı ve süresi kolayca ayarlanabilir. Bu basit bir epidural omurilik basısı olsa da, bu tekniği geleneksel klinik araçları kullanarak uygulamak mümkündür.

Carlson ve ark. köpeklerde piston kullanarak yaptıkları epidural basının şiddetine göre omuriliğe uygulanan basıncın belli bir sınırdan sonra bölgesel omurilik kan akımının tam olarak kaybolmasına neden olduğunu, basının kaldırılmasından sonra ise omurilik kan akımının hızla geri döndüğünü ve hiperemiye neden olduğunu göstermişlerdir (34).

Çalışmamızda yaralanmanın belgelenmesi açısından MRG ile elde edilen görüntülerin yanı sıra omurilik lezyonunun histopatolojik olarak gösterilmesi oldukça önemliydi. Omurilikte oluşan lezyonlardan hazırlanan kesitlerde ışık mikroskopuyla yapılan incelemelerde lezyon alanında nekroz, kırmızı nöron oluşumu ve nöronlarda iskemik değişiklikler izlendi (Şekil 5, 6, 7). Omurilik basısından üç hafta sonra bu bulguların izlenmesi iskemiye bağlı nöronal hasarı göstermektedir.

Yaralanmanın omurilikte meydana getirdiği ilk hasarın büyüklüğü; yaralanmanın mekanizması, etki gücü, omuriliğin yer değiştirme miktarı ve basının kinetik enerjisi gibi faktörlere bağlıdır. Birincil yaralanmayı hasarlı omuriliğin fizyolojik, biyokimyasal, immünolojik ve hücrel değişiklikleriyle ilişkili ikincil yaralanma mekanizmaları izler. Travma sonrası ortaya çıkan omurilik basısı ve kemik kırıklarının yer değiştirmesi, ligamanlar ya da omurilik içindeki hematoma ikincil yaralanma zincirini tetikleyerek birincil yaralanmaya katkıda bulunabilir (35). Hipoksi veya iskemiye bağlı ikincil yaralanmanın patofizyolojik mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Fakat yeni çalışmalar eksitator aminoasitlerin hücreler arası aralığa salınmasının omuriliğin ikincil yaralanmasında nöron ölümünde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (36 - 44).

Travmatik omurilik yaralanmasının ikincil etkilerini azaltmak amacıyla kliniklerde yaygın olarak kullanılan tek nöron koruyucu ilaç metilprednizolon'dur (45). Nöron koruyucu etkileri bilinen, farmakolojik ajanların omurilik yaralanmalarında kullanımı üzerine çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır (37, 38, 46 - 51).

Bu çalışmadaki amacımız; tavşan modelinde epidural balon basısı yaparak oluşturulan omurilik lezyonunu ve basının kaldırılmasından sonra işlevsel, patolojik, radyolojik olarak lezyonu ve çevresindeki sağlam kalabilmiş nöral dokuları ortaya koyarak deneysel modelin uygulanabilirliğini kanıtlamaktır.

I. Grup ile II., III. ve IV. Grupların 21. günde MRG ile elde edilen lezyon oranları karşılaştırıldığında I. Grupta (Sham) lezyon saptanmadı. Diğer üç grupta basıdan sonra 1. günde oluşan lezyonların oranları (LO) karşılaştırıldığında II. Grup ile III. ve IV. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulundu. III. Grup ile IV. Grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) bulundu. Bu sonuç epidural basının 30 dk.'dan daha uzun süre uygulandığında omurilikteki lezyon boyutunun arttığını göstermektedir.

Her üç gruptaki histopatolojik bulgular incelendiğinde bası süresi ile doğru orantılı olarak bölgesel iskemiye gösteren bulgular (kırmızı nöron, nekroz, köpüklü histiyositler) daha belirgin olarak saptandı. Bölgesel iskemiye bağlı olarak akut dönemde kırmızı nöronlar ortaya çıkar, subakut süreçte köpüklü histiyosit

toplulukları ortaya çıkmaktadır, kronik dönemde ise nekroz, gliozis ve kapiller proliferasyon saptanır. Bunlar kronik süreçte iskemiye bağlı doku zedelenmesinin gerçekleştiğini gösteren en önemli bulgulardır (17).

Çalışmamızda amaçladığımız kısmi omurilik hasarının gerçekleştiğini gösteren bir diğer kanıt ise deneklerin hiçbirinde parapleji olmamasıdır. Cerrahi işlemden sonra, tüm deneklerin 21 gün süreyle nörolojik muayeneleri yapılarak, arka ayakların motor işlevleri, düzenlenmiş Tarlov puanlama sistemine göre günlük olarak belirlendi ve kaydedildi. I. Grup (Sham) dışındaki tüm deneklerde cerrahi işlemden sonraki birinci gün ciddi işlevsel bozukluk görüldü, bu durum her üç grupta da 7. günden sonra motor işlevlerde ilerleyici ve anlamlı düzelme ile kendini gösterdi. II, III ve IV. Grupların 1., 3., 7., 14. ve 21. günlerdeki ortalama DTP'leri karşılaştırıldı. Motor işlevlerin düzelmesinde gruplar arası görülen fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulundu (Şekil 4).

Bu sonuçlar bası süresiyle doğru orantılı olarak omurilik hasarının arttığını, işlevsel iyileşmenin azaldığını göstermektedir. Bu da kısmi omurilik hasarında erken cerrahi tedavi ile basının kaldırılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Faden, omurilik yaralanmasında hayvan modellerindeki farklılığın en aza indirgenmesi gerektiğini vurgulamaktadır (52). Omurilik yaralanması modelinde travma düzeyi, mekanik faktörler, tür ve cinsiyet farklılıkları önemli parametrelerdir. Travmanın şiddeti, ilaç etkisini değerlendirme çalışmalarında en önemli parametredir.

İdeal hayvan modelleri için şu ölçütler önerilmiştir (52):

- 1- Travmada, doku hasarı ya da nöronal işlev bozukluğu, hayvandan hayvana değişmez şekilde oluşturulabilmeli, travma sonrası değerlendirilecek parametrelerdeki değişkenlikler kabul edilebilir sınırlarda olmalı, klinik çalışma başlamadan önce bu sınırlar belirlenmelidir.
- 2- Hayvan modelindeki kaçınılmaz yan etkiler (cerrahi yaralanma, anestezi ajanlarının etkisi, metabolik ve hemodinamik değişiklikler) en aza indirilmeli, çalışma başlamadan olası etkiler tanımlanmalıdır.
- 3- Çalışmanın sonuçları tekrarlanabilir ve sayısal hale getirilebilir olmalıdır.

Bu çalışmada; tavşanlarda epidural bası ile oluşturulan kısmi omurilik hasarı modelinde ikincil hasara bağlı nöral doku kaybının sonuçlarını Manyetik Rezonans

Görüntüleme (MRG), işlevsel kayıp ve histopatolojik olarak saptayarak yukarıda özetlenen ideal hayvan modelleri için ölçütlere uygun olduğunu düşündüğümüz modeli tanımladık.

SONUÇ

Dinamik omurilik basısıyla oluşturulan kısmi omurilik hasarında bası süresi ile nörolojik kayıpların arttığını, basının erken kaldırılmasının nörolojik kayıpların düzelmesinde kısmen yararlı olduğunu söyleyebiliriz.

Bu deneysel model, omurilik yaralanmalarının fizyopatolojisi ve tedavisi konusunda yapılacak çalışmalarda yararlı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Torun F, Atar A. Omurilik yaralanması ve değerlendirilmesi. Aksoy K (ed), Temel Nöroşirürji, TND Yayınları, Ankara 1156 s., 2005.
2. Fehlings MG, Tator CH. An evidence-based review of decompressive surgery in acute spinal cord injury; rationale, indications, and timing based on experimental and clinical studies. *J Neurosurg (Spine I)*, 91: 1-11, 1999.
3. Tator CH, Fehlings MG. Review of secondary injury theory of acute spinal cord trauma with special emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg*, 75: 15-26, 1991.
4. Karamemetoğlu Ş.S, Nas K, Karacan İ, Saraç A.J, Koyuncu H, Ataoğlu S, Erdoğan F. Traumatic spinal cord injuries (SCI) in southeast of Turkey: An epidemiological study. *Spinal Cord*, 35: 531–533, 1997.
5. İplikcioğlu C. Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi. Zileli M. Özer F (eds), omurilik ve omurga cerrahisi, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 459 s., 1997.
6. Kobrine AI, Evans DE, Rizzoli HV: Correlation of spinal cord blood flow and function in experimental compression. *Surg Neurol* 10: 54-59, 1978.
7. Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report. *JAMA*, 57: 877–880, 1914.
8. Tarlov IM, Klinger H. Spinal cord compression studies. II. Time limits for recovery after acute compression in dogs. *Arch Neurol Psychiatry*, 71: 271-290, 1954.
9. Rivlin AS, Tator CH. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol*, 10: 39-43, 1978.
10. Watson BD, Prado R, Dietrich WD. Photochemically induced spinal cord injury in the rat. *Brain Res*, 367: 296–300, 1986
11. Stokes BT. An electromechanical spinal injury technique with dynamic sensitivity. *J Neurotrauma*, 9: 187–195, 1992.

12. Zileli M, Gülmen V: Deneysel omurilik yaralanması. Zileli M, Özer AF. (eds), Omurilik ve Omurga Cerrahisi, Meta Yayıncılık, İzmir, 951 s., 2002.
13. Tator CH. Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurosurgery*, 37: 291–302, 1991.
14. Tarlov IM. Spinal cord compression studies: III. Time limits for recovery after gradual compression in dogs. *Arch Neurol Psychiatry*, 71: 588–597, 1954.
15. Stokes BT, Reier PJ. Fetal grafts alter chronic behavioral outcome after contusion damager to the adult rat spinalcord. *Soc Neurosci Abstr* 16: 37, 1990.
16. Rivlin AS, Tator CH. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat. *J Neurosurg*, 47: 577-581, 1977.
17. Sav A. Serebrovasküler hastalıkların patolojisi. Kuzey GM (ed), *Temel Patoloji*, Güneş Kitapevi, Ankara, 915 s., 2007.
18. Yünter N, Üstün EE. Omurga ve omuriliğin radyolojisi. Zileli M, Özer AF (ed), *Omurilik ve Omurga Cerrahisi*, cilt 1, ikinci baskı, Meta matbaacılık, İzmir. 299 s., 2002.
19. Cheng H, Cao Y, Olsan L. Spinal cord repair in adult paraplegics rats: partial restoration of hind limb fuction. *Science*, 273: 510-513, 1996.
20. Tator CH. Spine-spinal cord relationship in spinal cord trauma. *Clin Neurosurg*, 491: 479–494, 1991.
21. Tator CH. Pathophysiology and pathology of spinal cord injury. *Neurosurgery*, Wilkins R, Rengachary SS (eds), The McGraw-Hill, New York, 2847p., 1996.
22. Gülmen V, Zileli M. Omurilik yaralanmasında farmakolojik tedavi. Zileli M. Özer F (eds), *omurilik ve omurga cerrahisi*, Meta Yayıncılık, İzmir, 833 s., 2002.
23. Guha A, Tator CH. Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. *J Trauma*, 28: 481–490, 1988.
24. Benzel EC. A new spinal cord injury model: A ventral compression technique. *J Spinal Disorders*, 4: 334–338, 1990.

25. Dohrmann GJ. Experimental spinal cord injury. *Arch Neurol*, 27: 468–473, 1973.
26. Ford RW. Reproducible spinal cord injury model in the cat. *J Neurosurg*, 59: 268–275, 1983.
27. Khan T, Havey RM, Sayers ST, Patwardhan A, King WW. Animal models of spinal cord contusion injuries. *Lab Animal Sci*, 49: 161-172, 1999.
28. Anderson TE. A controlled pneumatic technique for experimental spinal cord contusion. *J Neurosci Meth*, 6: 327–333, 1982Matsushita A. Spinal cord functions in postischemic rigidity in the rat. *Brain Res*, 19: 395–410, 1970.
29. Hung TK, Chang GL, Chang JL, Albin MS. Stress-strain relationship and neurological sequelae of uniaxial elongation of the spinal cord of cats. *Surg Neurol*, 15: 471-476, 1981.
30. Kobrine AI, Evans DE, Rizzoli HV. Experimental acute balloon compression of the spinal cord. Factors affecting disappearance and return of the spinal evoked response. *J Neurosurg*, 51: 841-845, 1979.
31. Purdy PD, Duong RT, White CL, Baer DL, Reichard RR, Pride GL Jr, Adams C, Miller S, Hladik CL, Yetkin Z. Percutaneous translumbar spinal cord compression injury in a dog model that uses angioplasty balloons: MR imaging and histopathologic findings. *AJNR*, 24: 177-184, 2003.
32. Martinez A, Gren BA, Bunge RP: Experimental spinal cord injury. Rothman RH, Simeone FA (eds), *Spine*, WB Saunders Company, Philadelphia, 1247p., 1992.
33. Barone R, PavauxC, Blin PC, Cuq P. Atlas of Rabbit Anatomy. Imprime en France, Paris. 140p., 1973.
34. Carlson GD, Gorden CD, Oliff HS, LaManna JC, Pillai JJ. Sustained spinal cord compression. Part I: Time-dependent effect on long-term pathophysiology. *J Bone Joint Surg*, 85: 86-94, 2003.
35. Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery*, 44: 1027–1039, 1999.

36. Agrawal SK, Fehlings MG. Role of NMDA and non NMDA ionotropic glutamate receptors in traumatic spinal cord axonal injury. *J Neurosci*, 17: 1055–1063, 1997.
37. Ateş Ö, Caylı RS, Gurses I, Turkoz Y, Tarim Ö, Cakır CO, Kocak A. Comparative neuroprotective effect of sodium channel blockers after experimental spinal cord injury. *J Clin Neurosci*, 14: 658–665, 2007.
38. Brillantes AB, Ondrias K, Scott A ve ark. Stabilization of calcium release channel function by FK506 binding protein. *Cell*, 77: 513–523, 1994.
39. Braugher JM, Duncan LA, Goodman T. Calcium enhance in vitro free radical-induced damage to brain synaptosome, mitochondria and cultured spinal cord neurons. *J Neurochem*, 45: 1288–1293, 1985.
40. Brinley FJJ, Tiffert T, Scarpa A. Mitochondria and other calcium buffer of squid axon studied in situ. *J Gen Physiol*, 72: 101–127, 1978.
41. Demediuk P, Saunder RD, Clendenon NR, Means ED, Anderson DK, Horrocks LA. Changes in lipid metabolism in traumatized spinal cord. *Prog Brain Res*, 63: 211–226, 1985.
42. Ditor DS, John SM, Roy J, Marx JC, Kittmer C, Weaver LC. Effects of polyethylene glycol and magnesium sulfate administration on clinically relevant neurological outcomes after spinal cord injury in rat. *J Neurosci Res*, 85: 1458–1467, 2007.
43. Faden AI, Chan PH, Longar S. Alterations in lipid metabolism, Na^+ - K^+ ATPase activity, and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J Neurochem*, 48: 1809–1816, 1987.
44. Klusman I, Schwab ME: Effects of inflammatory cytokines in experimental spinal cord injury. *Brain Res* 762: 173–184. 1997.
45. Chen A, Xu XM, Kleitman N, Bunge MB. Methylprednisolone administration improves axonal regeneration into Schwann cell grafts in transected adult rat thoracic spinal cord. *Exp Neurol*, 138: 261-276, 1996.
46. Faden AI, Lemke M, Simon RP, Noble LJ, N-methyl-D-aspartate antagonist MK801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: Behavioral, anatomic and neurochemical studies: *J Neurotrauma*, 5:33-45, 1988.

47. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The effect of nimodipine and dextran on axonal function and blood flow following experimental spinal cord injury. *J Neurosurg*, 71: 403–416, 1989.
48. Grene K. Pharmacological management of spinal cord injury: Current status of drugs designed to augment functional recovery of the injured human spinal cord. *J Spinal Dis*, 9: 355–366, 1995.
49. Guha A, Tator CH: Acute cardiovascular effects of experimental spinal cord injury. *J Trauma* 28: 481–490, 1988.
50. Lazdunski LL, Heurteaux C, Dupont H, Widman C, Lazdunski M. Prevention of ischemic spinal cord injury: Comparative effects of magnesium sulfate and riluzole. *J Vasc Surg*, 32: 179-189, 2000.
51. Paloğlu S, Akbay A, Bozkurt G. Akut omurilik yaralanmasının tedavisinde iyileşmeyi hızlandıran farmakolojik girişimler: *Turk J Phys Med Rehab*, 48: 1–9, 2002.
52. Faden AI. Need for standardization of animal models of spinal cord injury. *Neurotrauma*, 9: 2,169-172, 1992.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Kars ili Akyaka ilçesinde dünyaya geldi. 1980–1990 yılları arasında ilk ve orta eğitimini Kocaeli ilinde tamamladı. 1996 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldu. Bitlis ve Kocaeli illerinde 1997–2003 yılları arasında pratisyen hekim olarak çalıştı. 2003 yılında yapılan TUS sınavında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi AD' a araştırma görevlisi olarak girdi. Evli ve iki çocuk babasıdır.