TÜRKİYE CUMHURİYETİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN SPİNAL KORD YARALANMASINDA TROMBOSİTDEN ZENGİN PLAZMANIN ETKİSİNİN İNCELENMESİ

HİLAL YAPICI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AYŞEN YARAT

2017 – İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın Seviyesi : Yüksek Lisans

Anabilim Dalı : Biyokimya (Ecz)

Tez Sahibi : Hilal Yapıcı

Tez Başlığı : Deneysel Olarak Oluşturulan Spinal Kord Yaralanmasında Trombositden Zengin Plazmanın Etkisinin İncelenmesi

Sınav Yeri : MÜ.Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri,Biyokimya

Sınav Tarhi : 29 Kasım 2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan,Adı,Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Prof.Dr.Ayşen Yarat	Marmara Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Ünvan,Adı,Soyadı)		
Prof.Dr.Refiye Yanardağ	İstanbul Üniversitesi	
Prof.Dr.Fikriye Uras	Marmara Üniversitesi	

Yukarıdaki Jüri Kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 07 / 12 / 2017 tarih ve 19 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr.Göksel ŞENER

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içerisinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

HİLAL YAPICI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde ve tezimin her aşamasında her türlü destek, teşvik ve yardımı benden esirgemeyip, çokça sabır ve emek gösteren değerli hocam ve tez danışmanım sayın **Prof. Dr. Ayşen YARAT'a,**

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi, ilgi ve desteğini esirgemeyen M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden değerli hocalarım sayın **Prof. Dr. Tuğba TUNALI AKBAY**, **Prof. Dr. Ebru Işık ALTURFAN** ve **Yrd. Doç. Dr. Nihal Şehkar OKTAY**'a,

Yüksek lisans eğitimime bilimsel katkılarından dolayı M.Ü. Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı sayın **Prof.Dr.Fikriye URAS'**a ve diğer hocalarıma,

Deneysel modelin oluşturulmasında yardımları ile araştırmama katkılarından dolayı M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın **Prof. Dr. Göksel ŞENER**'e,

Yüksek lisans araştırmalarımda zamanını, ilgisini ve tecrübelerini benimle paylaşarak bu süreci keyifli kılan doktara öğrencisi **Burçin ALEV TÜZÜNER'e**,

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, sonsuz sevgi ve emekleriyle beni ben yapan canım annem **Melek SARI**, babam **İbrahim SARI** ve her zaman desteğiyle yanımda olan canım eşim **Yunus Emre YAPICI'**ya sonsuz minnet ve şükran duygularımı sunuyor, teşekkür ediyorum.

Hilal YAPICI

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından maddi olarak desteklenmiştir. (Proje No: BAPKO- SAĞ-C-YLP-110316-0082)

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

BEYAN

TEŞEKKÜR

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ ……..VII

ŞEKİLLER ……..……...……..iX

ÖZET ……..…… 1

SUMMARY……..... 2

1. GİRİŞ VE AMAÇ……...……... 3

2. GENEL BİLGİLER ……..…. 5

2.1. Spinal Kord Yapısı ve Fonksiyonları ……...…..... 5

2.1.1. Spinal kord hasarı……..……..…….....….…....9

2.1.2. Spinal kord hasarının diğer dokulara etkileri..…….....11

2.1.3. Spinal kord hasarının tedavisi……...……...…….....12

2.1.4. Deneysel spinal kord hasarı oluşturma yöntemleri……..... 13

2.2. Böbrek Yapı ve Fonksiyonları… ……..…15

2.3. Mesane Yapı ve Fonksiyonları..... 19

2.4. Trombositden Zengin Plazma ve Kullanım Alanları……..…….23

3. GEREÇ VE YÖNTEM……..……....27

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....27

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Markaları.....27

3.3. Kullanılan Deney Hayvanları.....28

3.4. Trombositden Zengin Plazmanın(TZP) Hazırlanması.....28

3.5. Gruplar ve Deney Protokolü.....29

3.5.1. Spinal kord hasarı oluşturma.....29

3.6. Doku Homojenatı Hazırlanması…….……...…...30

3.6.1. Doku homojenatlarında doku hasar parametreleri için kullanılan tayin yöntemleri…….....…..31

3.6.1.1. Lipid peroksidasyonu tayini……31

3.6.1.2. Miyeloperoksidaz aktivitesi tayini...…….…….…….32

3.6.1.3. Siyalik asit tayini……...…….....…...33

3.6.1.4. Nitrik oksit tayini…….....34

3.6.1.5. Doku faktörü aktivitesi tayini……...…...35

3.6.2. Doku antioksidan-oksidan parametreleri için kullanılan tayin yöntemleri...36

3.6.2.1.Glutatyon tayini……...36

3.6.2.2.Glutatyon-S-transferaz tayini…….....38

3.6.2.3. Süperoksid dismutaz tayini…….....39

3.6.2.4. Katalaz tayini…….41

3.6.2.5. Protein tayini……42

3.6.3. İstatiksel Değerlendirme…….....44

4. BULGULAR.....45

4.1. Doku Hasar Parametreleri (MDA, MPO, SA, NO, DF).....45

4.1.1. Lipid peroksidasyonu sonuçları (MDA sonuçları).....45

4.1.2. Miyeloperoksidaz aktivitesi sonuçları.....45

4.1.3. Siyalik asit sonuçları.....46

4.1.4. Nitrik oksit sonuçları.....46

4.1.5. Doku faktörü aktivitesi sonuçları.....46

4.2. Doku Antioksidan Parametreleri……...…….……...47

4.2.1. Glutatyon sonuçları……..……47

4.2.2. Glutatyon-S- transferaz sonuçları…..……..….48

4.2.3. Süperoksid dismutaz sonuçları……..…….48

4.2.4. Katalaz sonuçları……49

5. TARTIŞMA VE SONUÇ…….....…50

6. KAYNAKÇA……....59

7. EKLER…….….73

7.1. Etik Kurul Onayı…….……..73

7.2. Özgeçmiş…….....74

7.3. Kongre Kabul Yazıları ve Özetleri…….……..75

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

4-AAP **:** 4-aminoantipirin

ALT **:** Alanin aminotransferaz

AST **:** Aspartat aminotransferaz

CDNB **:** 1-kloro-2,4-dinitro-benzen

DF **:** Doku faktörü

DTNB **:** 5-5'-ditiyobis-1,2-nitrobenzoik asit

eNOS **:** Endotelyal nitrik oksit sentaz

ESM **:** Ekstrasellüler matriks

FAD : Flavin adenin dinükleotid

FMN : Flavin mononükleotid

GSH **:** İndirgenmiş glutatyon

GSSG **:** Okside glutatyon

GST **:** Glutatyon-S- transferaz

H_2O_2 **:** Hidrojen peroksit

HETAB **:** Hekzadesiltrimetil-amonyum bromid

$HO^{\bullet}$ **:** Hidroksil radikali

HOCl **:** Hipoklorit asit

IgG **:** İmmünoglobülin G

IL-1β **:** İnterlökin-1 beta

IL-6 **:** İnterlökin- 6

$^{I}O_2$ **:** Singlet oksijen

iNOS **:** İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

KAT **:** Katalaz

LPO **:** Lipid peroksidasyon

MDA **:** Malondialdehit

MPO **:** Miyeloperoksidaz

NADPH **:** Nikotinamaid adenin dinükleotit fosfat- hidrojen

NANA **:** N- asetilnörominik asit

nNOS **:** Nöronal nitrik oksit sentaz

NO : Nitrik oksit

NO^+ : Nitrosonyum

$NO^\bullet$: Nitrik oksit radikali

NO_2^- : Nitrit anyonu

$NO_2^\bullet$: Azot dioksit radikali

NO_3^- : Nitrat anyonu

NOS : Nitrik oksit sentaz

$O_2^{\bullet-}$: Süperoksid anyonu

$ONOO^-$: Peroksinitrit

PDGF : Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet derived growth factor)

ROS : Reaktif oksijen türevleri

SA : Siyalik asit

SF : Serum fizyolojik

SOD : Süperoksit dismutaz

TBA : Tiyobarbütirik asit

TCA : Trikloroasetik asit

TNF-α : Tümör nekroz faktör alfa

U : Enzim ünitesi

UV : Ultraviyole

ŞEKİLLER

Şekil 1: Spinal kord ve spinal sinirlerin lateral ve anterior görünümü 5

Şekil 2: Spinal kord, spinal sinir ve meninkslerin görünümü 6

Şekil 3:Böbrek anatomisi 16

Şekil 4: Nefron yapısı 18

Şekil 5: Mesane ve yapısı 19

Şekil 6: Dişi mesane, iç sfinkter, dış sfinkter ve üretra 20

Şekil 7: Mesane ve prostatın anatomik yapısı 21

Şekil 8: Mesanenin katları 21

Şekil 9: Spinal kord,böbrek,mesane dokularına ait lipit peroksidasyon sonuçları 45

Şekil 10: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait MPO sonuçları 45

Şekil 11: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait SA sonuçları 46

Şekil 12: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait NO sonuçları 46

Şekil 13: Spinal kord ve böbrek dokularına ait DF sonuçları 47

Şekil 14: Spinal kord ve böbrek dokularına ait GSH sonuçları 47

Şekil 15: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait GST sonuçları 48

Şekil 16: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait SOD sonuçları 48

Şekil 17: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait KAT sonuçları 49

Deneysel olarak oluşturulan spinal kord yaralanmasında trombositden zengin plazmanın etkisinin incelenmesi

Öğrencinin Adı: Hilal Yapıcı

Danışmanı: Prof. Dr. Ayşen YARAT

Anabilim Dalı: Biyokimya Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Omurilik yaralanması (SKH) idrar yolu enfeksiyonlarına, böbrek ve mesane sorunlarına yol açabilir. SKH'da oksidatif stres ve inflamatuar yolakların aktivasyonu doku hasarında önemli rol oynamaktadır. Trombositler yara iyileşmesini başlatan birçok büyüme faktörü ve sitokinleri ihtiva ederler. Büyüme faktörleri, çeşitli ajanlarla uyarılmak suretiyle trombositlerden salınır. Trombositden zengin plazma (TZP) yumuşak ve sert dokularda hızlı bir iyileşme sağlar. Bu çalışmada spinal kord hasarından sonra spinal kord, mesane ve böbrek üzerine TZP uygulamasının potansiyel koruyucu etkisi araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sprague-Dawley cinsi sıçanlar üç gruba ayrıldı; Kontrol grubu, SKH grubu ve TZP uygulanan SKH grubu. SKH indüksiyonu için modifiye edilmiş ağırlık düşürme modeli uygulandı. TZP iki kez santrifüj işlemi ile hazırlandı ve hasarlı omuriliklere uygulandı. SKH indüksiyonundan bir hafta sonra, sıçanlar kesildi ve dokular alındı. Doku homojenatları doku hasar ve doku antioksidan parametrelerini incelemek için serum fizyolojik ile hazırlandı.

Bulgular: Tüm dokularda malondialdehit, miyeloperoksidaz, nitrik oksit ve siyalik asit SKH grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı. Doku faktörü aktivitesi ise SKH grubunda yalnızca omurilik dokusunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. Glutatyon, glutatyon-S- transferaz, süperoksit dismutaz ve katalaz aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı. TZP uygulanması ile SKH grubuna kıyasla hemen hemen tüm parametrelerde anlamlı iyileşme gözlendi.

Sonuç: TZP tedavisi, spinal kord, mesane ve böbrek dokularında antiinflamatuar ve antioksidan etkileri ile SKH'na bağlı oksidatif hasara karşı faydalı olabilir. TZP tedavisi,oksidan-antioksidan dengesinin korunmasını sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Omurilik yaralanması, trombositten zengin plazma, oksidan-antioksidan parametreler, omurilik, mesane, böbrek

Investigation of the effect of platelet rich plasma in experimental spinal cord injury

Name of the student: Hilal Yapıcı
Adviser: Prof. Dr. Ayşen YARAT
Department: Biochemistry

SUMMARY

Aim: Spinal cord injury (SCI) can lead to urinary tract infections, kidney and bladder problems. Oxidative stress and activation of inflammatory pathways in the SCI play an important role in tissue damage. Platelets have many growth factors and cytokines which start wound healing. Growth factors are released from platelets by stimulation with various agents. Platelet rich plasma (PRP) provides rapid improvement in both soft and hard tissues . In this study, the aim was to investigate the potential protective effect of PRP in experimental spinal cord injury on spinal cord, bladder and kidney.

Materials and Methods: Sprague-Dawley male rats were divided into three groups; control group, SCI group and PRP applied SCI group. Modified weight-drop model was performed for SCI induction. PRP was prepared by two consecutive centrifugations and applied to spinal cord. A week after SCI induction, rats were decapitated and tissues were taken.Tissue homogenates were prepared in saline to examine tissue damage and tissue antioxidant parameters.

Results: In all tissues malondialdehyde, miyeloperoxidase, nitric oxide increased significantly in SCI group compared to control group. Tissue factor activity decreased significantly in SCI group compared to control group only in spinal cord tissue. Glutathione, glutathione-S transferase, superoxide dismutase and catalase activities decrease significantly compared to control group. Application of PRP improved almost all parameters significantly compared to SCI group .

Conclusions: PRP treatment may have beneficial effects against SCI induced oxidative damage in spinal cord, bladder and kidney tissues through its anti-inflammatory and antioxidant effects. PRP treatment could ensure maintenance of oxidant-antioxidant balance.

Keywords: Spinal cord injury, platelet rich plasma, oxidant-antioxidant parameters, spinal cord, bladder, kidney

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Spinal kord hasarının patofizyolojisi; başlangıçta oluşan birincil hasar ve onu takip eden, biyokimyasal, moleküler ve hücresel değişiklikleri kapsayan ikincil hasar ile karakterizedir. Bu ikincil olaylar, mikrovasküler iskemi, oksidatif stres, iyon düzensizlikleri ve inflamasyona bağlı olarak ortaya çıkar (Zileli ve Gülmen, 2002; Gris ve ark., 2008). Spinal kord yaralanmalarında doku hasarında iskemi reperfüzyonun rol oynadığı ve artan serbest radikallerin lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve böylece doku hasarının geliştiği gösterilmiştir (Hall ve Braugler, 1987). Ayrıca inflamasyonun, reaktif oksijen türevlerinin ve sitokinlerin aşırı üretimi ile yakından ilişkili olduğu, çeşitili patolojilerde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Reaktif oksijen türevlerinden olan superoksid anyon radikalinin NO ile birleşmesi daha toksik olan peroksil radikalini oluştururken hem doku hasarını artırmakta hem de NO miktarını azaltmakta ve böylece düz kas gevşemesini bozmaktadır.

Spinal kord yaralanmalarına bağlı doku hasarlarında patogenezde rol oynayan faktörler göz önüne alındığında antioksidan ve antiinflamatuvar ajanların spinal kord hasarında klinik yararlarının olabileceği düşünülmektedir (Slemmer ve ark., 2008).

Spinal kord yaralanmalarında ilgili pek çok doku da etkilenmekte ve fonksiyonları bozulmaktadır. Komplikasyonların en çok görüldüğü dokular başlıca korpuskavernozum, mesane ve böbrekler vs dir.

Yara iyileşmesi, kan hücreleri, ekstrasellüler yapı, parankimal hücreler ve çözünebilir mediatörleri içeren dinamik, interaktif bir süreçtir. Son zamanlarda özellikle kronik yaraların tedavisinde büyüme faktörlerinin rolüne dikkat çekilmektedir. Trombositler yara iyileşmesini başlatan büyüme faktörlerini ve sitokinleri içerir. Trombositlerin çeşitli maddelerle uyarılması ile örneğin trombinin etkisi ile trombositlerden büyüme faktörleri açığa çıkar (Carter ve ark., 2003). Trombositten zengin plazma (TZP) hem yumuşak hem de sert dokunun klinik olarak hızlı bir şekilde iyileşmesini sağladığı son yıllarda en çok üzerinde çalışılan konular arasında yer almıştır (Eppley ve ark., 2004; Tambini, 2005).

(Erişim tarihi:11.05.2005 http://dendistry.uic.edu/depts/omfs/gr/2001/0618) Otolog trombosit jeller, doku için nontoksik olduklarından güvenle kullanılabilirler, kolay bulunabilir ve çabuk hazırlanırlar. Lokal doku gelişimi ve onarımını hızlandırır, vücut tarafından kısa sürede geri emilirler ve ekonomiktirler (Schmitz ve Hollinger, 2001). Trombositlerin alfa granülleri, iyileşme işleminde önemli rol oynayan yaklaşık 30 kadar büyüme faktörünü içermektedir. Ayrıca bu granüller fibronektin, thrombospondin ve vitronektin gibi ekstrasellüler matriks komponentlerini de ihtiva etmektedir (Grageda, 2004)

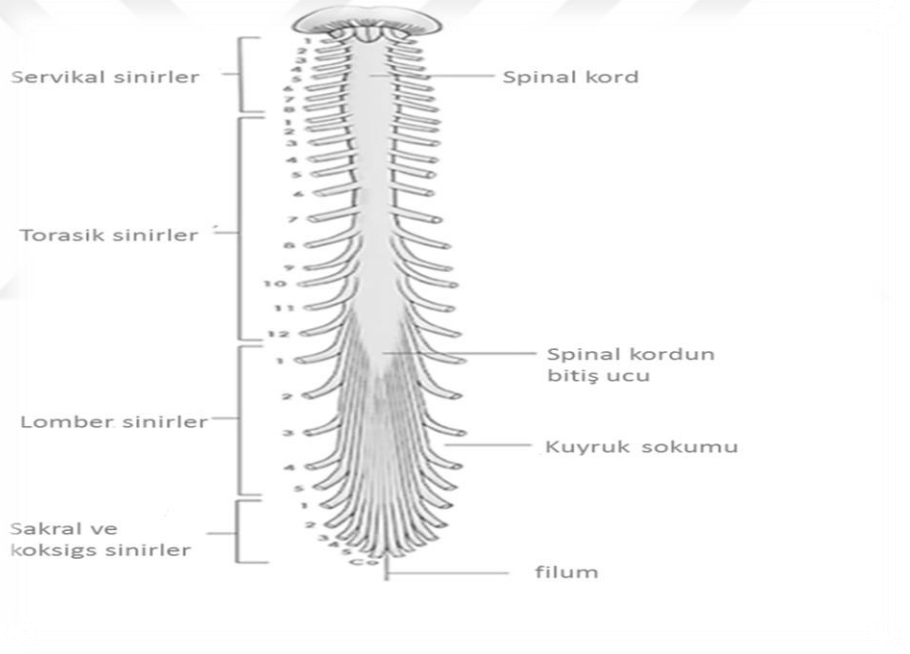
TZP'nin kullanım alanları arasında nöroşirurji (Buza, 2005), oral ve maksillofasiyal cerrahi (Man ve ark., 2001; Petrungaro, 2001; Carlson ve ark., 2002; Kim ve ark., 2002; Robiony ve ark., 2002; Lecovıc ve ark.,2003; Buza, 2005), otorinolaringoloji (Buza, 2005), plastik cerrahi, kronik diabetik ülserlerin tedavisi (Shukla ve ark., 1998; Man ve ark., 2001; Aminian, 2005), üroloji (Buza, 2005), orto/spinal cerrahi (Buza, 2005) ve veteriner cerrahi (Carter ve ark., 2003; Fortier, 2005)(Erişim tarihi: 11.05.2005. http://www.vet.cornell.edu/Public/Research/2weig/fortier05html)yer almaktadır. Bu açıdan TZP'nin spinal kord yaralanmasında yaralı olabileceği beklenmektedir.

Çalışmamızda spinal kord yaralanmasına bağlı olarak spinal kord ve mesane ve böbrek gibi diğer bazı dokularda gelişen komplikasyonlara TZP'nin etkisi araştırıldı. Bu nedenle oksidan parametreler ile antioksidan biyokimyasal parametreler tayin edildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spinal Kord Yapısı ve Fonksiyonları

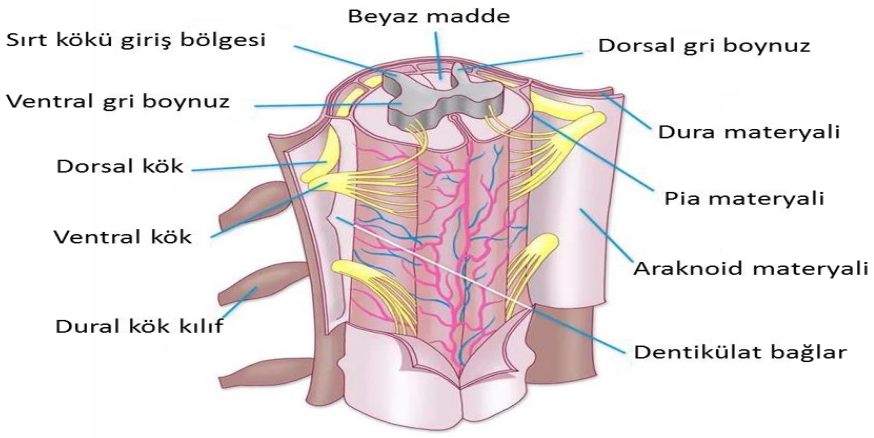
Merkezi sinir sistemi (MSS) spinal kord ve beyin olmak üzere iki kısımdan oluşur. MSS'nin en alt kısmını oluşturan spinal kord (Omurilik), beyin sapından başlayıp, omurga içinde ikinci bel omuruna kadar uzanan ve bundan sonra fibröz (bağ dokusu) bir kordon şeklindeki filum terminale denen kısımla devam eden merkezi sinir sisteminin önemli bir parçasıdır. Spinal kord, vertebralar, vertebraları birbirine bağlayan ligametler, kaslar, spinal zarlar ve beyin omurilik sıvısı (BOS) tarafından çevrelenerek korunmaktadır (Şekil 1) (Gianino ve ark., 1996).



Şekil 1: Spinal kord ve spinal sinirlerin lateral ve anterior görünümü (Gianino ve ark., 1996)

Spinal kordun dışında ak, içinde de boz madde vardır. Omuriliğin ak maddesinin üzerinde üç katlı bir zar bulunur (pia, arachnoidea ve dura zarları). Bu zarlar, beyin zarlarının devamıdır. Pia ve arachnoidea zarları arasında " beyin omurilik sıvısı" yer alır ve omuriliği darbelere ve sarsıntılara karşı korur (Şekil 2). Beyin omurilik sıvısı beyindeki özel boşluklarda bulunan koroid ağları tarafından salgılanır ve özel

kanallar vasıtasıyla omuriliğe ulaşır. Merkezi sinir sistemiyle ilgili bazı hastalıkların teşhisinde bu sıvının alınıp incelenmesi büyük önem taşır. Üç spinal zardan en yüzeysel olanı dura mater (sert) olup, yoğun, düzensiz bağ dokusundan oluşur. Oksipital kemikteki foramen magnum seviyesinden, beynin dura mater ile devam ettiği yerde, ikinci sakral omurgaya kadar bir kese oluşturur. Spinal kord aynı zamanda epidural boşlukta dura mater ile vertebral boşluğun duvarı arasında kalan bir yağ ve bağ dokusu yastığı tarafından korunur (Netter, 2007).Orta zar, örümcek ağı kadar narin kollajen liflerin ve bazı elastik liflerin düzenlenmesi nedeniyle araknoid materyal olarak adlandırılan avasküler bir kılıftır (Latince'de 'örümceğe benzer' anlamına gelir). Dura mater için derindir ve beynin araknoid materyaliyle kesintisizdir. Dura mater ile araknoid mater arasında interstisyel sıvı içeren ince subdural bir boşluk bulunur (Netter, 2007). En içteki menenks, omuriliğin ve beynin yüzeyine yapışan ince şeffaf bağ dokusu tabakası olan pia mater (narin) dir. İç içe geçmiş kollajen lif demetleri ve bazı ince elastik liflerden oluşur. Omurilikte spinal korda oksijen ve besin sağlayan birçok kan damarı bulunur. Araknoid materyal ile pia mater arasında beyin omurilik sıvısı içeren subaraknoid boşluk bulunur (Netter, 2007)



Şekil 2: Spinal kord, spinal sinir ve meninkslerin görünümü (Netter, 2007)

Spinal kord yaklaşık 40-45 cm uzunluğunda ve 1 cm çapında olup, önden arkaya doğru hafif basık silindir şeklindedir (Netter, 2007). Erişkinde spinal kord vertebral kolondan daha kısa kalır. Doğumda spinal kord L3 seviyesinde iken erişkin dönemde L1 alt kenarında sonlanır. Bu seviyenin altından itibaren spinal sinirler ”kauda ekina”

olarak devam eder (Netter, 2007). Kalınlığı 8-12 mm arasında değişmektedir. Toplam ağırlığı ise 25-30 gram kadardır. Omurilik baştan sona kadar aynı kalınlıkta değildir. İki yerde şişkinlik gösterir. Bunlardan biri 3. boyun omuru ile 2. sırt omuru arasında; ikincisi ise 10. sırt omuru ile 2. bel omuru arasındadır. Bu şişkinliklerden, alt ve üstuzuvlara giden sinirler çıkar.

Servikal bölgedeki genişleme, üst ekstremitenin innervasyonunu sağlayan spinal sinirlerin birleşerek oluşturacağı brakiyal pleksus nedeniyle meydana gelen yoğunlaşmaya bağlıdır. Bu genişleme C4-T1 segmentleri arasında olup, bu seviye C3-T3 vertebral kolon bölgesine karşılık gelmektedir. Lomber bölgedeki genişleme, alt ekstremitenin innervasyonunu sağlayan spinal sinirlerin birleşerek oluşturacağı lumbosakral pleksus nedeniyle meydana gelen yoğunlaşma sonucudur. Bu bölgedeki genişleme, L2-S3 segmentleri arasında olup, T10- L2 vertebral kolon bölgesine denk gelmektedir (Netter, 2007; Moore, 2010).

Omuriliğin enine kesitinde ortadaki gri maddeyi çevreleyen ve miyelinli nöron aksonlarının demetlerinden oluşan beyaz bir kısım görülür. Beyaz maddeyi iki oluk ile sağ ve sol olarak ikiye böler. Anterior median fissür, anterior (ventral) tarafta geniş bir oluktur. Posterior median sulkus posterior (dorsal) tarafta dar bir oluk halindedir (Şekil 2) (Netter, 2007; Moore, 2010). Omuriliğin beyaz kısmı, gri madde gibi, bölgeler halinde organize edilir. Ön ve arka gri boynuzlar her taraftaki beyaz maddenin sütunlar olarak adlandırılan üç geniş bölüme ayrılır: anterior (ventral) beyaz kolonlar, arka (dorsal) beyaz kolonlar, yanal beyaz sütunlar (Moore, 2010). Omuriliğin ak maddesinin üzerinde üç katlı bir zar bulunur. Bu zarlar arasındaki ‘’beyin omurilik sıvısı’’ omuriliği darbelere ve sarsıntılara karşı korur.

Omurganın gri maddesi kelebek gibi şekillenmiştir ve H harfine benzemektedir. Dendritler ve nöronların hücre gövdelerinden, milimetrik aksonlardan ve neurogliadan oluşur. Gri birleşme yeri H'nin çapraz çubuğunu oluşturur. Gri birleşme yerinin merkezinde orta kanal olarak adlandırılan küçük bir alan vardır; Omuriliğin tüm uzunluğunu kuşatır ve beyin omurilik sıvısı ile doludur. Gri birleşme yerinin ön kısmı omuriliğin sağ ve sol tarafındaki beyaz cevherleri birbirine bağlayan anterior (ventral) beyaz maddedir (Netter, 2007; Moore, 2010).

“H” harfi şeklindeki gri madde boynuzlar olarak adlandırılan bölgelere bölünür. Ön boynuzları vücudun ön tarafına, arka boynuzları da arka tarafına uzanır. Arka boynuzlar duyusal sinirlerle ilgili olup, beyne hislerin iletilmesinde görevlidirler. Ön boynuzlar ise vücudun hareketlerini sağlayan motör sistemle ilgilidir. Arka (dorsal) gri boynuzlar, hücre gövdeleri ve internöronların aksonları ile gelen sensör nöronlarının aksonlarını içerir. Anterior (ventral) gri boynuzlar, somatik motor nükleusları içerirler, bu somatik motor nükleonları, iskelet kaslarının kasılması için sinir uyarıları sağlayan somatik motor nöronların hücre cisimlerinin kümeleridir. Arka ve ön gri boynuzları arasında, lateral gri boynuzlar bulunur; bunlar sadece omuriliğin torasik ve üst lomber bölümlerinde bulunurlar. Yanal gri boynuzlar, otonomik motor nöronların hücre gövdelerinin kümeleri olan otonomik motor çekirdeği içerirler ki bu kalp kası, düz kas ve bezlerin aktivitesini düzenler (Netter, 2007; Moore, 2010).

Ak madde, omurilik boyunca uzanan sinir liflerinden meydana getirilmektedir. Bu lifler, vazifelerine göre belirli bir düzende seyrederler. Omurilikten çıkan 31 çift sinir, baş ve boyunun bir kısmı dışında vücudun kaslarını sinirlendirir. Aynı zamanda buralardan doğan uyarıları beyne iletirler. Her birinin içinde, motor liflerin seyrettiği bir ön kök ve duyusal liflerin bulunduğu bir arka kök vardır. Arka kökte bir sinir düğümü (gangliyonu) bulunur. İki kök birleşir ve omurlar arasındaki delikten çıkıp iki dala ayrılır. Bir dal vücudun arkasına bir dal da önüne gider. Kol ve bacaklara gidecek sinirler, büyük sinir demetlerini (pleksusları) yaparlar (Moore, 2010).

Spinal kordun, iki ana fonksiyonu vardır: 1-Uyarıları iletmek: Duyu organlarından ve çevreden gelen uyarılar öncelikle omuriliğe gelir, burada çapraz yaparak beyine iletilir. Spinal korddaki beyaz kısım, sinir impulsunun yayılması için otoyollardır. Duyusal girdi bu yol boyunca beyine doğru ilerler. 2-Refleksleri ve alışa gelmiş haraketleri kontrol etmek: Omurilik vücutta gerçekleşen iki çeşit refleksin de kontrol merkezidir. Yeni doğan bir çocuğun annesini emmesi, avucuna parmağınızı koyduğunuzda parmağınızı kavraması, diz kapağı refleksi gibi doğuştan gelen kalıtsal refleksleri, limon görünce ağzın sulanması, daha önce elini yakmış bir

çocuğun sobayı gördüğünde elini sakınması gibi kazanılmış refleksleri kontrol eder. Omurganın gri maddesi, gelen ve giden bilgileri alır ve birleştirir (Netter, 2007; Moore, 2010).

2.1.1. Spinal kord hasarı

Spinal kord hasarı (SKH), travma gibi nedenlerle omurilikte tamamen veya kısmen oluşan hasar sonucunda motor, duyu ve otonom işlevlerin kaybedilmesi veya bozulması ile karakterizedir. Bu yaralanma, emek ve gelir kaybının yanı sıra ömür boyu sürecek bir tedavi ve bakım gerektiren yüksek maliyetli, hastaları, aileleri ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkileyen toplumsal ve psikolojik sorunlara neden olan çok önemli bir halk sağlığı problemidir (Tator, 1998; Dumont ve ark., 2001).

Yaralılardan sağ kurtulanların yarısından fazlası normal yaşama geri dönemez (Li ve ark., 2000). Öte yandan, omurilik yaralanmalarının büyük çoğunluğunun 15-25 yaş arası sağlıklı genç erişkinlerde görülmesi ciddi bir sosyal problemdir. Modern yaklaşımın olumlu etkisine rağmen bugüne kadar yapılan tedaviler için yoğun çaba harcanmış olsa da etkili, kalıcı ve evrensel olan bir tedavi protokolü henüz geliştirilmemiştir (Fehlings, 2001; Dumont ve ark., 2002; Schwab, 2002).

Omurilik hasarı sonrası merkezi sinir sisteminin yenilenememesi önemli bir problemdir. Halen birçok araştırmacı nörolojik fonksiyonu iyileştirmek için akut spinal kord yaralanmasının patofizyolojik mekanizmalarını aydınlatmaya çalışmaktadır.

Deneysel çalışmalar, travmadan sonra SKH'nın daha da kötüye gidebileceğini göstermiştir. SKH'da iki aşamalı mekanizma kavramı, 1900'lerin başında ortaya atılmıştır (Allen, 1911; Kaptanoğlu, 2010). Birincisinin primer-mekanik hasar olduğu ve ikincisinin ise yaralanma sonrasında tetiklenen birçok faktörün etkisiyle gelişen olaylar olduğu bildirilmiştir.

Primer mekanik hasar: İnsan SKH' rının en yaygın mekanizması, hasar sonrasında devam eden omurilik kompresyonudur (Dumont ve ark., 2001; Kaptanoğlu ve ark., 2002). Primer hasar; distraksiyon, fleksiyon, ekstansiyon ve rotasyondan

kaynaklanan kuvvetlerin spinal kord veya vasküler gerilme yaratması ile ortaya çıkmaktadır (Fehlings ve ark., 2001; Güzel ve ark., 2006). Spinal kord travmalarında kanama erken dönemde başlarken, kan akışında kesinti daha sonraki bir dönemde ortaya çıkar. Kan akışının kesilmesi hipoksi ve iskemi lokal enfarktüse yol açar. Bu, özellikle, metabolik ihtiyacı daha fazla olan gri cevher hasarına neden olur. Hasar gören bölgede bulunan nöronlar fiziksel olarak kesilir ve miyelin kalınlığı azaltılır. Hasar bölgesinde oluşan ödemden dolayı sinir iletiminde bozulmalar oluşur (Dumont ve ark., 2001)

SKH olan hastalarda mesane, bağırsak ve seksüel disfonksiyon gibi medikal komplikasyonlar görülür. Bu kişilerin aynı zamanda kronik ağrısı, otonomik disfonksiyonu, spastisitesi olabilir, ancak bunlar oldukça değişkenlik gösterir ve mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Ciddi travmalarda artan respiratuar ve kardiyak problemler görülebilmektedir (Demirel, 2015).

SKH boyun ve torakal bölgedeki sinir ve kasları etkiler. Solunum komplikasyonları şiddetli bir SKH'nın göstergesidir. Boyun bölgesinde SKH'ı olanların yaklaşık üçte birine entübasyon desteği gerekir. Diyafragmayı innerve eden frenik sinirin köken aldığı C1-C4 segmentlerindeki hasar solunumun durmasına neden olabilir.

İkincil mekanik hasar: Birincil zedelenmeden sonra gelişen hasar olup, yaralanmadan saatler ve günler sonra pataofizyolojik olayların devam ettiği durumdur (Mautes ve ark., 2000). Travmatik SKH'dan hemen sonra iskeminin başladığı ve tedavi edilmediği takdirde, ilk 3 saatte iskemi nedeniyle olan doku hasarının arttığı ve en az 24 saat boyunca devam ettiği bildirilmektedir (Dumont ve ark., 2001; Kaptanoğlu ve ark., 2002). SKH'dan sonra omurilikte, kanama, ödem, demiyelinasyon, aksonal ve nöronal nekroz ve enfarktüs gibi bir dizi patolojik değişiklik dahil olmak üzere birçok değişiklikler olmaktadır (Dumont ve ark., 2001; Kaptanoğlu ve ark., 2002).

SKH sonrasında hücre zarlarında glutamat toksisitesi, oksidatif hasar, iskemi, Ca ++ bağımlı nitrik oksit üretimi, serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu artar (Choi ve ark., 2001; Eaton, 2006). Dokunun iyileşebilmesi ve nekrozun önlenmesi için kan

akışının sağlanması gereklidir. SKH sadece omuriliğin yaralanması ile sınırlı kalan bir patoloji değildir. Omurilik hasarından sonra beyin-omurilik arasında yer alan yolaklardaki nöronlar, atrofi, apoptoz veya nekroza uğrayabilir. Vaskülarize astrositik ortam, spinal kord yaralanması durumunda aksonların bölgede yeniden oluşmasına izin verebilir. Bu nedenle, yaralanmadan sonra nöron ölümüne neden olabilecek sekonder yaralanma mekanizmalarının anlaşılması, uygun terapilerin geliştirilerek uygulanması çok önemlidir (Choi ve ark., 2001; Eaton, 2006).

2.1.2. Spinal kord hasarının diğer dokulara etkileri

SKH'lı bireylerde genellikle pnömoni gibi solunum komplikasyonları ölüm nedeni olabilmektedir (Demirel, 2015). SKH dolaşımda kan basıncı düzensizlikleri, aritmiler, tromboemboliler gibi çeşitli değişimlere sebep olabilir. Çünkü kardiyak sinirlerin beyindeki kontrolü sekteye uğrar, bradikardi ya da taşikardi görülür. Aritmiler en ciddi ve en yaygın görülen kardiyovasküler patolojidir. Düşük kan basıncı sinir sisteminin kontrolündeki değişikliğe bağlı vasküler göllenmeye sebep olur. Kas hareketlerindeki paralizi kan akışında durgunluğa sebep olarak göllenmeye ve trombo emboli gelişmesine risk oluşturur. Tedavisinde alt ekstremitede kan akışını arttırmak için antikoagülan ilaçlar ve kompresyon çorapları kullanılır (Demirel, 2015).

Spinal kord zarar gördüğü zaman beyin refleks aktivitesini düzenlemeyebilir. Reflekslerin aşırı aktivitesi sonucu spastisite oluşur. Kaslarda hipoaktiviteye bağlı atrofi gelişir. Spazmlar şiddetli hala gelirse tıbbi tedavi gerekebilir (Demirel, 2015).

Otonom sinir sistemi, kan basıncı, kalp atımı, mesane ve bağırsak fonksiyonları gibi istemsiz hareketleri kontrol eder. Otonom disrefleksi servikal ve üst torakal travmalarının hayatı tehdit eden refleks hareketidir. Sinir sisteminde travma seviyesinin altında uyarı, ağrı, irritasyon olduğu zaman otonom disrefleksi meydana gelmektedir. Bu irrite olan bölge beyine sinyal göndermeye çalışır ancak sinyal yanlış yönlenebilir ve patolojik reflekslerin oluşmasına, mesane disfonksiyonuna ve konstipasyona sebep olur. Ayrıca baş ağrısı, kan basıncındaki ani değişimler, görme değişiklikleri, kızarma, terleme, semptomlar arasındadır (Demirel, 2015).

Paraplejik ya da tetraplejik hastalarda bası yaraları daha sık görülür. Spinal kord yaralanması olan kişiler normal kas iskelet ağrısına meyilli olurlar. Kronik ağrının tedavisinde medikasyon, akupunktur, spinal ya da beyin elektrik stimülasyonu, cerrahi yöntem uygulanır. Ancak nörojenik ağrıların azaltılmasında bu tedavilerin hiçbirisi tamamen etkili değildir (Demirel, 2015).

Omurilik yaralanmalarının büyük çoğunluğu, mesane ve bağırsak fonksiyonlarını etkiler. Çünkü ilgili organları kontrol eden sinirler, omuriliğin alt ucunun yakınında başlar ve normal beyin girdilerini kaybeder. Böbrekler, idrar üretmeye devam etse de mesane kontrolü kaybolabilir ve mesane ve üriner sistem enfeksiyonları riski artar. Bazı kişilerin, mesanelerini boşaltmak için kateter kullanmaları gerekebilir. Sindirim sistemi etkilenmeyebilir, fakat omurilik yaralanmasından iyileşen kişilerin, bağırsaklarını boşaltma yöntemlerini öğrenmeleri gerekebilir. Kontrole yardımcı olması için beslenme düzeninde bir değişim gerekebilir (Demirel, 2015).

2.1.3. Spinal kord hasarı tedavisi

Spinal kord travması sonrası tedavinin esas amacı oluşacak sekonder hasarı engellemektir. Travmatize olmuş spinal kordun tedavisi için, hem cerrahi hem de nöroprotektif ajanların kullanılması en bilinen tedavi yöntemleridir. SKH sonrası ilaçlar, tek veya etkilerini potansiyelize edip etmediklerini saptamak amacıyla kombine şekilde deneysel çalışmalarda kullanılmıştır (Teke ve ark., 2012). Güncel tedavi yaklaşımı ise travmatize olmuş spinal korddaki özellikle aksonların yeniden görevlerini yapabileceği rejenerasyon çalışmalarıdır.

Cerrahi tedavide travma sonrası primer hasara neden olan hematom, kemik ve disk fragmanlar gibi yer kaplayan oluşumların çıkarılmasını içeren dekompresif yaklaşımlar erken dönemde fayda sağlayabilir. Travma sonrası ilk 24 saat içinde yapılan acil dekompresyon nörolojik durumu iyileştirebilir. Ayrıca yapılacak olan stabilizasyon anatomik pozisyonda düzelmeyle sekonder hasarın şiddetlenmesini engelleyebilir (Grulova ve ark., 2013).

Spinal kord travmasında rejenerasyon ve kök hücre tedavisinde, kullanılan kök hücre, kendini yenileme özelliği olan ve birçok patolojik durumda tedavi edici rolleri tanımlanmış olan hücrelerdir. Ciddi çalışmalar yapılmasına rağmen insanlarda hasarlı spinal kordun tam rejenerasyonu halen gösterilememiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, SKH, serebrovasküler olay veya dejeneratif beyin hastalığı modellerinde kemik iliği kök hücrelerinin intravenöz uygulama sonrasında rejenerasyonun hızlandığına ve remiyelinizayonun oluştuğuna dair kanıtlar elde edilmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda spinal korda göç eden ve çoğalabilen kök hücrelerin varlığı SKH sonrasında oluşan geri dönüşümsüz nörolojik işlevlerin düzelebilmesini mümkün kılmaktadır (Merih ve ark., 2006).

Son zamanlarda bir deneysel çalışmada polipeptid yapıdaki büyüme hormonunun subtipi olan sinir büyüme faktörü kullanılmış, santral sinir sistemindeki aksonal yenilenme, nöronal iyileşme gibi bilinen etkilerini spinal kord yaralanmasında da gösterdiği bildirilmiştir (Kasai ve ark., 2011).

Spinal kord travması üzerine yapılan deneysel çalışmalarda birçok farmakolojik ajan kullanılmıştır. Bazı ilaç gruplarının etkinliği deneysel olarak gösterilse de bu ilaçlar klinik kullanıma girememiştir. Metilprednizolon başta olmak üzere gangliozidler, opiyat reseptör antagonistleri ve nimodipin insanlarda faz çalışmalarını tamamlamış ve onaylanmış, güncel kullanımı olan ilaçlardır (Avcı ve ark., 2011; Sencerve ark., 2013).

2.1.4. Deneysel spinal kord hasarı oluşturma yöntemleri

Deneysel çalışmalar incelendiğinde çok eski yıllardan beri SKH modelinin geliştirilmesi ile ilgili araştırmaların yapıldığı görülmektedir. Günümüzde bu modeller travmatik ve non-travmatik yaralanmalar olarak ayrılmaktadır.

Travmatik yaralanmalar içine, klip, balon kompresyon, ağırlık uygulama, çarpma veya ağırlık düşürme, akselerasyon-deselerasyon, distraksiyon, transseksiyon yaralanmalar girmektedir. Non-travmatik yaralanmalar ise aort oklüzyonu, selektif

arteryel veya venöz oklüzyon, ekstradural, kimyasal ve fotokimyasal yaralanmalardır (Demirel, 2015).

En çok kullanılan yöntemler hemiseksiyon, ağırlık düşürme ve klip yöntemidir. Hemiseksiyon yöntemi, insandaki spinal kord yaralanmasının biyomekaniğini en iyi taklit eden modeldir. Ağırlık düşürme yöntemi 1911 yılında Allen ve ark.'ları tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu modelde, dura üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık tüp içinden düşürülmüş, böylelikle travma oluşturulmuştur. Oluşturulan travmanın şiddeti, (gr-cm) şeklinde ifade edilmiştir. 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 (Barbosa ve ark., 2014; Senturk ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2014). Klip yöntemi, T7-T10 laminaları görülür. T7 seviyesinde total laminektomi uygulanır ve dura materin zedelenmemesine dikkat edilir. Bu seviyede spinal kord standart travma amacıyla 63 g kuvvet uygulayan Yaşargil anevrizma klibi (Aesculap FE 721 K) ile dura ve spinal kordu çepeçevre saracak şekilde bir dakika süreyle sıkıştırılır. Daha sonra klip kaldırılır ve hemostazı takiben insizyon sahası anatomik katlarına uygun olarak kapatılır (Polat ve ark., 2012; Jin ve ark., 2014; Ni ve ark., 2014).

Deneysel SKH çalışmalarında başlıca,

1. Klinik muayene : a. Subjektif: Tarlov Motor Skalası b. Objektif: Eğik düzlem
2. Histolojik muayene a. Subjektif b. Objektif: Akson sayımı
3. Görüntüleme: CT, MRI
4. Anjiografik değerlendirme
5. Spinal kord kan akımı ölçümü
6. Aksonal tarayıcılar ile değerlendirme
7. Biyokimyasal ölçümlerle değerlendirme
8. Nörofizyolojik değerlendirmeler yapılmaktadır (Tator ve Fehlings, 1991).

İnsanlarda spinal kord yaralanması ile deneysel SKH arasında farklılıklar bulunmaktadır: Deneysel modellerde yaş, seks gibi değişkenleri kontrol altında

tutmak mümkünken insanlarda SKH çok fazla değişken içermektedir (Martinez ve ark., 1992).

Deneysel çalışmalarda uygulanan kuvvet genellikle tek yönlüdür ve kompresyon tarzındadır. İnsanlarda ise yaralanma farklı kuvvetlerin kombinasyonu ile oluşmaktadır. İnsanlarda spinal kord yaralanmaları kapalı vertebral sistem içinde gerçekleşirken, deneysel modellerde yaralanma genellikle açık laminektomi sonrasında oluşturulmaktadır (Martinez ve ark., 1992).

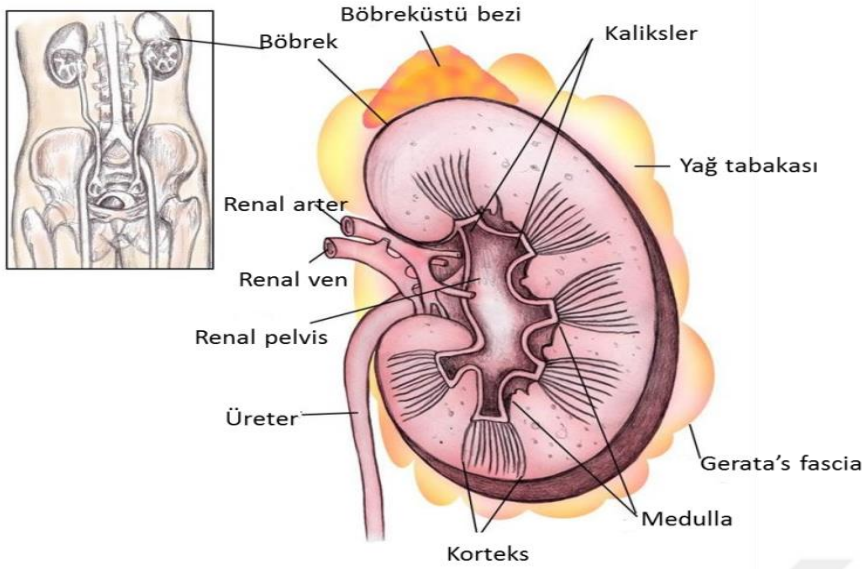
Deneysel modellerde yaralanma genel anestezi altında yapılmaktadır. Kullanılan anestezik maddenin spinal kord yaralanmasına herhangi bir aşamada bilinmeyen ve kontrol edilemeyen etkileri olabilir (Martinez ve ark., 1992).

Hastaların yaralanmadan sonra değerlendirilip medikal ve cerrahi tedaviye başlanması için geçen süre oldukça değişkendir. Bu süre olguların bir kısmında 48 saate kadar uzayabilmektedir. Oysa deneysel çalışmalarda uygulanan tedaviler genellikle ilk saatlerde verilmektedir (Demirel, 2015).

SKH modelleri arasında hasar yönünden de bir takım farklılıklar oluşabilmektedir. Ağırlık düşürme yönteminde SKH büyük oranda mekanik nedenle oluşmaktadır. Oysa balon kompresyonu ve klip kompresyonu yöntemlerinde hem mekanik ve hem de vasküler faktörler devreye girmektedir. Uygulanan klibin kapanma kuvvetinde ve uygulama süresinde de büyük farklılıklar görülebilmektedir (Khan ve Griebel, 1983; Duncan ve ark., 1992; Xarchas ve Bourandas, 2003).

2.2. Böbrek Yapı ve Fonksiyonları

Boşaltım sistemi, idrarı oluşturan iki böbrekden, idrarı böbrekten mesaneye ileten iki üreter kanalından, bir adet idrar kesesinden, idrarı mesaneden vücut dışına gönderen bir adet ‘üretra kanalından, kanı böbreğe getiren renal arterlerden, kanı böbrekten uzaklaştıran renal venlerden ve sinirlerden oluşur (Şekil 3) (Hickling ve ark., 2015).



Şekil 3: Böbrek anatomisi (Hickling ve ark., 2015)

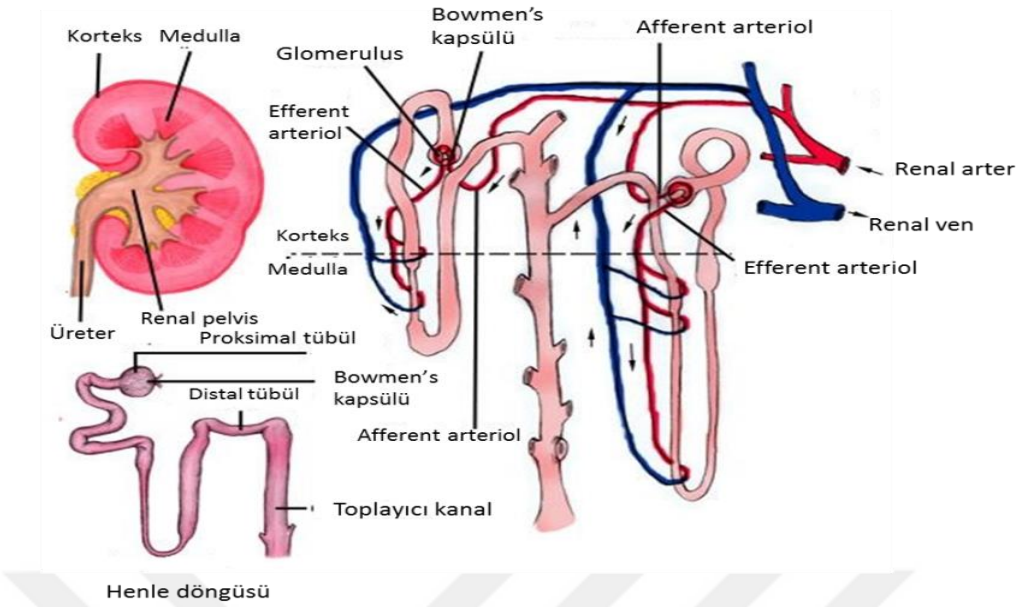
Böbrek, sinir sisteminin hem sempatik hem de parasempatik bölümleri aracılığıyla uyarılır. Böbreklere pregangliyonik sempatik sinirsel inervasyon, T8-L1 seviyesinde omurilikten kaynaklanır. Sempatik sistemin faaliyete geçirilmesi renal damarların vazokonstriksiyonuna neden olur. Parasempatik innervasyon, 10. kafa sinirinden (X), vagus sinirinden kaynaklanır ve stimüle edildiğinde vazodilatasyona neden olur (Wein ve ark., 2007b).

Kalbin pompaladığı toplam arterial kanın %20–25'ini böbrekler renal arter vasıtasıyla direkt olarak aorttan alır. Renal ven vasıtasıyla da kan inferior vena cava'ya (alt ana toplar damara) geri gönderilir. Böbreği terk eden idrar (kandan filtrelenen atık maddeler ve su) ureterlerde aşağı doğru gönderilir ve mesanede toplanır. Mesane kasları (detrusor kas), mesane içerisindeki basıncı arttırmadan idrarı burada tutabilme yeteneğine sahiptirler. Büyük miktarda sıvı (700-1000ml) mesanede depolanabilir. İdrar mesaneden geçtiğinde, mesanenin tabanındaki üretral sfinkter gevşer, mesane kasları kasılır ve idrar üretra aracılığıyla tahliye edilir (Wein ve ark., 2007a).

Genellikle toksinleri ve metabolik atıkları vücuttan uzaklaştıran filtreler olarak düşünülen böbrekler, filtrasyon, seçici geri emilim ve filtre edilen maddeleri idrar yolu ile atarak kanın hacim ve kompozisyonunu düzenleyen önemli organlarımızdır. İki tane olup, karın bölgesinin arka duvarında omurganın her iki yanına T12-L3 omurlarının arasına yerleşmiş, fasulye şeklindeki retroperitoneal yapılardır. Karaciğer sağ böbreğin üzerine baskı yapıp biraz aşağıya ittiğinden, sol böbrek sağ böbrekten biraz daha yukarıdadır. Böbreğin ağırlığı cinsiyete göre 150 ile 135 g arasında değişmektedir. Genellikle 10-12 cm uzunluğunda, 5-7 cm eninde ve 2-3 cm kalınlığındadır (Wein ve ark., 2007a).

Böbreküstü bezleri, her böbreğin üst kutbuna bitişiktir. Sağ tarafta duodenum böbreklerin medial yönünde yer alır. Sol tarafta mide, böbreklerin medial yönünde bulunur, pankreas ise böbrek hilumunun üzerine uzanır. Dalak, üst kutbun ön tarafında olup splenorenal (lienorenal) bağlarla bağlanır. Bu organların alt kısmında bulunan kolon genellikle her iki taraftaki böbreklerin önüne dayanmaktadır. Arka kısımda, diyafram her böbreğin üst üçte birini kapsar. (Wein ve ark., 2007a).

Böbrek korteks ve medulladan oluşur. Medulla, renal piramit olarak adlandırılan 8-18 konik kısma ayrılır. Her piramidin üst kısmı korteksle, alt kısmı renal pelvisi oluşturacak olan renal papilla ile bağlantılıdır. Renal pelvis de alt kısmında üreteri oluşturur. Kalikslerin, pelvis ve üreterin duvarları, kasılarak peristaltik hareketle idrarı mesaneye itecek olan düz kaslar ile astarlanmıştır. Korteks ve medulla nefronlardan oluşur. Nefron, böbreğin fonksiyonel birimidir ve her böbrekte yaklaşık 1-3 milyon kadar nefron bulunur (Şekil 4) (Hall ve Guyton, 2011).



Şekil 4: Nefron yapısı (Hall ve Guyton, 2011)

Nefron böbrekte kanın ultrafiltrasyonundan ve onu takip eden filtrelemede bazı ürünlerin geri emilim ile atılımdan sorumlu birimdir.

Her nefronda bulunan başlıca yapılar:

• Filtreleme ünitesi: Glomerulus, kalbur benzeri bu yapı sayesinde kandan dakikada 125 ml süzüntü oluşturulur. Buradaki filtrasyon kontrolsüzdür. Gerekli gereksiz her şey kandan atılır/süzülür.

• Proksimal Tübül : Glukoz, sodyum, vitaminler ve kandaki diğer gerekli çözünenlerin kontrollü emilimi burada gerçekleşir.

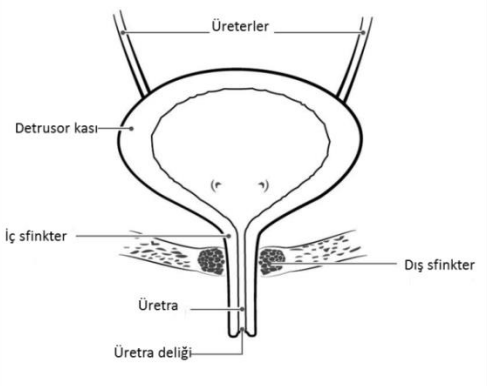
• Henle Kulpu: Bu bölge idrarın yoğunlaştırılma veya seyreltilmesinden sorumludur. Temelde suya geçirgen olmayan bu bölge sodyum iyonlarını dışarı pompalar, böylece çevresindeki dokuların osmolaritesini değiştirir. Dolayısıyla bunun ardından suya geçirgen toplama kanalında içe veya dışa doğru oluşacak su hareketlerini düzenler.

• Distal Tübül: Bu bölge,bağlı olduğu toplama kanalı (collecting duct) ile beraber suyun geri emiliminden sorumludur. Yani, suyun % 99'u geri emildiğinden dakilada 125 ml idrar oluşmaz aslında. Bu sebeple toplama kanalı ve pelvise oldukça yoğun bir idrar gider (Hall ve Guyton, 2011).

Böbrekler filtrasyon ve metabolik atık maddelerin atılımı (üre ve amonyum) da dahil olmak üzere önemli işlevlere sahiptir. Gerekli elektrolitlerin, sıvıların ve asit-baz dengesinin düzenlenmesinde ve kırmızı kan hücresi üretiminin uyarılmasında rol alırlar. Karaciğer ile birlikte ilaçların detoksifikasyon ve eliminasyonun düzenlenmesinde başlıca öneme sahiptir. Ayrıca, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi yoluyla kan basıncını düzenlemek, suyun emilimini kontrol etmek ve intravasküler hacimi düzenlemek fonksiyonları arasında yer alır. Böbrekler ayrıca uzun süreli açlık esnasında amino asitlerden ve diğer öncüllerden glikoneojenez yoluyla glikoz sentezi ve eritrosit yapımından sorumlu eritropoietin sentezi, kalsiyum metabolizmasından sorumlu kalsitriol ve D vitaminin aktivasyonu gibi hormonal işlevlere de sahiptirler (Hall ve Guyton, 2011).

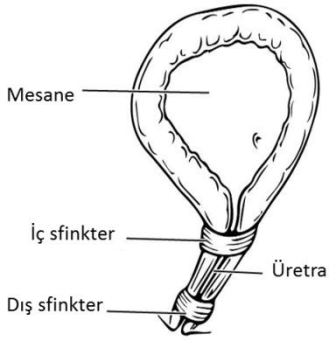
2.3. Mesane Yapı ve Fonksiyonları

Mesane (idrar kesesi), üriner sistemde (idrar yollarında) yer alan organlardan biridir. Pelvisteki kasık simfizinin arkasında yatan ekstraperitoneal kaslı idrar deposudur. Üriner sistem yukarıdan aşağıya doğru sıralandığında sırasıyla böbrek, üreterler, mesane ve üretradan oluşur. Böbrek çok gelişmiş bir filtre sistemidir. Kan böbreğin içerisine girer bu özelleşmiş filtreden geçer, içindeki atık ve zararlı maddeler idrar olarak süzülür geri kalan kan dolaşım sistemine geri döner. Her iki böbrekte üretilen idrar, üreterler adını verdiğimiz sağ ve sol üreter tüpleri ile mesaneye iletilir. Mesanede idrar depolanır ve üretra (idrar yolu) adını verdiğimiz bir tüp vasıtasıyla vücut dışına atılır (Şekil 5) (Baykara, 2011).



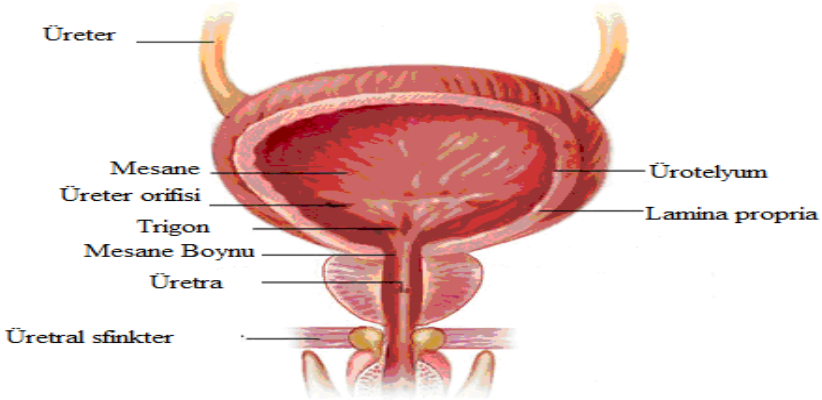
Şekil 5: Mesane yapısı (Baykara, 2011)

Normal bir mesane kas iskelet sistemi, nörolojik ve psikolojik fonksiyonların karmaşık koordinasyonuyla işlev görür ve mesane içeriğinin doldurulması ve boşaltılmasına izin verir. Mesane, kadınlarda pelvik diyaframdan veya erkeklerde prostattan ve obturator internus ve levator ani kaslarından lateral destek alır. Hem erkekte hem de kadında benzer nitelikte olmasına rağmen üretranın farklı olması nedeniyle farklı anatomik özelliğe sahiptir (Şekil 6) (Kingsnorth ve ark., 2000; Walters ve Weber, 2000).

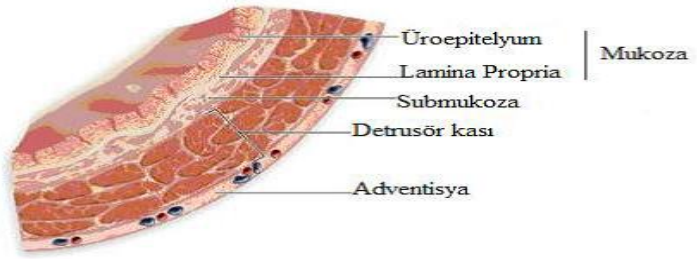


Şekil 6: Dişi mesane, iç sfinkter, dış sfinkter ve üretra (Fowler ve ark., 2008)

İç sfinkter, ayrı bir anatomik varlıktan çok işlevsel bir kavramdır. Mesane iç yüzeyi ürotelyum adı verilen mukoza tabakası ile kaplıdır. Bu katmanın altında "Lamina Propria" tabakası ve bunun da altında yüzeyel ve derin kas tabakası (detrusor) vardır (Şekil 7). Bir ağ gibi kas liflerinin birbirine geçmesi sayesinde küresel yapıya sahip mesane gevşeyerek idrar depolama kapasitesini arttırırken, kasıldığında yüksek basınç sağlayarak idrarın atımını sağlamaktadır. Mesane kapasitesini arttıran kas gevşemesi ve idrarın atımını sağlayan kas kasılmaları, omurga kemiğinin kuyruk sokumu bölgesinden çıkan sakral sinirler ile sağlanmaktadır (Şekil 8) (Baykara, 2011).



Şekil 7: Mesane ve prostatın anatomik yapısı (www.urologyhealth.org)



Şekil 8: Mesanenin katları (Baykara, 2011)

Mesane, mide gibi esnek bir organdır. Tamamen kaslardan oluşmuş esnek duvar yapısına sahiptir. Bu yapı sayesinde böbrekten gelen idrarı uzun süre depolayabilir. Mesane boşaldığı zaman armut şeklini alır. 40-50 ml civarı hacim kaplar. Normal yetişkin mesane idrarla tamamen dolduğunda ise 400-500 ml'lik hacime sahip olur. Mesane belli bir doluluğa ulaştığında beyne mesanenin dolmakta olduğunun uyarısı gönderilir. Genellikle mesane 1/4 kapasiteye ulaştığında ilk uyarı gelmektedir. Genellikle hacim 400 mL'ye ulaştığında uyarılma sonucu mesane dolgunluğunun hissi ve boşalması gerektiği şeklinde algılanır. Bununla birlikte, idrara çıkma,

periferik sinir sisteminin kortikal bastırılması veya dış üretral sfinkterin istemli kasılması ile önlenebilir. Bazen idrar boşaltımı geciktidiğinde 800-900 ml ye çıkan hacime ulaşabilir (Fowler ve ark., 2008). Bu aşamada beyin tarafından mesanenin kasılması baskılanır ve uygun ortam bulunana kadar mesaneden gelen sinyaller kesilir. Mesane dolmaya devam eder. Halen boşaltma fonksiyonu yerine getirilmemişse daha şiddetli bir uyarı ile beyin uyarılır ve boşaltım talebinde bulunulur. Ancak uygun ortam mevcut değilse beyin yine mesaneden gelen sinyalleri bastırabilme özelliğine sahiptir. Beyin, boşaltım için uygun ortamın oluştuğunu düşündüğü zaman mesane kasları kasılarak içerisindeki idrarın boşalmasına olanak verir. Mesanenin dolumu sırasında idrar kaçağını önlemek için iç tıpa ve dış tıpa adı verilen iki adet sfinkter yani tıpa mekanizması mevcuttur. Bu tıpa mekanizmaları hem dolum esnasında idrar kaçağını önler hem de boşaltım esnasında idrarın rahat atılması için mesanenin huni şekline girmesine olanak vererek rahat idrar boşaltmayı sağlar **(**Baykara, 2011).

Mesanenin arteryel temini kısmen obturator arter ve inferior gluteal arterden türetilmiştir. Dişilerde bu uterin arter ve vajinal arter yoluyla yapılır. Mesanenin venöz geri dönüşü, hem anatomik seyir hem de ad olarak damarların paralellik gösterdiği zengin bir damar ağıdır. Mesaneden gelen venöz dönüşün büyük kısmı iç iliyak damara akar (Kingsnorth ve ark., 2000; Walters ve Weber, 2000).

Mesanenin lenfatik drenajı obturator, dış ilyak, internal iliak ve ortak iliak oluşturur ve lenf nodlarına girer. Vücudun herhangi bir bölgesinde olduğu gibi, daha önce yapılan ameliyatlar bölgenin lenfatik çıkışını değiştirebilir. (Kingsnorth ve ark., 2000; Walters ve Weber, 2000).

Bazen dış faktörlere bağlı olarak mesanenin çalışma fonksiyonu bozulabilir. Mesane fonksiyonunda bozulma yapan en önemli etken sistit adını verdiğimiz durumdur. Sistit, mesanenin bakteriyel enfeksiyonudur ve daha çok bayanlarda görülür. Bayanlarda üretra adı verilen idrar yolunun kısa olması dış ortamdaki bakterilerin

erkeklere oranla daha kolay bir şekilde mesane içerisine girmesine ve bakteriyel enfeksiyon meydana gelmesine neden olmaktadır. Erkeklerde mesane enfeksiyonu daha nadir görülür. Prostat büyümesine bağlı olarak ileri yaşlarda idrar kanalındaki tıkanıklıklar nedeniyle idrarın rahat boşalamaması mesane enfeksiyonlarına yol açar. Enfeksiyon dışında mesanede başka hastalıklarda mesane fonksiyonlarında bozulmalara neden olabilirler. İlerleyen yaşla beraber mesanede bu tip hastalıkların görülme sıklığı da artar. Mesane ile ilgili diğer hastalıklar arasında başlıca mesane kanseri, mesane taşları, aşırı aktif mesane sendromu, stres idrar inkontinansı, nörojenik mesane, mesane ekstrofisi (doğuştan mesanenin karın duvarına açık olması), akut idrar retansiyonu (ani idrar yapamama durumu), akut sistit, intersistiyel sistit sayılabilir (Powell, 2016).

2.4. Trombositden Zengin Plazma ve Kullanım Alanları

Trombositler, kemik iliğinde oluşan ve yaklaşık 2 μm çapında megakaryositlerin sitoplazmik parçalarıdır.Trombositler yara iyileşmesini başlatan büyüme faktörlerini, sitokinleri, hemostazda veya doku iyileşmesinde temel bir role sahip 30'dan fazla biyoaktif proteini içerirler (Schliephake, 2002).

Trombositlerin çeşitli maddelerle uyarılması ile örneğin trombinin etkisi ile trombositlerden büyüme faktörleri açığa çıkar (Sunitha ve ark., 2008). Trombositten zengin plazma (TZP) hem yumuşak hem de sert dokunun klinik olarak hızlı bir şekilde iyileşmesini sağladığı son yıllarda en çok üzerinde çalışılan konular arasında yer almıştır. Otolog trombosit jeller, doku için nontoksik olduklarından güvenle kullanılabilirler, kolay bulunabilir ve çabuk hazırlanırlar. Lokal doku gelişimi ve onarımını hızlandırır, vücut tarafından kısa sürede geri emilirler ve ekonomiktirler (Cole ve ark., 2010).

Salgı proteinleri (örn., PDGF, TGF-β vb.) (Kevy ve Jacobson, 2004), histonlar ve karbohidrat yan zincirlerinin eklenmesiyle aktivasyon başlar ve trombositler sahip oldukları granüller aracılığı ile hücre zarına bağlanırlar (Schliephake, 2002**).** Aktif proteinler, mezenkimal kök hücreleri, osteoblastlar, fibroblastlar, endotel hücreleri ve epidermal hücreleri içeren hücre grubuna bağlanarak agonistleri oluştururlar. Bu

agonistler transmembran reseptörlerini bağlar ve daha sonra hücre proliferasyonunu, matris oluşumunu, osteoid üretimini, kollajen sentezini vb. yönlendiren ve böylece doku onarımı ve doku rejenerasyonunu tetikleyen bir gen sekansının ekspresyonuna neden olan bir hücre içi sinyal proteinini aktive eder (Antoniades ve Williams, 1983; Schliephake, 2002; Kevy ve Jacobson, 2004; Marx, 2004; Sunitha ve ark., 2008; Cole ve ark., 2010).

Trombositler tarafından büyüme faktörlerinin aktif salınımı, aktivasyondan sonra 10 dakika içinde başlar ve önceden sentezlenen büyüme faktörlerinin % 95'inden fazlası 1 saat içinde salgılanır (Marx, 2001).

Kemik ve yumuşak doku iyileşmesi için 5 mL sinde 1.000.000 (trombosit / µl) trombosit ihtiva eden TZP'nin kullanılması tavsiye edilmiştir (Marx, 2001). Optimal uyarının meydana geldiği konsantrasyonu belirten çalışmaların sayısı azdır. Rughetti ve ark. trombosit konsantrasyonu ile insan endotel hücrelerinin fonksiyonel aktivitesindeki değişiklikler arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir (Rughetti ve ark., 2008).

Temel olarak TZP otolog kanın belirli bir devirde santrifüj edilmesiyle elde edilmektedir. Trombosit membran bütünlüğünü korumak için antikoagülan olarak sitrat kullanılmaktadır. Çok farklı TZP hazırlama teknikleri bulunmaktadır: 1-Standart kan bankası prosedürleri ile (Aferez ünitelerinde -Tam kan donörlerinden alınan kan ile), 2-Test tüpüne antikoagülan ile alınan 20-60 cc kandan 3-Ticari olarak bulunan otomatik TZP hazırlama cihazları kullanılarak hazırlanabilir (Zimmermann ve ark., 2001).

Klinik olarak hazırlama tekniklerinde genel ortak noktalar şunlardır. Cerrahiden önce ve cerrahi sırasında hastadan alınan kan antikoagülan içeren tüpe alınır ve hemen santrifüj işlemi başlatılır. İlk santrifüj sonrasında kan 3 tabakaya ayrılır. Santrifüj sonrasında en alta kırmızı kan hücreleri, ortada platelet ve beyaz kan hücreleri en üstte ise molekül ağırlığı en düşük asellüler plazma (trombositce az plazma) bulunmaktadır. İkinci aşamada çok farklı protokoller uygulanmakla beraber temelde kırmızı kan hücre tabakası ve asellüler plazma tabakası uzaklaştırılarak sadece beyaz kan hücreleri ve yoğun trombosit içeren 'buffy coat' tabakası elde edilir. Böylece

hazırlanan TZP trombositleri aktive etmek için trombin ve/ veya kalsiyum ile karıştırıldıktan sonra uygulamaya hazır hale getirilir (Pietrzak ve Eppley, 2005).

Standart hücre separatörleri ile TZP hazırlanması işleminde genel olarak bir ünite kan kullanılmaktadır. Hızlı ve yavaş santrifüj teknikleri ile normal trombosit konsantrasyonundan 2 ila 4 kat daha fazla trombosit içeren TZP elde edilebilir. Bunlardan bazıları şunlardır. KAT (Fresenius, Wilmington, DE), Sequestra (Medtronic, Minneapolis, MN), Haemonetics Cell Saver 5 (Haemonetics Corp., Braintree, MA)(Kevy ve Jacobso, 2004; Hannon ve ark., 1999). Ayrıca 6 ml den, 45-60 ml'e kadar TZP hazırlayabilen, küçük kompakt ofis sistemleri de bulunmaktadır. Bunlardan bazıları ise şunlardır; GPS (Cell factor Technologies, Inc., Warsaw. IN), PCCS (Implant Innovations, Inc., Palm Beach Gardens.FL), the Symphony II (DePuy, Warsaw, IN), the SmartPReP (Harvest Technologies Corp, Norwell, MA), and the Magellan (Medtronic, Minneapolis, MN).

Bu sistemlerden elde edilen trombosit konsantrasyonu değişmekle birlikte elde edilen TZP'lerdeki trombosit konsantrasyonu normalin 2 ila 8 katı arasında olduğu bildirilmiştir (Epply ve ark., 2006). Standart laboratuar teknikleri ile de TZP elde edilebilmesine rağmen, işlem özel dikkat gerektirmekte, genel olarak iki santrifüj işlemi ve birden fazla transfer gerektirdiğinden sterilitenin sağlanması zor olabilmektedir. TZP hazırlandıktan sonra 8 saat koagüle olmadan kalabilmektedir. Daha öncede belirtildiği gibi TZP içindeki alfa granüllerden büyüme faktörlerin ve proteinlerin salınması için aktive olması gerekmektedir. Bunun içinde değişik teknikler tarif edilmekte olup kalsiyum ve sığır trombin karışımı kullanılmaktadır (Conley, 2004; Pietrzak ve Eppley, 2005).

TZP'nin kullanım alanları arasında nöroşirurji (Buza, 2005), oral ve maksillofasiyal cerrahi (Petrungaro, 2001; Lecovic ve ark., 2003; Carlson ve Roach, 2002; Robiony ve ark., 2002), otorinolaringoloji (Buza, 2005)(Erişim tarihi:12.05.2005 http://www.heartpumpur.com/prp_clinical_applications.htm) plastik cerrahi, kronik diabetik ülserlerin tedavisi (Shukla ve ark., 2001; Man ve ark., 2002; Aminian ve ark., 2005)(.http://www.ams.ac.ir/AIM/0032/aminian0032.html, Erişim tarihi:9 Ocak 2014), üroloji (Buza, 2005), orto/spinal cerrahi (Buza, 2005) ve veteriner

cerrahi(Carter ve ark., 2003) yer almaktadır. Bu açıdan TZP'nin spinal kord yaralanmasında yaralı olabileceği beklenmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler, Araç ve Gereçler

Çalışmamızda kullandığımız kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck, Sigma-Aldrich ve Fluka firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Markaları

Çalışmamızda kullandığımız cihazlar Tablo 1 de görülmektedir.

Tablo 1: Kullanılan cihazlar ve markaları

Spektrofotometre	RAY LEIGH UV 1800
Santrifüj	HERAEUS-SEPATECH LABOFUGE 200
Santrifüj	NÜVE NF 200
Mikro santrifüj	HEIDOLPH
Vortex	JANKE & KUNKEL, IKA LABOR TECHNIK
Manyetik karıştırıcılar	JANKE & KUNKEL, IKA RH BASIC 2
Etüv	NÜVE EN 500
Su banyosu (37^{o} C)	BOEHRINGER - MANNHEIM
Su banyosu (100^{o} C)	NUVE, BT 400
Elektronik terazi	SHIMADZU AUX 220
Distile-deiyonize su cihazları	PURELAB OPTION - Q
Otomatik pipetler	GILSON
pH metre	710 A pH/ISE METER
Buz yapma makinası	KİNG
Buzdolabı	ARÇELİK
Homojenizatör	JANKE & KUNKEL ULTRA TURRAXT 25

3.3. Kullanılan Deney Hayvanları

Tüm deney gruplarının beslenmeleri oral yolla gerçekleştirildi. Hayvanlar sürekli kafeslerinde tutuldular. Deney süresi boyunca beslenme su ihtiyaçları günlük olarak karşılandığı kontrolü laboratuvar şartlarında muhafaza edildiler. Su ihtiyaçları taze çeşme suyundan karşılandı. Beslenmeleri için İstanbul Çobançeşme Yem Sanayi Fabrikalarında üretilen ve içeriği aşağıda belirtilen normal pellet tipi sıçan yemi kullanıldı.

% 24 protein, % 7 selüloz, %8 ham kül, %2 HCl'de çözünmeyen kül, % 1- 2,8 kalsiyum, % 0,9 fosfor, % 0,5 - 0,7 sodyum, % 1 sodyum klorür, % 0,6 metiyonin ve % 1 lizin içeren standart sıçan yemi ve içme suyu ad libitum olarak verilmiştir. Sağladığı metabolik enerji: 2650 kcal/kg

3.4. Trombositden Zengin Plazmanın (TZP) Hazırlanması

Omurilik hasarı sonrası deneklere uygulanacak TZP, trombosit yönünden zenginleştirilmiş plazmadır. Bu plazma antikoagülan ile alınan kanın santrifüj edilmesi ile elde edilir.

-Sodyum sitratlı tüplere 1'er ml sıçan kalp kanları alınır, Trombosit sayımı yapılır.

- Kan oda sıcaklığında 20 dk inkübe edilir ve daha sonra 1000 rpm'de 5 dak santrifuj edilerek TZP (trombositce zengin plazma) elde edilir (üst faz). Üst faz alınarak 6300 rpm de 2 dak daha santrifuj edilerek plazma trombositçe daha da zenginleştirilir. Trombosit sayımı yapılır. Trombosit sayısı yaklaşık 2300 x 10^9/L ye ayarlanır.

- Trombositler alındıktan sonra kalan kan 3000 rpm'de 10 dk santrifuj edilerek (TFP) (trombositçe fakir plazma) elde edilir. TFP trombosit sayısını seyreltmede kullanılır.

3.5. Gruplar ve Deney Protokolü

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Hayvan Etik kurulu onayı (Karar No: 70.2015.mar) alınarak yapıldı.

Çalışmada denek hayvanı olarak MÜ DEHAMER den temin edilen yaklaşık 8 haftalık, 250-350 gr ağırlığında toplam 21 tane Sprague Dawly erkek sıçanlar kullanıldı. Deney süresince 20 °C ±2, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamı ayarlanmış laboratuar koşullarında yaşayan sıçanlar 3 gruba ayrıldı.

1- Kontrol (K) grup (n=7) : Taklit (sham) operasyon yapılacak ve işlemden hemen sonra başlamak üzere bir hafta süresince 1 ml/kg taşıyıcı (vehicle, serum fizyolojik; SF) i.p. olarak uygulandı.

2- Spinal kord hasarlı (SKH) grup (n=7): Aşağıdaki yöntem ile spinal kord hasarı oluşturulan hayvanlara bir hafta süresince 1 ml/kg taşıyıcı (vehicle, serum fizyolojik; SF) i.p. olarak uygulandı.

3- Spinal kord hasarı ve TZP uygulanacak grup (n=7): Spinal kord hasarı oluşturulan hayvanlara hasarlı bölgeye TZP (10 µL) uygulandı..

3.5.1. Spinal kord hasarının (SKH) oluşturulması

100 mg/kg. ip. ketamin ve 1 mg./kg. ip. klorpromazin anestezisi uygulanacak sıçanlar ısı kontrollü bir düzlem üzerine prone pozisyona getirildi. T10 seviyesinde posterior orta hat insizyonu ile açıldı paravertebral adeleler sıyrıldı ve total laminektomi uygulandı. Spinal kord hasarı oluşturmak için ağırlık düşürme modeli uygulandı (Allen, 1914). Bu yöntemde 10 cm yükseklikten 10 g. ağırlığında 3 mm. çapında bir paslanmaz çelik omurilik üzerine düşürülerek omurilik travması oluşturuldu. Cerrahi insizyon steril olarak kapatıldı. Cerrahi sonrası rutin yara bakımı ve mesane bakımı yapıldı. SKH oluşturulduktan 1 hafta sonra sıçanlar dekapite edilirler ve spinal kord, böbrek ve mesane dokuları çıkarıldı. Alınan dokular homojenize edildi. Doku homojenatlarında total protein (Lowry ve ark., 1986), glutatyon (GSH) (Beutler, 1975), lipid peroksidasyon (LPO)(Ledwozyw ve ark., 1986), siyalik asit (SA) (Warren, 1959), nitrik oksit (NO) (Miranda ve ark., 2001)

düzeyleri ve superoksid dismutaz (SOD) (Mylorie ve ark., 1986), katalaz (KAT) (Aebi, 1974), glutatyon-S-transferaz (GST) (Habig ve Jacoby, 1981), miyeloperoksidaz (MPO) (Hillegas ve ark., 1990) enzim aktiviteleri ve doku faktörü aktivitesi (TF) (Ingram ve Hills, 1976) tayin edildi.

3.6. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Alınan dokularr ayrı ayrı serum fizyolojik ile yıkanıp kan ve damarlarından temizlendikten sonra bir süzgeç kağıdı ile kurutularak tartıldı ve tartım kaydedildi. Bir makas yardımıyla küçük parçalara ayırıldı. Gerekli miktarda serum fizyolojik ile cam homojenizatörde çok çabuk olarak ve her biri eşit sürede homojenize edildi. Hazırlanan % 10 g'lık her doku homojenatı ayrı ayrı küçük kısımlara ayrılarak eppendorf tüpleri içinde, gerekli bilgiler üzerlerine yazılarak derin dondurucuda çalışılacağı güne kadar saklandı. Tüm işlemler soğukta yapıldı. Deney yapılacağı vakit dondurucudan çıkarılır, önce +4 ^{0}C de yaklaşık bir saat, sonra oda sıcaklığında buz üzerinde bekletilerek çözünmesi sağlanır. Homojenat ya direkt olarak kullanılır ya da 4000 rpm'de 10 dk. soğukta santrifüj eldildikten sonra süpernatantla tayin yapılır.

% 10 gramlık doku homojenatı için gerekli olan serum fizyolojik hacmi;

$$\text{Serum fizyolojik hacmi (mL)} = \frac{\text{Nemli doku tartımı (mg)}}{100}$$ formülü ile hesaplanır.

Doku homojenatlarında doku hasar parametreleri (MDA, MPO, SA, NO, DF) ve doku antioksidan ve oksidan paramatreler (GSH, SOD, KAT, GST) tayin edildi.

3.6.1. Doku homojenatlarında doku hasar parametreleri için kullanılan tayin yöntemleri

3.6.1.1. Lipid peroksidasyonu tayini

Prensip: LPO ürünü olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembemsi rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Ledwozyw ve ark., 1986).

Gerekli Çözeltiler:

- **TBA çözeltisi (0.047 M):**500 mg TBA ile 6 mL 1 M'lık NaOH ile karıştırılır. Üzerine 69 ml distile su ilave edilir.
- **NaOH (1M):** 4 g NaOH tartılır, biraz distile suda çözülür, hacmi 100 mL' ye distile su ile tamamlanır.
- **Triklorasetik asit (TCA) çözeltisi (1.22 M, 0.6 M HCI):** 20 mL TCA (%100 g TCA) ile 5 mL HCl (% 37 g'lık, d=1.19 g/dl'lik HCl) karıştırılır ve hacmi distile su ile 100 mL' ye tamamlanır.
- **n-butanol:** Orijinal şişesinden kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

İki tane deney tübü alınarak numune ve kör olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Süpernatant	0.25 mL	-
Distile su	-	0.25 mL
TCA	1.25 mL	1.25 mL
Vortekste karıştırılır ve 15 dk bekletilir.		
TBA	0.75 mL	0.75 mL
Vorteks ile karıştırılır ve 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edilir.		
n-butanol	2 mL	2 mL

İlave edilir. Vortekslenir ve 10 dk. 3000 rpm'de santrifüj edilir. Butanol fazı alınarak 532 nm'de köre karşı absorbanslar kaydedilir. MDA için saptanmış ekstinksiyon kat sayısı ($1.56.10^5$ $M^{-1}cm^{-1}$) kullanılarak sonuçlar hesaplanır.

3.6.1.2. Miyeloperoksidaz aktivitesi tayini

Prensip: MPO enzim aktivitesi MPO aracılı H_2O_2 ile yapılan oksidasyon için substrat olarak 4-aminoantipirin (4-AAP) fenol solüsyonu kullanılarak yapılır (Wei ve Frenkel, 1991).

Gerekli çözeltiler

- **25 mM 4-AAP:** 0.05 g 4-AAP tartılır bir miktar % 2'lik fenol çözeltisinde çözülür ve aynı çözelti ile 10 mL'ye tamamlanır.
- **50 mM K_2HPO_4 (pH: 6):** 8.709g K_2HPO_4 tartılır biraz distile su ile çözülür, pH 6 olacak şekilde ayarlanıp hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır.
- **% 1'lik HETAB (Hekzadesiltrimetil-amonyum bromid):** 2 g HETAB bir miktar 50 mM K_2HPO_4 ile çözülür pH 6'ya ayarlanır ve hacmi 50 mM K_2HPO_4 ile 200 mL'ye tamamlanır.
- **1.7 mM H_2O_2:** % 30'luk H_2O_2'den 0.017 mL çekilir distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı

%10 g'lık olacak şekilde SF ile homojenize edilen doku 1 gece önce %1'lik HETAB ile 1:1 seyreltilir. Bir gece -20 ^{0}C'de dondurulur. Ertesi sabah +4'de 1 saat bekletilir. 5 dk 11000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant ile çalışılır. İki tane deney tübü alınarak numune ve kör olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	**Kör**
4-AAP/fenol	650 µL	650 µL
H_2O_2	750 µL	750 µL
Vortekslenir, 3'30'' dk beklenir.		
Süpernatant	100 µL	-
Distile su	-	100 µL

Vorteks ile karıştır. 5 dk beklenir. 510 nm'de köre karşı okunur. Sonuçlar U/g doku cinsinden hesaplanır.

3.6.1.3. Siyalik asit tayini

Prensip: Siyalik asit, periyodik asid oksidayonuna uğrayarak, β-formilpürivik asit oluşur. Bu bileşik, tiyobarbütirik asid ile reaksiyonlaşarak, 549 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir bileşik oluşturur. Bu ürün stabil değildir, bu nedenle siklohegzanon fazına çekilir. Oluşan rengin şiddeti 549 nm'de maksimum absorbansa sahiptir (Warren, 1959).

Gerekli Çözeltiler:

- **0.1 N H_2SO_4:** 1 litrelik balon jojeye bir miktar distile su ilave ettikten sonra üzerine 2.71 mL derişik sülfürik asid konur ve hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanır.
- **0.2 M sodyum metaperiyodat (9 M fosforik asid içerisinde):** 250 mL'lik balon jojeye belli bir miktar distile su ilave edilir. Suyun üzerine 151.7 mL fosforik asid ilave edilip karıştırılır. Bu karışımın üzerine 10.695 g sodyum metaperiyodat ilave edilir, karıştırılarak çözünmesi sağlanır. Hacim distile su ile 250 mL'ye tamamlanır.
- **0.5 M sodyum sülfat (0.1 N H_2SO_4 içerisinde):** 500 ml'lik balon jojeye 35.51 g sodyum sülfat bir miktar 0.1 N H_2SO_4 içerisinde çözüldükten sonra hacim 500 mL'ye sülfürik asidle tamamlanır.
- **%10 g sodyum arsenit (0.1 M sülfürik asidde hazırlanan 0.5 M sodyum sülfat içerisinde):** l0 g sodyum arsenit tartılır bir miktar 0.5 M sodyum sülfat içerisinde çözülür, hacim 0.5 M sodyum sülfat ile 100 mL'ye tamamlanır.
- **% 0.6 g TBA (0.1N sülfürik asitte hazırlanan 0.5 M sodyum sülfat içerisinde):** 0.6 g TBA tartılır bir miktar 0.5 M sodyum sülfat içerisinde çözülür, hacim 0.5 Msodyum sülfat ile 100 mL'ye tamamlanır (taze hazırlanır).
- **Siklohegzanon:** Direk olarak orijinal şişesinden kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

% 10 gramlık doku homojenatı 10 dk. 4000 rpm'de santrifüj edilir ve süpernatant alınır. 180 µl 0,1 N H_2SO_4+ 20 µL süpernatant karıştırılır, 1 saat 80°C'de hidroliz edilir. Numune, standart ve kör olmak üzere 3 deney tüpü alınır. Aşağıdaki gibi çalışılır.

	Kör	Standart(St)	Numune (N)
Distile su	0.2 mL	-	-
Standart	-	0.2 mL	-
Süpernatant	-	-	0.2 mL
0.2 M Sodyummeta periyodat	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
20 dakika oda sıcaklığında beklenir.			
% 10 g Sodyum Arsenit	1 mL	1 mL	1 mL
Meydana gelen sarı renk kaboluncaya kadar çalkalanır.			
% 0.6 g TBA	3 mL	3 mL	3 mL
100 °C'lik su banyosunda 15 dakika bekletilir. Bu süre sonunda tüpler su banyosundan alınarak oda ısısına soğutulur.			
Siklohegzanon	4.3 mL	4.3 mL	4.3 mL

İlave edilir. Vortekslenir ve 10 dk. 3000 rpm'de santrifüj edilir. Siklohekzanon fazı alınarak 549 nm de köre karşı absorbanslar kaydedilir. Standart grafiği yardımıyla süpernatantın SA değeri (mg / g doku) cinsinden hesaplanır.

3.6.1.4. Nitrik oksit tayini

Nitrat, vanadyum (III) klorür ile nitrite indirgenir. Nitritle sülfanilamidin asidik ortamda N-(1-Naftil) etilendiamine dihidroklorür ile reaksiyon sonucu kompleks diazonyum bileşiği oluşur. Oluşan bu renkli kompleks 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür (Miranda ve ark., 2001).

Gerekli çözeltiler

- **0.3 M NaOH çözeltisi:** 0.6 g NaOH tartılır, bir miktar distile suda çözülür ve üzeri distile su ile 50 mL'ye tamamlanır.
- **% 10'luk $ZnSO_4$:** 5 g $ZnSO_4$ ya da 8,9 g $ZnSO_4.7\ H_2O$ tartılır bir miktar distile suda çözülür ve üzeri distile su ile 50 mL tamamlanır.
- **1 M HCl:** 4.2 mL HCl çekilir ve üzeri distile su ile 50 mL tamamlanır.

- **VCl_3:** 0.4 g VCl_3 bir miktar 1 M HCl de çözülür ve üzeri aynı çözelti ile 5 ml'ye tamamlanır.
- **% 5'lik HCl:** 2.86 mL %37'lik HCl çekilir ve üzeri distile su ile 25 mL'ye tamamlanır.
- **% 2'lik SULF(Sülfanilamid):** 0,5 g sülfanilamid tartlır, 25 mL % 5'lik HCl içerisinde çözülür.
- **% 0.1'lik NEDD (N-(1-Naftil) etilendiamine dihidroklorür):** 0.025 g NEDD tartılır. Bir miktar deiyonize suda çözülür ve üzeri deiyonize su ile 25 mL'ye tamamlanır.

Deneyin yapılışı

Doku homojenatı 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. 0.3 mL süpernatant alınır, üzerine 0.3 mL 0.3 M NaOH ilave edilir. Oda sıcaklığında 5 dk beklenir. 0.3 mL % 10'luk $ZnSO_4$ ilave edilir. Vortekslenir. +4'de 14000 rpm'de 5 dk santrifüj edilir. Üst faz alınır ve +4'de 14000 rpm'de 5 dk santrifüj edilir.

İki adet deney tüpü alınır, kör ve numune olarak işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Deprotenize Sıvı	0.3 mL	-
Distile Su	-	0.6 mL
VCl_3	0.3 mL	0.3 mL
SULF	0.15 mL	-
NEDD	0.15 mL	-
30 dk 37 °C'de etüvde inkübe edilir.		

Köre karşı 540 nm'de absorbans kaydedilir. Sonuçlar 53000 M^{-1} /cm $^{-1}$ ekstinsiyon katsayısı nmol/g doku cinsinden hesaplanır.

3.6.1.5. Doku faktörü aktivitesi tayini

Prensip: Doku faktörü aktivitesi sağlıklı kişilerden alınan plazma kullanarak Quick metoduna göre tespit edilir (Ingram ve Hills, 1976). Doku faktörü kaynağı olarak

doku homojenatı kullanılır. $CaCl_2$ ilavesinden sonra fibrin oluşumu için geçen süre tayin edilir. Aktivite süre ile ters orantılı olarak değişir.

Gerekli çözeltiler

- **Sodyum sitrat çözeltisi (%3.8 g):** 3.8 g sodyum sitrat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.
- **Plazma:** Sağlıklı kişiden sitratlı kan (9mL kan + 1 mL % 3.8g'lık sitrat) alınarak plazması ayrılır.
- **Stok kalsiyum klorür çözeltisi (0.2 M):** 2.22 g $CaCl_2$ biraz distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.
- **Seyreltik kalsiyum klorür çözeltisi (0.02 M):** 1 mL stok kalsiyum klorür çözeltisi üzerine 9 mL distile su konur ve karıştırılır. 37 °C detutulur (taze hazırlanır).
- **Deneyin Yapılışı**

37 °C'lik su banyosunda küçük bir deney tüpünde;

Doku homojenatı	0.1 mL
2 dk inkübe edilir.	
Plazma	0.1 mL
Karıştırılır 30 sn inkübe edilir	
0,02 M'lık $CaCl_2$ çözeltisi	0.1 mL
Karıştırılır, pıhtı oluşumu için geçen süre kronometre ile tayin edilir.	

3.6.2. Doku antioksidan-oksidan parametreleri için kullanılan tayin yöntemleri

3.6.2.1. Glutatyon tayini

Prensip: Elmann ayıracı, 5-5' ditiyobis 1-2 nitro benzoikasid (DTNB) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu olusan renkli ürün spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Beutler, 1975).

Gerekli Çözeltiler:

- **Sodyum sitrat çözeltisi (% 1 g):** 1 g sodyum sitrat tartılır, biraz distile suda çözülerek hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

- **Elmann ayıracı (%40 mg DTNB):** 40 mg DTNB (5-5' ditiyobis 1-2 nitrobenzoik asit) tartılır, biraz sodyum sitrat çözeltisinde (% 1 g) çözülür. Hacmi %1g'lık sodyum sitrat çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlanır.
- **Proteinsizleştirme çözeltisi:** 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g etilen diamin tetra asetik asit sodyum tuzu (EDTA-Na), 30 g sodyum klorür ayrı ayrı biraz distile suda çözülür. Hepsi birleştirilir ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.
- **Disodyum fosfat çözeltisi (0.3 M):** 4.26 g Na_2HPO_4 veya (5.34 g $Na_2HPO_4.2H_2O$) biraz distile suda çözülür ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenatı 10 dk. 4000 rpm'de santrifüj edilir ve süpernatant alınır ve bir deney tüpüne 0.2 mL konulur. Vorteks ile karıştırılır. Üzerine 0.3 mL proteinsizleştirme çözeltisinden ilave edilir. Vorteksle karıştırılır. 5 dk. oda sıcaklığında bekletilir. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Çökelti atılır. Süpernatant alınır.

İki tane deney tübü alınır. Numune ve kör olarak işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Distile su	-	0.2 mL
Süpernatant	0.2 mL	-
Na_2HPO_4	0.8 mL	0.8 mL
Elmann ayıracı	0.1 mL	0.1 mL

Tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5' bekletilir. Köre karşı 412 nm'de absorbanslar kaydedilir. Sonuçlar seyreltme faktörü ve oluşan sarı renkli ürünün 412 nm'de ekstinksiyon katsayısı ($13600/M^{-1}cm^{-1}$) kullanılarak hesaplanır.

3.6.2.2. Glutatyon-S-Transferaz aktivite tayini

Prensip: GST aktivitesi tayini, GSH ve 1-kloro-2,4-dinitro-benzenin (CDNB) konjugasyonu ile oluşan ürünün, 340 nm'deki absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanır (Habig ve Jacoby, 1981).

Gerekli çözeltiler

- **Sodyum fosfat tamponu (0.2 M pH 6,5):** 0.534g $Na_2HPO_4.2H_2O$ ve 2.3 g KH_2PO_4 ayrı ayrı biraz distile suda çözülür ve birbirine karıştırılır ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanır (hacim 100 ml ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 6.5 e ayarlanır) (2^oC de saklanır).
- **Glutatyon (GSH) (60 mM):** 1.84 g glutatyon biraz distile suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye tamamlanır (taze hazırlanır).
- **1-klor-2,4-dinitro-benzen (CDNB) (60 mM):** Absolü etanolde taze hazırlanır. 1.22g CDNB tartılır ve biraz etanolde çözülür. Sonra hacmi 100 mL'ye tamamlanır (taze hazırlanır).

Deneyin Yapılışı:

% 10 gramlık doku homojentı 10 dk. 4000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınır ve 1/300 oranında serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır.

Numune ve kör olarak işaretlenmiş iki tüp alınır ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	**Kör**
Dilue süpernatant	0.5 mL	--
SF veya Distile Su	--	0.5 mL
Fosfat Tamponu	1.5 mL	1.5 mL
GSH çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
CDNB çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
Distile su	0.90 mL	0.90 mL
Toplam Hacim	3 mL	3 mL

Karıştırılır. 3 dakika süre (0, 1, 2, 3. dakikalarda) ile karışımın 340 nm'de (25 ^{o}C) absorbansları izlenir ve kaydedilir. Absorbans artışı hesaplanır. Glutatyon ve CDNB'nin konjugasyonu sonucu oluşan ürün için saptanmış olan ekstrinksiyon katsayısı (9.6 mM^{-1} x cm^{-1}) kullanılarak sonuçlar hesaplanır. Enzimsel konjugasyon sonucundan, enzimsel olmayan konjugasyon değerleri çıkarılır. Sonuçlar U/g doku cinsinden hesaplanır.

3.6.2.3. Süperoksid dismutaz aktivite tayini

Prensip: SOD aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin foto-oksidasyon hızını arttırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavinin floresans ışığı etkisiyle oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'un etkisiyle hidrojen peroksite dönüşür. H_2O_2 ise o-dianisidin ile reaksiyona girerek renkli ürün oluşturur. SOD aktivitesi ne kadarçok ise renkli ürün oluşumu da o kadar fazla olur. Oluşan renkli ürünün absorbansı 460 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Mylorie ve ark., 1986).

Gerekli çözeltiler

- **Fosfat tamponu (50 mM, pH 7.8):** 0.136 g KH_2PO_4 ve 0.697 g K_2HPO_4 tartılıp ayrı ayrı biraz distile su içinde çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır. (Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7.8'e ayarlanır, 2°C de saklanır).
- **Fosfat tamponu + 0,1 mM'lık Na-EDTA:** 0.0037 g Na-EDTA tartılır, biraz 50mM'lık fosfat tamponunda çözülür ve hacmi 50 mM'lık fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlanır.
- **Potasyum fosfat tamponu (10 mM, pH 7.5):** 0.041 g KH_2PO_4 ve 0.122 g K_2HPO_4 tartılıp ayrı ayrı biraz distile su içinde çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile100 ml'ye tamamlanır. (Hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7.5'e ayarlanır, 2°C de saklanır).
- **Riboflavin (0.2 mM):** 7.5 mg riboflavin 100 mL potasyum fosfat tamponunda (10mM'lık, pH.,5) çözülür.
- **o- dianisin (6 mM):** 19 mg o-dianisin 10 mL distile suda çözülür.

- **SOD (120 IU/ml) stok standardı:**Liyofilize SOD standardı 120 IU/mL olacak şekilde soğuk distile su ileçözülür. Daha sonra bu stok standartdan uygun hacimler alınarak deney ortamında 3, 6, 9, 12 unite SOD olması sağlanır.

Deneyin Yapılışı:

% 10 gramlık doku homojentı 10 dk. 3000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınarak çalışılır. Numune, standart ve kör olmak üzere 3 deney tüpü alınır.

	Numune	**St 3U**	**St 6U**	**St 9U**	**St 12U**	**Kör**
Fosfat tamponu (pH 7.8)	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL
o- dianisin	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Distile su	-	0.075 mL	0.05 mL	0.025 mL	-	0.1 mL
Stok standardı (120 IU/ml)	-	0.025 mL	0.05 mL	0.075 mL	0.1 mL	-
Süpernatant	0.1 mL	-	-	-	-	-

Her tüpe 30 sn. ara ile 0.2 mL riboflavin konur, karıştırılır. 460 nm'de absorbansı okunur. Sonra tüpler oda sıcaklığında 20 W Floresans lamba bulunan kutu içinde 8 dk. inkübe edilir. 460 nm'de absorbansı okunur. Not: Lamba 20 dk. önce açılır ve ısınması sağlanır. Standart grafiği yardımıyla yapılan seyreltmeler göz önüne alınarak süpernatantın SOD aktivitesi U SOD/g doku.dk cinsinden hesaplanır.

3.6.2.4. Katalaz aktivite tayini

Prensip: Katalaz enzimi; H_2O_2'nin, H_2O'ya dönüşüm reaksiyonunu katalizler. Bu dönüşüm 240 nm'de absorbansın azalması ile takip edilebilir. 1 dk. da absorbanstaki azalma katalaz aktivitesi ile ilgilidir (Aebi, 1974).

Gerekli çözeltiler

- **Fosfat tamponu (50 mM, pH 7.0): a)** 6.81 g KH_2PO_4 ve **b)** 8.90 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ tartılıp ayrı ayrı biraz distile suda çözüldükten sonra hacimleri ayrı ayrı distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır. Kullanılacağı vakit a'dan 1 hacim b'den 1.5 hacim alınarak karıştırılır (pH 7.0 olmalı) (2ºC de saklanır) (fosfat tamponu bakteriyal kontaminasyon olmadığı sürece stabildir, kullanılabilir)
- **H_2O_2 çözeltisi (30 mM) + Fosfat tamponu:** Yoğunluğu d=1.11 g/mL olan %30 g'lık H_2O_2 çözeltisinden 0.31 mL alınır ve 50 mM'lık fosfat tamponu (pH 7.0) ile 100 mL'ye seyreltilir (taze hazırlanır).
- **Doku homojenatı:** Doku serum fizyolojik ile homojenize edilir. Gerekirse doku serum fizyolojik ile seyreltilebilir. Ön denemelerle dokunun nekadar seyreltileceği önceden tespit edilmelidir.

Deneyin Yapılışı:

% 10 gramlık doku homojentı 10 dk. 4000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınır ve 1/10, 1/20 veya 1/50 oranında serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. süpernatant dilüe edildikten sonra 5-10 dakika içinde mutlaka çalışılmalıdır.

Numune ve kör olarak işaretlenmiş 2 ayrı deney tüpü alınır. Aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	**Kör**
Fosfat tamponu	-	0.2 mL
Dilue süpernatant	0.4 mL	0.4 mL
H_2O_2 çözeltisi + fosfat tamponu	0.2 mL	--

İlave edilir ve karıştırılır. 1 dk. sonra 240 nm de absorbansları okunarak kaydedilir. Bu deney için ekstinksiyon katsayısı 0,004 (0,00394) mM^{-1}/ mm^{-1} göz önüne alınarak hesaplanır.

3.6.2.5.Protein tayini

Prensip: Lowry ve ark. yöntemine göre yapılan bu metodda önce proteinler alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokulur. Daha sonra fosfomolibdik - fosfotungstik asit reaktifi (folin reaktifi) ile indirgenir. Oluşan mavi rengin şiddeti spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Oluşan mavi rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile orantılıdır (Lowry ve ark., 1951).

Gerekli Çözeltiler:

- **A çözeltisi:** Sodyum karbonat çözeltisi (% 2 g, 0.1N NaOH'teki); 0.4 g NaOH biraz suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır. 2 g sodyum karbonat hazırlanan 0.1 N NaOH çözeltisinde çözülür ve hacmi 100 mL'ye 0.1N NaOH çözeltisi ile tamamlanır.
- **Bakır sülfat çözeltisi (% 1 g):** 1 g bakır sülfat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.
- **Sodyum potasyum tartarat çözeltisi (% 2 g):** 2 g sodyum potasyum tartarat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.
- **B çözeltisi:** %1 g lik Bakır sülfat çözeltisi ile % 2 g lık sodyum potasyum tartarat çözeltisi eşit hacimde (1/1) karıştırılarak kullanılır (kullanılacağı zaman taze hazırlanır).
- **C çözeltisi:** 50 mL A çözeltisi ve 1 mL B çözeltisi karıştırılarak kullanılır. (Kullanılacağı zaman taze hazırlanır.)
- **Folin çözeltisi:** 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat.$2H_2O$, 50 mL % 85 g lik fosforik asid, 100 mL derişik HCl ve 700 mL distile su bir balona konularak 10 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Soğutulur. Üzerine 150 g $LiSO_4$ ilave edilip, geri soğutucu altında 15 dk daha kaynatılır. Soğuduktan sonra, 5-6 damla brom katılır. (Çözelti bozuksa renk siyahlaşır, bu durumda

çözelti tekrar hazırlanır, bozuk değilse renk sarı yeşil olur.) Çözelti distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır ve kullanılır. Koyu renkli şişede saklanır, uzun süre dayanır.

- **Serum fizyolojik (% 0.9 g NaCI):** 0.9 g NaCl biraz suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlanır.
- **Protein stok standart çözeltisi (%100 mg'lık albumin çözeltisi):** 100 mg albumin biraz serum fizyolojik de çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye serum fizyolojik ile tamamlanır.
- **Protein çalışma standart çözeltileri:** Stok çözeltiden uygun hacimler alınarak % 5, 15, 20 mg albumin ihtiva edecek şekilde serum fizyolojik ile seyreltilerek hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

%10 g'lık doku homojenatı 10 dk. 4000 rpm'de santrifüj edilir ve süpernatant alınır. 5 deney tübü alınarak numune (N), standart 1 (St1), standart 2 (St2), standart 3 (St3) ve kör (K) olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune (N)	St1 % 5 mg Albumin	St2 % 10 mg Albumin	St3 % 15 mg Albumin	Kör (K)
Albumin (%100mg)	-	25 µL	50 µL	75 µL	-
Doku homojenatı (veya süpernatanat)	10 µL	-	-	-	-
Serum fizyolojik	490 µL	475 µL	450 µL	425 µL	0.5 mL
Toplam hacim	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Vortekste karıştırılır.					
C çözeltisi	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Vortekste iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.					
Folin ayıracı	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL

Vortekste iyice karıştırılır, oda sıcaklığında 30 dk. bekletilir. 30 dk. sonunda 500 nm de köre karşı absorbanslar kaydedilir. Standart grafiği çizilir. Doku protein miktarı (mg Protein/g doku) cinsinden hesaplanır.

3.6.3. İstatiksel Değerlendirme

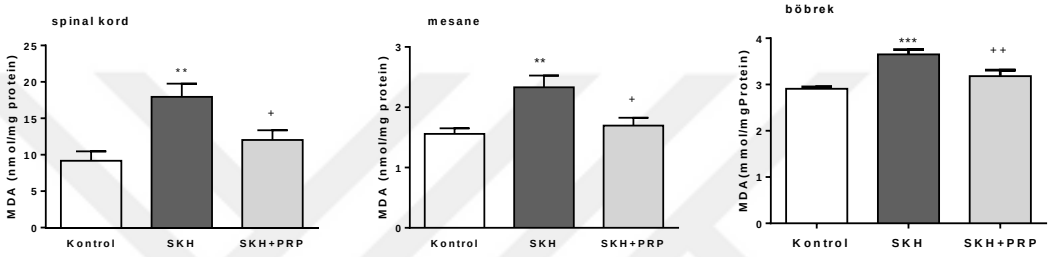
Çalışmanın biyoistatistiksel analizinde Graphpad Prism 6.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Ca, ABD) programı kullanılmıştır. Veriler ortalama ± standart hata olarak tanımlanmıştır. Çoklu grupları karşılaştırmada ANOVA varyans analizi, gruplararası ikili karşılaştırmalar için de Tukey testi kullanılmıştır. $P < 0,05$'ten küçük değerler anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Doku Hasar Parametreleri (MDA, MPO, SA, NO, DF)

4.1.1. Lipid peroksidasyon sonuçları (MDA sonuçları)

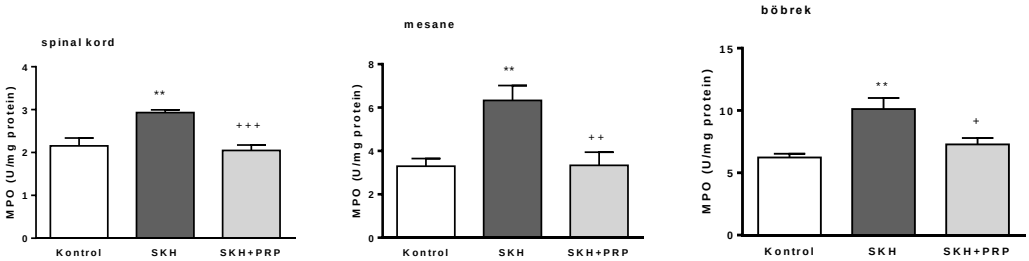
Spinal kord, mesane ve böbrek dokularında lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA değerleri SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise MDA düzeyleri SKH grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 9).



Şekil 9: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait lipid peroksidasyon sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. MDA: Malodialdehit, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. **p<0,01, ***p<0.001 kontrol grubuna göre anlamlı, +p<0,05, ++p<0,01 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.1.2. Miyeloperoksidaz aktivitesi sonuçları

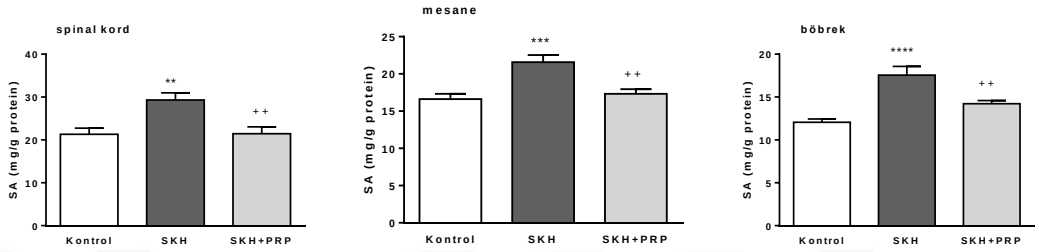
Spinal kord, mesane ve böbrek dokularında MPO aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise MPO aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 10).



Şekil 10: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait MPO sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. MPO: Miyeloperoksidaz, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. **p<0,01 kontrol grubuna göre anlamlı, +p<0,05, ++p<0,01, +++p<0,001 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.1.3. Siyalik asit sonuçları

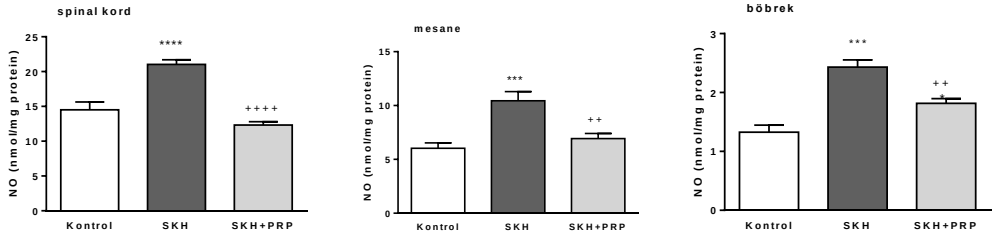
Spinal kord, mesane ve böbrek dokularında SA değerleri SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise SA değerleri SKH grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 11).



Şekil 11: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait SA sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. SA: Siyalik asit, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. **p<0,01, ***p<0.001, ****p<0.0001 kontrol grubuna göre anlamlı, ++p<0,01 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.1.4. Nitrik oksit sonuçları

Spinal kord, mesane ve böbrek dokularında NO değerleri SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise NO değerleri SKH grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 12).

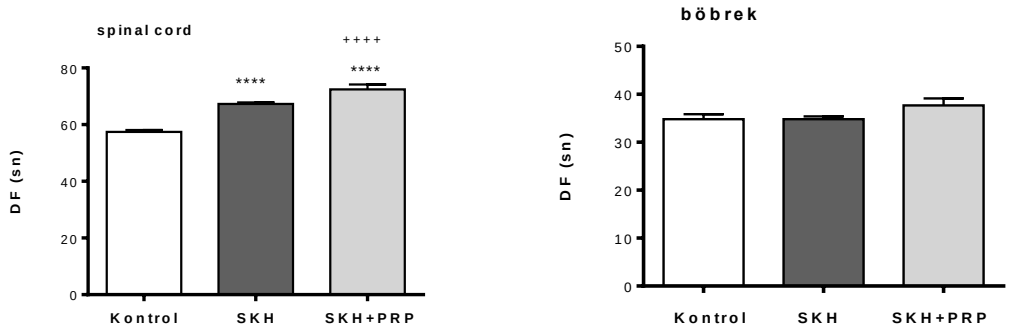


Şekil 12: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait NO sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. NO: Nitrik oksit, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. ***p<0.001, ****p<0.0001 kontrol grubuna göre anlamlı, ++p<0,01, ++++p<0,01 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.1.5. Doku faktörü aktivitesi sonuçları

Spinal kord dokusunda DF aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise DF aktivitesi SKH grubuna

göre anlamlı olarak azalmıştır. Spinal kord dokusunda DF aktivitesi böbrek dokusunda anlamlı değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 13). Mesane dokusunda DF aktiviesine bakılamamıştır.

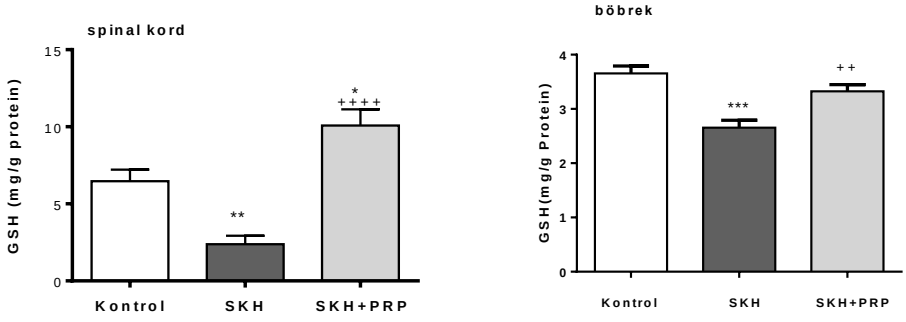


Şekil 13: Spinal kord ve böbrek dokularına ait DF sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. DF: Doku faktörü, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. ****p<0.0001 kontrol grubuna göre anlamlı, ++++p<0,01 SKH grubuna göre anlamlıdır. Sürenin uzaması DF aktivitesinin azaldığını göstermektedir.

4.2. Doku Antioksidan Parametreleri (GSH, GST, SOD, CAT)

4.2.1. Glutatyon sonuçları

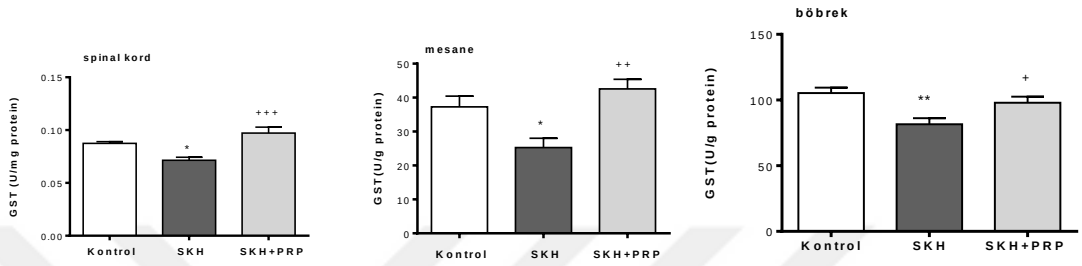
Spinal kord ve böbrek dokularında GSH değerleri SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise GSH değerleri SKH grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil 14). Mesane dokusunda GSH bakılamamıştır.



Şekil 14: Spinal kord ve böbrek dokularına ait GSH sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. GSH: Glutatyon, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. *p<0,05, **p<0.01, ***p<0.001 kontrol grubuna göre anlamlı, ++p<0,01 ++++p<0,0001 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.2.2. Glutatyon-S-transferaz sonuçları

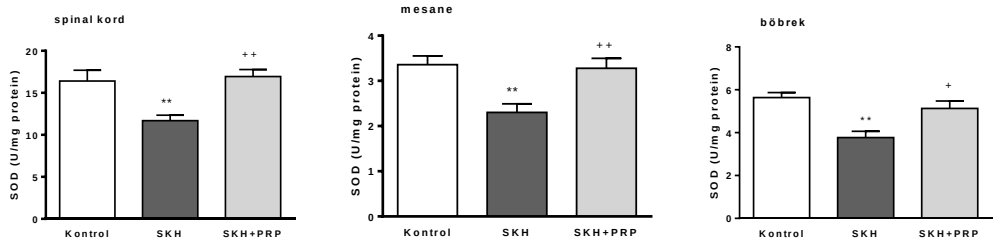
Spinal kord, mesane ve böbrek dokularında GST aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise GST aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil 15).



Şekil 15: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait GST sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. GST: Glutatyon-S-transferaz, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. *p<0,05, **p<0.01 kontrol grubuna göre anlamlı, ++p<0,01, ++p<0,01, +++p<0,001 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.2.3. Superoksid dismutaz sonuçları

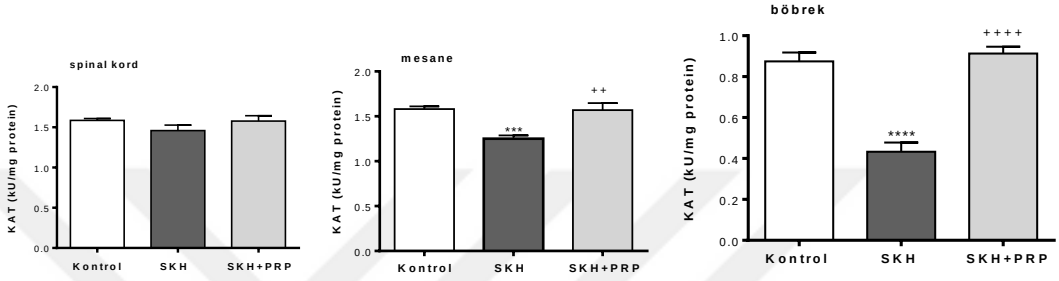
Spinal kord, mesane ve böbrek dokularında SOD aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise SOD aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil 16).



Şekil 16: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait SOD sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. SOD: Superoksid dismutaz, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. **p<0.01 kontrol grubuna göre anlamlı, +p<0,05, ++p<0,01 SKH grubuna göre anlamlıdır.

4.2.4. Katalaz sonuçları

Spinal kord dokusunda KAT aktivitesi gruplar arasında anlamlı değişmemiştir. Mesane ve böbrek dokularında KAT aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. PRP uygulanan SKH gruplarında ise KAT aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil 17).



Şekil 17: Spinal kord, mesane ve böbrek dokularına ait KAT sonuçları
Sonuçlar ortalama ve standard hata (SEM) olarak verilmiştir. KAT: Katalaz, SKH: Spinal kord hasarı yapılan grup, SKH+PRP: Spinal kord hasarı yapılan ve PRP uygulana grup, PRP:Trombositce zengin plazma. **p<0.01 kontrol grubuna göre anlamlı, +p<0,05, ++p<0,01 SKH grubuna göre anlamlıdır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Omurilik yaralanması kalıcı nörolojik hasarlara neden olur. Fakat hasarlı nöronlar rejeneratif yeteneğe sahip değildir. Bunun sonucunda SKH 'yi takip eden bir dizi patolojik olay meydana gelir. Patolojik olaylar hücre ölümüne ve devamında doku kaybına neden olurlar (Sezer ve ark., 2015).

SKH 'lı hastalarda terapötik girişimlerin etkinliğini değerlendirmek ve olası tüm yolları aydınlatmak için SKH patofizyolojisi, iki ana başlık altında ele alınmıştır: Birincisi, merkezi ve periferik sinir sistemini, sinir hücresi zarlarını ve kan damarlarını yoğun şekilde etkileyerek omurilikte mekanik travma oluşumu olarak tanımlanır. İkincisi, birincil travma sonrasında spinal kordun sıkışması sonucunda oluşur. Birincil SKH, geçici olup patofizyolojik olaylar öncesinde gerçekleşir (Cotman ve Nieto, 1985; Dumont ve ark., 2001; Borgens ve Liu-Snyder, 2012).

Bu olayların her biri, amino asitlerin hücre dışı düzeylerinin yükselmesi (Liu ve ark., 1991; Farooque ve ark., 2009) ve ortaya çıkan nöronal eksitotoksisite, intraparankimal inflamasyon ve reaktif nitrojen türlerinin ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesi, "sekonder hasar" boyutunu belirlemek için önemli bir paya sahiptir (Donnelly ve Popovich, 2008). İkincil SKH, esasen nöronların, glial hücrelerin ve iskeminin apoptotik ve nekrotik ölümü ile karakterizedir (Tator ve Fehlings, 1991; Luve ark., 2000).

Omurilik yaralanmalarının dünyadaki artan yükü ve ortaya çıkan komplikasyonlar, rehabilitasyon programları ve hastane tabanlı hizmetler için artan talebi açıklamaktadır. SKH, nörojenik mesane veya bağırsak disfonksiyonu, cinsel sorunlar, otonomik hiperrefleksi, idrar yolu enfeksiyonları, solunum ve gastrointestinal problemler, hepatoselüler hasar, psikolojik işlev bozukluğu vb. gibi çeşitli ciddi komplikasyonlara neden olabilir. SKH ile ilişkili komplikasyonlar yaralanma düzeyine bağlı olarak önemli derecede farklılık gösterebilir (Sezer ve ark., 2015).

SKH'nın hayvan modelleri, klinik olarak uygun terapötik rejimlerin değerlendirilmesi için gerekli bir ön şarttır (Constantini ve Young, 1994; Wrathall ve

ark., 1994). İdeal bir hayvan modeli SKH'nın klinik patolojik değişim sürecini yansıtmalı ve kullanılabilirlik ve tekrarlanabilirlik gereksinimlerini karşılamalıdır (Bresnahan ve ark., 1991; Behrmann ve ark., 1992, 1994).

Hayvan modellerinin SKH doğasını anlamak ve tedavi stratejilerini geliştirmek için yararlı olduğunu ileri sürmektedir (Zhang et al., 2014). SKH' nın birçok deneysel modeli vardır ve her biri lezyon gelişiminin, iyileşme mekanizmalarının ve potansiyel terapötik müdahalelerin farklı yönlerini araştırmada avantaj ve dezavantajlara sahiptir. Her model belirli bir SKH türünün anatomik özelliklerini ve nörolojik fonksiyon değişikliklerini üretse de, hiç bir model, insanların gerçek SKH'sını simüle etmemektedir (Sed'y ve ark., 2008; Li ve Dai, 2009). Büyük hayvanlar, özellikle kediler ve köpekler, 1950'li ila 70'li yıllarda yaygın olarak kullanılmıştır ancak rodent modelleri son 30 yılda standart haline gelmiştir (Kwon et al., 2015). Sıçan modellerinde SKH'yi indüklemek ve SKH sonrası işlevsel sonuçların değerlendirilmesi için standartlaştırılmış önlemler almak için çeşitli teknikler ve araçlar geliştirilmiştir. Sıçan modelleri kullanılabilirlik ve tekrarlanabilirliklerinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır (Tator, 2006).

Tarihsel olarak, klinik SKH 'I modellemeye yönelik en erken girişimler spinal korda ağırlık düşüşü etkisine dayanmaktadır. Başlangıçta Allen tarafından köpekler üzerinde kullanılan ağırlık düşürme tekniği daha sonra anestezi uygulanmış sıçanlar için uyarlanmıştır (Panjabi ve Wrathall, 1988; Wrathall ve ark., 1985). Spinal kordun maruz kalan dorsal yüzeyinin tanımlanmış büyüklükte bir kuvvet tarafından etkilenen mekanizmalara dayanan kontüzif yaralanma modelleri, popülerlik kazanmıştır (Wrathall, 1992; Stokes ve Jakeman, 2002; Young, 2002).

Ağırlık düşürme modeli yanı sıra uygulan diğer yöntemlerden anevrizma klip sıkıştırma, insanlardaki kontüzif yaralanmaya daha çok benzeyen alternatif bir yöntemdir, çünkü sıkıştırma geçicidir. Bu nedenle, tam spinal kord transeksiyonu aksonal rejenerasyon (Ramon-Cueto ve ark., 2000, Bregman ve ark. 2002, Fouad ve ark., 2005) ve spinal hemiseksiyon ile ilgili en net bilgiyi sağlarken, daha lokalize keskin omurga yaralanmaları, işlevin geri kazanılmasında plastik mekanizmalar ile ilgili çok değerli veriler sağlamaktadır (Diener ve Bregman, 1998; Bareyre ve ark.,

2004). Kimyasal yolla yaralanmalar, ilk travmatik SKH'dan sonra ortaya çıkan sekonder hasarının belirli yönlerini araştırmak için yararlıdır (Onifer ve ark., 2007).

Çalışmamızda deney hayvanlarına ağırlık düşürme yöntemi uygulanmış ve 1 hafta sonunda dekapite edilen hayvanlarda deneysel spinal kord yaralanmasına bağlı olarak spinal kord, mesane ve böbrek üzerine TZP uygulamasının potansiyel koruyucu etkisi araştırılmıştır. Spinal kord hasarı oluşturmak için çeşitli deneysel modeller olmasına rağmen ağırlık düşürme modeli tekrarlanabilirlilik, çarpma hızı ve yaralanma parametrelerinin izlenebilir olmasına olanak sağladığından tercih edilmiştir.

Spinal kord hasarı, sistemik inflamasyonu destekleyen kronik bir tıbbi durum olduğundan, nörolojik hasarların yanı sıra çoklu organ hasarı ve işlev bozukluğu oluşturur.

Garshick ve ark., kronik SKH hastalarında sistemik inflamasyon ve pulmoner fonksiyon arasındaki ilişkiyi değerlendirmiş ve SKH sonrası pulmoner fonksiyonun azalmasının sadece nöromüsküler bozuklukla değil, aynı zamanda sistemik enflamasyonu teşvik eden faktörlerle ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (Garshick ve ark., 2011).

Dahası, çalışmalar SKH' nin idrar torbasında belirgin yapısal, fizyolojik ve moleküler değişikliğe neden olduğunu göstermiştir (Toosi ve ark., 2008; Herrera ve ark., 2010). Nörojenik mesane, genellikle hastalığın yaşam kalitesini bozan ciddi bir hastalıktır ve aynı zamanda yaşamı etkileyebilir. Veziko üriner basıncın artması nedeniyle böbrek yetmezliğine neden olabileceği için tehdit edicidir. Modern terapötik seçeneklerin geliştirilmesiyle birlikte nörojenik mesanenin hayati tehlike oluşturan etkileri son zamanlarda azalmış olsa da, nörojenik mesane ile ilişkili renal komplikasyonlar hala ürolojik uygulamada önemli bir problem oluşturmaktadır (Akakin ve ark., 2013).

SKH sonrası mesane spinal refleksinin düzelmesi 7-14 gün arasında değiştiği ve spinal korteksi iyileştirmesine rağmen eksiksiz işleme verimliliğinin geri kazanılmadığı gösterilmiştir. Böbrekler üzerindeki histolojik ve immünofloresan çalışmalar, normal renal mimarinin idrar torbası hipertrofisine bağlı olduğunu

göstermiştir (Shunmugavel ve ark., 2010).Bu etki mesanedeki büyük hacimlerde idrarın tutulması ve daha sonra üretere, böbreklere, hilusa ve medulla geri itilmesini sağlamaktadır (Kim ve ark. 2003).

Korteks-medüller interstisyel gradyan idrar konsantrasyonunu etkiler ve bu nedenle, SKH ile indüklenen hipertrofiye bağlı idrar kesesi ve kortiko-medüller interstisyel gradiyentten kaynaklanan proteinüri nedeniyle idrar retansiyonunun SKH'da renal morfoloji rahatsızlığı üzerinde etkili olduğu kabul edilmiştir (Shunmugavel et al., 2010).

Reaktif oksijen türleri, normal olarak oksijen metabolizması sırasında üretilen ara metabolitler, proteinleri, lipitleri, nükleik asitleri, karbonhidratları ve diğer molekülleri yok edebilirler. Ayrıca inflamasyon, apoptoz, fibroz ve hücre çoğalmasına neden olabilirler.

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediğinden oldukça zararlıdır. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterdiğinden biyolojik materyalde lipid peroksidasyonu indikatörü olarak kullanılır (Kwiecien ve ark., 2002). LPO reaksiyonları (Mylonas ve Kouretas, 1999; Paul ve ark., 2012) tarafından hücre zarı üzerinde ciddi yaralanmalara neden olabilirler ve SKH kaynaklı nefropati için önemli bir rol oynayabilirler (Gris ve ark., 2008).

SKH' na sahip sıçanların böbrek dokularında, ROS' un neden olduğu membran LPO' nun güvenilir göstergelerinden biri olan belirgin olarak artmış MDA seviyeleri, SKH kaynaklı doku hasarının oksidatif stres ile oluşabileceğini ortaya koymaktadır. MDA düzeylerindeki artış ile uyumlu olarak, önemli bir antioksidan olan GSH, SKH' yı takiben tükenmektedir (Akakin ve ark., 2013).

GSH sahip olduğu sülfidril gruplar sayesinde zararlı bileşiklerin etkisizleştirilmesinde önemli rollere sahiptir. GSH radikal kaynaklı hasara karşı

koyarken antioksidan enzimlere substrat olarak görev yapar ve bir radikal tutucusu (scavenger) gibi davranır (Akkuş, 1995). Oksidatif stresin, GSH ve diğer antioksidan enzimlerin doku düzeylerini düşürdüğü ve antioksidanların eksikliği veya tükenmesinin, oksijen serbest radikallerin makromoleküllere veya membran lipidlerinde hasara neden olduğu kesinlikle bilinmektedir (Ballatoriet al., 2009).

NO fizyolojik fonksiyonların yanı sıra patolojik durumlarda yüksek miktarlarda üretilmesiyle nörotoksik hale dönüşür ve bir serbest radikal olarak sekonder hasarın ilerlemesinde önemli rol oynar (Donatucci ve ark., 2008; Porst ve ark., 2008). NO sentezinde işlev gören enzimlerden olan İNOS sağlıklı dokularda bulunmazken patolojik süreçlerde inflamatuar mediyatörler ve sitokinler tarafından uyarıldığı için aşrı nitrik oksit oluşumuna neden olur. Bu ise peroksinitrit oluşumu, protein hasarı, lipid peroksidasyonunda artış, hücresel enerji kaybı mitokondrial solunumun durması ve DNA replikasyon inhibisyonu ile hücre ölümüne neden olur (Porst ve ark., 2008).

Çevik ve ark.'nın SKH'na bağlı mesane hasarına karşı kuarsetin'in faydalı etkisinin araştırıldığı çalışmasında SKH grubundaki dokuların NO, malondialdehit ve miyeloperoksidaz aktivitelerinde artış tedavi sonucunda anlamlı şekilde azalmıştır. Öte yandan SKH grubunda yükselmiş plazma sitokin düzeyleri, kuarsetin tedavisi ile de azaltılmıştır (Çevik ve ark., 2013).

MPO, nötrofiller tarafından oksidan üretiminde temel bir rol oynar ve nötrofil infiltrasyonu için bir indeks olarak kullanılmaktadır. Aktive edilmiş nötrofiller protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler de dahil olmak üzere makro molekülleri oksitleyen ve zarar veren büyük miktarda HOCl üretimine neden olan MPO salgılarlar. Ayrıca nötrofillerin kemotaktik maddeleri serbest bıraktığını ve bu da nötrofilin dokuya göçünü artırdığını, nötrofilleri aktive ettiğini ve hasarı artırdığını ortaya koymaktadır (Kettle and Winterbourn, 1997).

Erşahin ve ark'nın çalışmasında histolojik olarak değerlendirilen spinal kord ve mesane dokularında GSH da azalmalar, MDA ve MPO düzeylerinde ise artışlar görülmüştür. Fakat uygulanan montekulast tedavisi sonucunda değerlerin normal düzeye geldiği bildirilmiştir (Erşahin ve ark., 2012).

Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde SOD enzimi bulunur. SOD enzimi süper oksit radikallerin yıkım reaksiyonlarını hızlandırarak süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşmesi sağlar. Ancak artan süperoksit anyonlara paralel olarak bunları ortadan kaldıran SOD da artacağı için bunun düzeyinin ölçülmesi bize süperoksit anyonlar hakkında fikir verebilir (Halliwell, 2007; Bhagavan, 2002). Süperoksit radikal miktarının artırımına paralel olarak SOD miktarının artımı doğaldır. İleri derecede nekroz ve çevre dokular yeterince SOD üretilemezse radikaller kendi dismutasyon ürünü olan H_2O_2 ile tepkimeye girerek HaberWeiss reaksiyonu ile hidroksil radikali ve singlet oksijen üretimine neden olur (Halliwell, 2007; Bhagavan, 2002).

Akakin ve ark.'nın yaptığı çalışmada spinal kord yaralanması sonucu incelenen böbrek dokularında MDA düzeyleri, MPO ve SOD aktivitelerinin arttığını ve GSH düzeylerinin kontrollerden daha düşük olduğu bulunmuştur. Öte yandan, melatonin ile tedavi edilen SKH grubunda MDA seviyeleri ve MPO aktivitelerinin azalmış ve GSH düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Deneysel olarak uyarılan SKH' nın sıçan böbreğinde oksidatif strese neden olduğu buna takiben melatoninin oluşan böbrek hasarının giderilmesinde yararlı olacağı belirtilmiştir (Akakin ve ark., 2013).

Çalışmamızda, spinal kord, böbrek ve mesane dokularında MDA, siyalik asit ve NO değerlerinin SKH'lı grupda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, GSH değerlerinin ise azaldığı görülmüştür. TZP uygulanan grup SKH'lı grupla kıyaslandığında ise MDA, siyalik asit ve NO değerlerinin azaldığı ve GSH değerlerinin arttığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlar ışığında TZP uygulamasının spinal kord, böbrek ve mesane dokularında antioksidan etkiyi arttırarak doku iyileşmesine katkıda bulunduğu söylenebilir.

Bizim çalışmamızda da literatüre benzer olarak spinal kord, mesane ve böbrek dokularında MPO aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış ve **TZP** uygulanan SKH gruplarında ise MPO aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

Peroksizomlarda ve sitozolde bulunan ve yapısında 4 "hem" grubu bulunan bir protein olan katalaz, H_2O_2'in moleküler oksijen ve suya çevrilmesini katalizler.

Karaciğer ve eritrositlerde en yüksek aktiviteye sahiptir. Katalaz metil hidroperoksit ve etil hidroperoksit gibi küçük moleküllerin indirgenmesini de sağlar, ancak büyük molekül ağırlıklı lipit hidroperoksitlere karşı etki göstermez. Katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar (Young ve Woodside, 2002).

Glutatyon, SOD ve KAT gibi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, reaktif oksijen türlerine karşı birincil savunmadır. Bu antioksidanların, peroksidatif strese karşı önemli bir adaptif yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (Sgaravatti ve ark., 2009).

SKH ile ilgili yapılan çalışmada quercetin ile tedavinin, SKH grubunda görülen doku GSH seviyelerinin ve SOD aktivitesinin tükenmesini de engellendiği görülmüştür (Çevik ve ark., 2013).

Yapılan bir deneysel çalışmada SKH sonrası doku hasarını ve antioksidasyon etkisi araştırılmış ve tedavi amaçlı kullanılan resveratrol sonucunda SKH gruplarında SOD aktivitesinin arttığı görülmüştür (Liu ve ark., 2011).

Deneysel omurilik yaralanması sonrasında curcumin ve metilprednizolon sodyum süksinatın fonksiyonel, biyokimyasal ve patolojik olarak etkilerini değerlendirildiği çalışmada, uygulama sonucunda doku SOD ve KAT aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Ayrıca yapılan mikroskop incelemesinde de doku yapısının korunduğu belirtilmiştir (Cemil ve ark., 2010).

SKH üzerine TZP uyguladığımız çalışmamızda literatürdeki çalışmalardan farklı olarak spinal kord dokusunda KAT aktivitesinin gruplar arasında anlamlı değişmediği görülmüştür. Mesane ve böbrek dokularında ise KAT aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı, TZP uygulanan SKH gruplarında ise KAT aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür.

Literatür çalışmalarına benzer şekilde spinal kord, mesane ve böbrek dokularında SOD aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmışır. Ancak TZP uygulanan SKH gruplarında ise SOD aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Deneysel çalışmamızda spinal kord, mesane ve böbrek dokularında GST aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. TZP

uygulanan SKH gruplarında ise GST aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak artmıştır.

Doku faktörü, hemostatik fonksiyonlarının yanı sıra hücrenin biyolojik özelliğini direkt veya indirekt olarak etkileyen, hemostatik olmayan fonksiyonlara da sahiptir (Rickles ve ark., 2003; 2001). Doku faktörü, oluşturduğu sinyaller aracılığı ile pek çok büyüme faktörünün, pro-inflamatuar sitokinlerin, transkripsiyon faktörlerinin ve genlerin transkripsiyonuna ve ekspresyonuna neden olur (Lopes-Bezerra ve Filler, 2003). Çalışmamız da incelenen parametrelerden biri de doku faktörüdür. Deneysel çalışma sonucunda spinal kord dokusunda DF aktivitesi SKH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. TZP uygulanan SKH gruplarında ise DF aktivitesi SKH grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. SKH, böbrek dokusunda DF aktivitesinde anlamlı değişikliğe neden olmamıştır.

Normal bir kanda % 95 kırmızı kan hücreleri, % 5 trombosit, ve % 1'den az beyaz kan hücresi bulunur. TZP de ise % 4 kırmızı kan hücresi, % 95 trombosit ve % 1 beyaz kan hücresi bulunur. Trombositlerin alfa granülleri yara iyileşmesini başlatmak için trombositler tarafından aktif olarak salgılandığı bilinen 7 önemli büyüme faktörü içerir. Bu büyüme faktörleri, trombosit türevi büyüme faktörünün (PDGF-aa, PDGF-bb ve PDGF-ab) 3 izomeri, transformasyon büyüme faktörü-b'nin (TGF-b1 ve TGF-b2) iki izomeri, vasküler endotelyal büyüme faktörü ve epitelyal büyüme faktörüdür. Bu faktörler hasardan sonra onarım sürecinde işlev görürüler (Marx, 2001; Küçük ve ark., 2014).

Küçük ve ark.'nın siyatik sinir kesim modelinde TZP uygulaması yaptıkları çalışma sonucunda, TZP'nin sinir rejenerasyonu üzerindeki olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. TZP grubundaki fonksiyonel iyileşme ve histolojik parametrelerin kontrol grubundakilerden anlamlı derecede iyi olduğu sonucuna varmışlardır (Küçük ve ark., 2014).

Periferik sinir yaralanmaları üzerine yapılan benzer araştırmalar, TZP'nin sinir rejenerasyonu ve fonksiyonel iyileşme üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir (Elgazzar ve ark., 2008; Ye ve ark., 2012).

Takeuchi ve arkadaşları spinal kord dokularında aksonal büyümeyi TZP'nin yeteneğini değerlendirmek ve akson büyümesinin düzenlenmesine katkıda bulunan TZP'deki büyüme faktörlerini belirlemek için bir organ-doku kültür sistemi kullanılmıştır. TZP'deki TGF-b1, aksonal büyüme üzerinde negatif etkiler yaparken, TZP'nin omurilik dokularındaki aksonal büyümeyi IGF-1 ve VEGF ile ilişkili mekanizmalarla arttırdığı sonucuna varmışlardır (Takeuchi ve ark., 2012).

Yapılan çalışmaların aksine, Pişkin ve arkadaşları, trombosit jel ile sinir boşluğunun mikrocerrahi ile yeniden yapılandırılmasından sonra siyatik sinir rejenerasyonunun düzelmediğini belirtmişlerdir (Pişkin ve ark., 2009).

Bir başka çalışmada, Welch ve arkadaşları, PDGF ve IGF-I kombine uygulamasının, transeksiyon ve anastomoz modelinde periferik sinir rejenerasyonunu geliştirmediğini ortaya koymuştur (Welch ve ark., 1997).

Literatür çalışmaları değerlendirildiğinde spinal kord iyileşmesi üzerine direkt TZP uygulamasının TZP faktörlerinin tek ya da kombine olarak uygulanması ile karşılaştırıldığında direkt uygulamanın daha etkili sonuçlar ortaya çıkardığı görülmüştür.

Yaptığımız çalışmada spinal kord hasarı üzerine TZP uygulaması sonucunda yapılan biyokimyasal değerlendirmelerde, antioksidan parametrelerin artmış ve oksidan parametrelerinin azalmış olması TZP uygulamasının spinal kord hasarını iyileştirmede etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlar literatürde yapılan direk TZP uygulama çalışmaları ile uyumluluk sağlamıştır.

Sonuç olarak TZP uygulamasının spinal kord iyileşmesi üzerine etkili olduğu, mesane ve böbrek dokularında da oluşan hasarı azalttığı biyokimyasal parametrelerle gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında TZP uygulamasının SKH tedavisi için yararlı olabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKÇA

Aebi H.: Catalase *in vitro*. In: Methods of enzymatic Analysis, 2nd Edition, vol.2, Bergmeyer HU (Ed), FL, 1974; p:121-126.

Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, MimozaYayınları, Konya, 1995.

Allen AR: Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. A preliminary report:. JAMA. 1911;57:878-880.

Allen AR: Remarks on the histopathological changes in the spinal cord due to impact. An experimental study. J Nerv Ment Dis. 4. 1914; 141-147,

Antoniades HN, Williams LT. Human platelet-derived growth factor: Structure and functions. Fed Proc. 1983;42:2630–4.

Avcı CB, Baran Y, Sahin F, Yılmaz S, Dogan ZO, Saydam G. Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. J Cancer Res Clin Oncol. 2011; 137(1): 41-7.

Azbill R.D, Mu X, Bruce-Keller A.J, Mattson M.P, Springer J.E. Impaired mitochondrial function, oxidative stress and altered antioxidant enzyme activities following traumatic spinal cord injury. Brain Res. 1997;765, 283-290.

Ballatori N, Krance SM, Marchan R, Hammond CL. Plasma mem-brane glutathione transporters and their roles in cell physiologyand pathophysiology. Mol Aspects Med. 2009;30:13–28.

Bareyre F.M, Kerschensteiner M, Raineteau O, Mettenleiter T.C, WeinmannO, Schwab M.E, 2004. The injured spinal cord spontaneously forms a newintraspinal circuit in adult rats. Nat Neurosci. 2004;7, 269–277.

Barbosa MO, Cristante AF, Santos GB, Ferreira R, Marcon RM, Barros Filho TE Neuroprotective effect of epidural hypothermia after spinal cord lesion in rats.Clinics (Sao Paulo). 2014;69(8):559-64.

Baykara M. Ürogenital Organların Anatomik ve Histolojik Yapısı: Mesane. Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. Temel Üroloji. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri, 2011:7-13.

Behrmann D.L, Bresnahan J.C, Beattie M.S, Shah B.R. Spinal cord injuryproduced by consistent mechanical displacement of the cord in rats: behavioraland histological analysis. J Neurotrauma. 1992;9, 197–217.

Behrmann D.L, Bresnahan J.C, Beattie M.S. Modeling of acute spinal cordinjury in the rat: neuroprotection and enhanced recovery with methylpred-nisolone, U-74006F and YM-14673. Exp Neurol. 1994;126, 61–75.

Beutler E. Glutathione in Red Cell Metabolism : A manual of Biochemical methods, 2nd ed., Grune and Stratton NY, 1994;pp.112-114, 1975.

Borgens RB, Liu-Snyder P. Understanding secondary injury, Q Rev Biol. 2012;87 (2):89–127.

Bregman B.S, Coumans J, Dai H.N, Kuhn P, Lynskey J, McAtee M, Sandhu, F. Transplants and neurotrophic factors increase regeneration and recoveryof function after spinal cord injury. Prog. Brain Res. 2002;137, 257–273.

Bresnahan JC, Beattie MS, Stokes BT, Conway KM. Three-dimensionalcomputer-assisted analysis of graded contusion lesions in the spinal cord of therat. J Neurotrauma.1991;8, 91–101.

Carlson NE, Roach RB Jr. : Platelet Rich Plasma clinical applications in dendistry. JADA.2002;133: 13831386.

Carter CA, Jolly DG, Worden Sr CE, Hendren DG, Kane CJM.: Platelet Rich Plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. Exp Mol Pathol. 2003;74: 244255.

Cemil B, Topuz K, Demircan M.N, Kurt G, Tun K, Kutlay M, ... & Kucukodaci, Z. Curcumin improves early functional results after experimental spinal cord injury. Acta Neurochirurgica. 2010;*152*(9), 1583-1590.

Cole BJ, Seroyer ST, Filardo G, Bajaj S, Fortier LA. Platelet-rich plasma: Where are we now and where are we going? Sports Health. 2010;2:203–10.

Conley CL. Hemostasis. In V. B. Mountcastle (Ed.), Medical Physiology. St. Louis: Mosby, 2004;1137–46.

Constantini S, Young W. The effects of methylprednisolone and the ganglio-side GM1 on acute spinal cord injury in rats. J Neurosurg. 1994;80, 97–111.

Cotman CW, Nieto-Sampedro M. Progress in facilitating the recovery of function after central nervous system trauma, Ann N. Acad Sci. 457 (1) 1985;83–104.

Choi WS, Lee EH, Chung CW, et al. 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.

Çevik Ö, Erşahin M, Şener TE, Tinay İ, Tarcan T, Çetinel Ş, Toklu HZ, Şener, G. Beneficial effects of quercetin on rat urinary bladder after spinal cord injury. J Surg Res. 2013;*183*(2), 695-703.

Demirel A. Ratlarda hemiseksiyon yöntemi ile oluşturulan spinal kord travması modelinde, travma öncesi i.p. uygulanan riluzol'ün nörorejeneresyon üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi. Tıp Fakültesi. Nöroşirürji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi. 2013,Ankara (Danışman: Prof.Dr.Yusuf Şükrü Çağlar).

Diener PS, Bregman BS. Fetal spinal cord transplants support growth ofsupraspinal and segmental projections after cervical spinal cord hemisection inthe neonatal rat. J Neurosci. 1998;18, 779–793.

Donnelly DJ, Popovich PG, Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury, Exp Neurol. 2008;209 (2) 78–388.

Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert J, Boulos PT, Ellega BE, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms. Clin Neuropharmacol. 2001;24:254-264.

Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ. Acute spinal cord injury, Part II: Contemporary Pharmacotherapy. Clin Neuropharmocol. 2001;24(5):265-279.

Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part I: pathophysiologic mechanisms, Clin Neuropharmacol. 24 (5) 2001;254–264.

Duncan EG, Lemaire C, Armstrong RL, Tator CH, Potts DG, Linden RD. Highresolution magnetic resonance imaging of experimental spinal cord injury in the rat. Neurosurgery. 1992;Sep;31(3):510–517. 98

Eaton MJ. Cell and molecular approaches to the attenuation of pain after spinal cord injury. J Neurotrauma. 2006;23:549-559.

Elgazzar R, Mutabagani M, Abdelaal S, Sadakah A. Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. Int J Oral Maxillofac Surg. 2008;37(8): 748e755.

Eppley BLMD, Woodell JE, Higgins JBS. Platelet quantification and growth factor analysis from Platelet Rich Plasma: Implications for wound healing. PRS. 2004; 114(6): 15021508.

Epply BL. Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma. A review 16. of biology and applications in plastic surgery. PRS. 2006; 118:147e-159e.

Erşahin M, Çevik Ö, Akakın D, Şene, A, Özbay L, Yegen BC, Şener G. Montelukast inhibits caspase-3 activity and ameliorates oxidative damage in the spinal cord and urinary bladder of rats with spinal cord injury. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2012; 99(3), 131-139.

Farooque M, Hillere I, Holtz A, Olsson Y. Changes of extracellular levels of amino acids after graded compression trauma to the spinal cord: an experimental study in the rat using microdialysis, J Neurotrauma. 13 (9) 2009;537–548.

Fehlings MG. Summary statement: the use of methylprednisolone in acute spinal cord injury. Spine J. 2001;26:S55.

Fehlings MG, Sekhon LH, Tator C. The role and timing of decompression in acute spinal cord injury: what do we know? What should we do? Spine J. 2001;26:S101-110.

Ferreira CF, Gomes MCC, Scarso Filho J, Granjeiro JM, Simões CMO, Magini RS. Platelet rich plasma influence on human osteoblasts growth. Clin Oral Implants Res. 2005; Aug;16(4):456-60.

Fowler CJ, Griffiths D, de Groat WC. The neural control of micturition. Nat Rev Neurosci. 2008;Jun. 9(6):453-66.

Fouad K, Schnell L, Bunge M.B, Schwab, M.E, Liebscher T, Pearse D.D.Combining Schwann cell bridges and olfactory-ensheathing glia grafts withchondroitinase promotes locomotor recovery after complete transection of thespinal cord. J Neurosci. 2005; 25, 1169–1178.

Garshick E, Stolzmann KL, Gagnon DR, Morse LR, Brown R. Systemicinflammation and reduced pulmonary function in chronic spinalcord injury. PMR 2011;3:433–9.

Gianino J.M., Paice J.A., York M.M. Spinal Cord Anatomy. In: Intrathecal Drug Therapy for Spasticity and Pain. Springer, New York, 1996;978-1-4612-2348-1

Güzel A, Tatlı M. Ökten Aİ, Çaylı S. Pathology and Physiopathology of Spinal Cord Injury.C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi 2006;28: 73 – 78.

Grageda E. PlateletRich Plasma and bone graft materials: A review and a standardized research protocol. Implant Dentistry. 2004;13(4): 301309.

Gris D, Hamilton EF, Weaver LC. The systemic inflammatory response after spinal cord injury damages lungs and kidneys. Exp Neurol. 2008;211(1):259–270.

Grulova I, Nagyova M, Cizek M, Cizkova D. The effect of hypothermia on sensory-motor function and tissue sparing after spinal cord injury. Spine J. 2013; doi: 0.1016/j.spinee.2013.06.073.

Habig WH, Jacoby WB. Assays for differentation of glutathione- S- transferases. *Methods Enzymol*., 1981;77: 398-405.

Hall ED, Braugler JM. Role of lipid peroxidation in posttraumatic spinal cord degeneration. CNS Trauma 1987;3:281-293.

Hall JE, Guyton AC. Urine Concentration and Dilution: Regulation of Extracellular Fluid Osmolarity and Sodium Concentration. Gruliow R, ed. Guyton and Textbook Of Medical Physiology. 12th ed. Philadelphia, Pa: Saunders/Elsevier; 2011;348-52.

Herrera JJ, Haywood-Watson RJ 2nd, Grill RJ. Acute and chronicdeficits in the urinary bladder after spinal contusion injury inthe adult rat. J Neurotrauma. 2010;27:423–31.

Hickling, Duane R., Tung-Tien Sun, and Xue-Ru Wu. "Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection". Microbiol Spectrum. 2015;3-29.

Hillegas LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. Assesment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. J Pharmacol Methods. 1990;24: 285-295.

Ingram GIC., Hills M. Reference method for the one stage prothrombin time test on human blood. Thromb Haemostas. 1976;36: 237-238.

Jin W, Ming X, Hou X, Zhu T, Yuan B, Wang J, Ni H, Jiang J, Wang H, Liang W. Protective effects of erythropoietin in traumatic spinal cord injury by inducing the Nrf2 signaling pathway activation. J Trauma Acute Care Surg. 2014 May;76(5):1228-34. doi: 10.1097/TA.0000000000000211

Kaptanoğlu E, Sen S, Beşkonaklı E, Sürücü HS, Tuncel M, Taşkın Y, Kılınç K. Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury. J Neurosurg Anesthesiol. 2002;14:114-22

Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanmasının patofizyolojisi,, Vol. cilt 2 Ankara: Temel Nöroşirürji 2010;pp.1623-1635.

Kasai M, F.H, Soumiya H, Furukawa S. Caffeic acid phenethyl ester reduces spinal cord injury-evoked locomotor dysfunction. Biomed Res. 2011;32(1): 1-7.

Kettle AJ, Winterbourn CC. Myeloperoxidase: a key regulator ofneutrophil oxidant production. Redox Rep. 1997;3:3–15.

Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. J Extra Corpor Technol. 2004;36:28–35.

Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. J Oral Maxillofac Surg. 2002;Sep;60(9):1018-25.

Kim D, Sands JM, Klein JD. Changes in renal medullary transportproteins during uncontrolled diabetes mellitus in rats. Am JPhysiol Renal Physiol. 2003;285:303–9.

Kingsnorth AN, Skandalakis PN, Colborn GL, Weidman TA, Skandalakis LJ, Skandalakis JE. Embryology, anatomy, and surgical applications of the preperitoneal space. Surg Clin North Am. 2000;Feb. 80(1):1-24.

Khan M, Griebel R. Acute spinal cord injury in the rat: comparison of three experimental techniques. Can J Neurol Sci. 1983; Aug;10(3):161–165.

Küçük L, Gunay H, Erbas O, Kucuk U, Atamaz F, Coskunol E. Effects of plateletrich plasma on nerve regeneration in a rat model. Acta Orthop Traumatol Turc. 2014;48(4):449e454.

Kwiecien S, Brzozowski T, Konturek SJ, Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury, J Physiol Pharmacol. 53 2002;39–50.

Kwon BK, Streijger F, Hill CE, Anderson AJ, Bacon M, Beattie MS, Blesch A, Bradbury EJ, Brown A, Bresnahan JC, Case CC, Colburn RW, David S, Fawcett JW, Ferguson AR, Fischer I, Floyd CL, Gensel JC, Houle JD ,Jakeman LB, Jeffery ND, Jones LA, Kleitman N, Kocsis J, Lu P, Magnuson DS, Marsala M, Moore SW, Mothe AJ, Oudega M, Plant GW, Rabchevsky AS, Schwab JM, Silver J, Steward O, Xu XM, Guest JD, Tetzlaff W.Large animal and primate models of spinal cord injury for the testing of noveltherapies. Exp Neurol. 2015; 269, 154–168.

Lecovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Alecsic Z, Kenney EB. Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. J Clin Periodontol. 2003;30: 746-751.

Ledwozyw A, Michalak D, Stepien A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. Clin Chim Acta. 1986;155; 275-283.

Li M, Ona VO, Chen M, Kaul M, Tenneti L, Zhang X, Stieq PE, Lipton SA, Friedlander RM. 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.

Li XF, Dai LY. Three-dimensional finite element model of the cervical spinalcord: preliminary results of injury mechanism analysis. Spine J. 2009;34, 1140–1147.

Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ. Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. Brain Res. 547 (2) 1991;344–348.

Liu C, Shi Z, Fan L, Zhang C, Wang K, & Wang, B.Resveratrol improves neuron protection and functional recovery in rat model of spinal cord injury. Brain Res. 2011;1374, 100-109.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 193: 265-275.

Lopes-Bezerra LM, Filler SG. Endothelial cells, tissue factor and infectious diseases. Braz J Med Biol Res. 2003;36 (8): 987-991.

Lu KWS. Waite AP, Advances in secondary spinal cord injury: role of apoptosis, Spine J. 2000;25 (14).

Man D. Plosker H, WinlandBrown JE. The use of autologous PlateletRich Plasma (Platelet Gel) and autologous PlateletPoor Plasma (Fibrin Glue) in cosmetic surgery. PRS. 2001;107(1): 229237.

Martinez AA, Gren BA, Bunge RP. Experimental Spinal Cord Injury: Pathophysiology and Treatment. The Spine. Vol1 (eds) Herkowitz, HN, Garfin SR, Balderston RA, Eismont FJ, Bell GR, Wiesel SW. Philadelphia. WB. Saunders Company. 1992;1247–1276.

Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What Is PRP and What Is Not PRP? Implant Dent. 2001;10:225–8.

Marx RE. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. J Oral Maxillofac Surg. 2004;62:489–96.

Mautes A, Veinzierl M, Donovan F, Noble LJ. Phys Ther. 2000;80:673-87.

Merih I, Taner T, Hakan Y, Fevzullah A, Aylin A, Ferruh G, Mustafa U. The Use of Methylprednisolone, Vitamin E and Their Combination in Acute Spinal Cord Injury: An Experimental Study. Turkish Neurosurgery. 2006; 16(1): 2-8.

Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. Nitric Oxide. 2001;5: 1: 62-71, 2001

Mylorie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of cupper status in rats ingesting lead acetate. Toxicol Appl Pharmacol. 1986;82: 512-520.

Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. InVivo. 1999;13:295–309.

Netter FH. Beyin ve omurliğin 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.

Ni H, Jin W, Zhu T, Wang J, Yuan B, Jiang J, Liang W, Ma Z. J Spinal Cord Med. 2014 Jan 3. Curcumin modulates TLR4/NF-κB inflammatory signaling pathway following traumatic spinal cord injury in rats. J Spinal Cord Med. 2014; Jan 3.

Onifer S.M, Rodriguez J.F, Santiago D.I, Benitez J.C, Kim D.T, Brunschwig J.P, Pacheco J.T, Perrone J.V, Llorente O, Martinez-Arizala A. Cervicalspinal cord injury in the adult rat: assessment of forelimb dysfunction. Restor Neurol Neurosci. 2007; 11, 211–223.

Panjabi MM, Wrathall JR, Biomechanical analysis of experimental spinalcord injury and functional loss. Spine J. 1988;13, 1365–1370.

Paul MV, Abhilash M, Varghese MV, Alex M, Nair RH. Protec-tive effects of tocopherol against oxidative stress related tonephrotoxicity by monosodium glutamate in rats. Toxicol Mech Methods. 2012;22:625–30.

Petrungaro PS. Using PlateletRich Plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. Compendium. 2001;22(9): 729745.

Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new 18. technology. J Craniofac Surg. 2005; Nov;16(6):1043-54.

Piskin A, Kaplan S, Aktas A, Ayyıldız M, Raimondo S, Aliç T, Geuna S. Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: an electrophysiological, stereological, and electron microscopic study. Microsurgery. 2009;29(2):144-153.

Porst H, Rajfer J, Casabé A, Feldman R, Ralph D, Vieiralves LF: Long-term safety and efficacy of tadalafil 5 mg dosed once daily in men with erectile dysfunction. J Sex Med. 2008;5;2160-9

Polat N, Gökmen E, Öçmen A, Bağrıyanık M, Kuyumcu A. Arkan Ratlarda Oluşturulan Medulla Spinalis Travma Modelinde Aktive Protein C'nin Nöroprotektif Etkinliğinin Araştırılması. Türk Anest Rean Dergisi 2012;40(4):212-221 doi:10.5222/JTAICS.2012.212

Powell CR. Not all neurogenic bladders are the same: a proposal for a new neurogenic bladder classification system. Translational Andrology and Urology. 2016;5(1), 12-21.

Ramon-Cueto A, Cordero MI, Santos-Benito F, Avila J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords byolfactory ensheathing glia. Neuron. 2000;25, 425–435.

Rickles FR, Patierno S, Fernandez PM.Tissue factor, thrombin and cancer. Chest. 2003;124 (3): 58-68. 132.

Rickles FR, Shoji M, Abe K. The role of hemostatic system in tumor growth, metastasis and angiogenesis: tissue factor is a bifunctional molecule capable of inucing both fibrin deposition and angiogenesis and cancer. Int J Hematol, 2001;73 (2): 145-150.

Robiony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and Platelet Rich Plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible:Preliminary results. J Oral Maxillofac Surg. 2002; 60:630635.

Rughetti A, Giusti I, D'Ascenzo S, Leocata P, Carta G, Pavan A, et al. Platelet gel-released supernatant modulates the angiogenic capability of human endothelial cells. Blood Transfus. 2008;6:12–7.

Sed´y J, Urdzíková L, Jendelová P, Syková E. Methods for behavioral testingof spinal cord injured rats. Neurosci Biobehav Rev. 2008.;32, 550–580.

Sencer A, Aras Y, Akçakaya MO, Gömleksiz C, Can H, Canbolat A. Effects of combined and individual use of N-methyl-D aspartate receptor antagonist magnesium sulphate and caspase-9 inhibitor z-LEDH-fmk in experimental spinal cord injury. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2013;19(4): 313-19.

Senturk S , Gurcay AG, Bozkurt I, Gurcan O, Eroglu H, Turkoglu OF, Bodur E, Bavbek M. Effects of tadalafil-Type-V phosphodiesterase enzyme inhibitorOn rats with spinal trauma. Br J Neurosurg. 2014; Nov 7:1-6.

Sezer N, Akkuş S, Uğurlu FG. Chronic complications of spinal cord injury. World J Orthopedics. 2015;*6*(1), 24.

Sgaravatti AM, Magnusson AS, Oliveira AS, Mescka CP, Zanin F, Sgarbi MB, Pederzolli CD, Wyse AT, Wannmacher CM, Wajner M, Dutra-Filho CS.Effects of 1, 4-butanediol administration on oxidative stress in rat brain: Study of the neurotoxicity of γ-hydroxybutyric acid in vivo. Metab Brain Dis. 2009; 24(2): 271-282.

Shukla A, Dubey M.P, Srivastava R, Srivastava B.S. Differential expression of proteins during healing of cutaneous wounds in experimental normal and chronic models. Biochem Biophysic Res Com. 1998;224: 434439.

Shunmugavel A, Khan M, Te Chou PC, Dhindsa RK, Martin MM,Copay AG, et al. Simvastatin protects bladder and renal func-tions following spinal cord injury in rats. J Inflamm. (Lond)2010;19:7–17.

Slemmer JE, Shacka JJ, Sweeney MI, Weber JT. Antioxidants and free radical scavengers for the treatment of stroke, traumatic brain injury and aging. Curr Med Chem. 2008;15(4):404–414.

Schliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. Int J Oral Maxillofac Surg. 2002;31:469–84.

Schmitz J.P, Hollinger J.O. The biology of plateletrich plasma. Letters to the Editor. J Oral Maxillofac.Surg. 2001; 59:11191121.

Schwab ME. Repairing the injured spinal cord. Science (New York, N.Y.) 2002;295:1029-1031.

Stokes BT, Jakeman LB. Experimental modelling of human spinal cordinjury: a model that crosses the species barrier and mimics the spectrum ofhuman cytopathology. Spinal Cord. 40. 2002;101–109.

Takeuchi M, Kamei N, Shinomiya R, et al. Human platelet-rich plasma promotes axon growth in brainespinal cord coculture. Neuroreport. 2012;23(12): 712e716.

Tator CH. Review of experimental spinal cord injurywith emphasis on the local and systemic circulatoryeffects. Neurochirurgie. 1991;37:291-302.

Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. J Neurosurg. 1991;75:15- 26.

Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. Neurosurgery. 1998;42:696-707.

Tator CH. Review of treatment trials in human spinal cord injury: issues,difficulties, and recommendations. Neurosurgery. 2006;59, 957–982.

Teke Z, Yenisey C, Sacar M, Simsek NG, Akoglu M. Caffeic acid phenethyl ester alleviates mesenteric ischemia/reperfusion injury. J Invest Surg. 2012; 25(1): 354-65.

Toosi KK, Nagatomi J, Chancellor MB, Sacks MS. The effects oflong-term spinal cord injury on mechanical properties of therat urinary bladder. Ann Biomed Eng. 2008;36:1470–80.

Walters MD, Weber AM. Anatomy of the lower urinary tract, rectum and pelvic floor. Walters MD, Karram MM, eds. Urogynecology and Pelvic Reconstructive Surgery. 2nd ed. St. Louis, Mo: Mosby; 2000;3-13.

Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. J Biol Chem. 1959;234: 1971-1975.

Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. Bone. 2004; Apr;34(4):665-71.

Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Campbell-Walsh Urology. 9th Ed. Saunders; 2007;Vol I: p 24.

Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Campbell-Walsh Urology. 9th Ed. Saunders; 2007;Vol I: pp 30-1.

Welch J, Kraus K, Wells M, Blunt D, Weremowitz J. Effect of combined administration of insulin-like growth factor and platelet-derived growth factor on the regeneration of transected and anastomosed sciatic nerve in rats. Am J Vet Res. 1997;58(9):1033e1037.

Wrathall JR, Pettegrew RK, Harvey F. Spinal cord contusion in the rat:production of graded, reproducible, injury groups. Exp Neurol. 1985;88, 108–122.

Wrathall, JR.Spinal cord injury models. J Neurotrauma. 1992;9, S129–S134.

Wrathall JR, Choiniere D, Teng Y.D,. Dose-dependent reduction of tissueloss and functional impairment after spinal cord trauma with the AMPA/kainateantagonist NBQX. J Neurosci. 1994;14, 6598–6607.

Xarchas K, Bourandas J: Injuries and disease of the Spine in ancient times. Spine J. 2003;28(13):1481–1484.

Ye F, Li H, Qiao G, et al. Platelet-rich plasma gel in combination with Schwann cells for repair of sciatic nerve injury. Neural Regen Res. 2012;7(29):2286.

Young IS. Woodside JV. "Antioxidants in health and disease", J Clinic Pathol. 2001;54:176Z186.

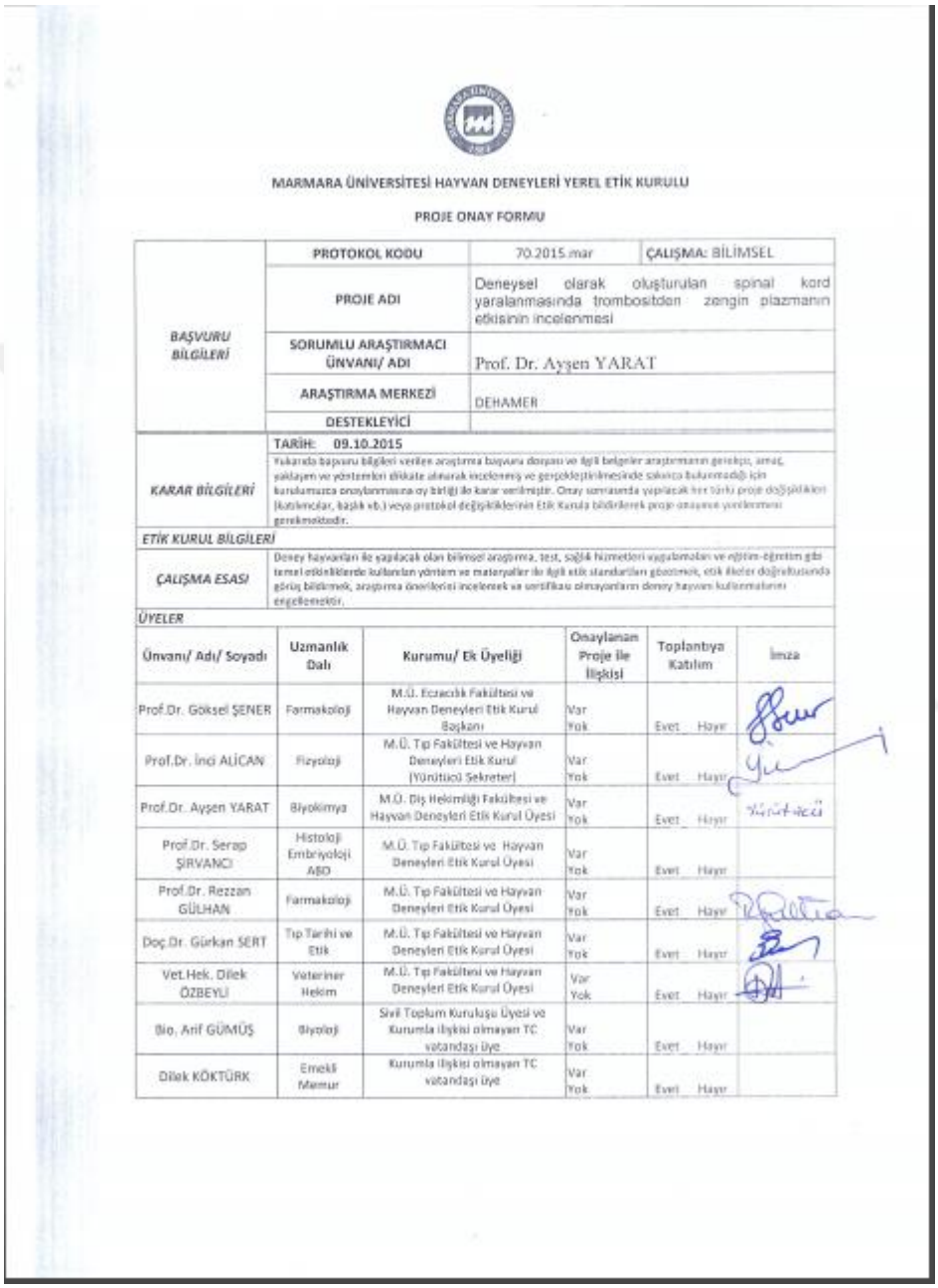
Young W. Spinal cord contusion models. Prog Brain Res. 2002;137, 231–255.

Zileli M, Gülmen V. Deneysel omurilik yaralanması. In: Zileli M, Ozer AF (eds). Omurilik ve omurga cerrahisi 2002:1: 951-956

Zhang N, Fang M, Chen H, Gou F, Ding, M. Evaluation of spinal cord injuryanimal models. Neural Regen Res. 9, 2014.

7. EKLER

7.1. Etik Kurul Onayı



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	70.2015.mar	ÇALIŞMA: BİLİMSEL
	PROJE ADI	Deneysel olarak oluşturulan spinal kord yaralanmasında trombositden zengin plazmanın etkisinin incelenmesi	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Ayşen YARAT	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER	
	DESTEKLEYİCİ		
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 09.10.2015		
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçesi, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.		

ÜYELER

Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var / Yok	Evet / Hayır	
Prof.Dr. İnci ALİCAN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul (Yürütücü Sekreter)	Var / Yok	Evet / Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var / Yok	Evet / Hayır	Yürütücü
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var / Yok	Evet / Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var / Yok	Evet / Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var / Yok	Evet / Hayır	
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var / Yok	Evet / Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var / Yok	Evet / Hayır	
Dilek KÖKTÜRK	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var / Yok	Evet / Hayır	

7.2. Özgeçmiş

Adı	HİLAL	**Soyadı**	YAPICI
Doğum Yeri	RİZE	**Doğum Tarihi**	1990
Uyruğu	T.C	**E-mail**	Crescent_56@hotmail..com

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	Marmara Üniversitesi - Biyoloji	2013
Lise	Beşiktaş Lisesi	2009

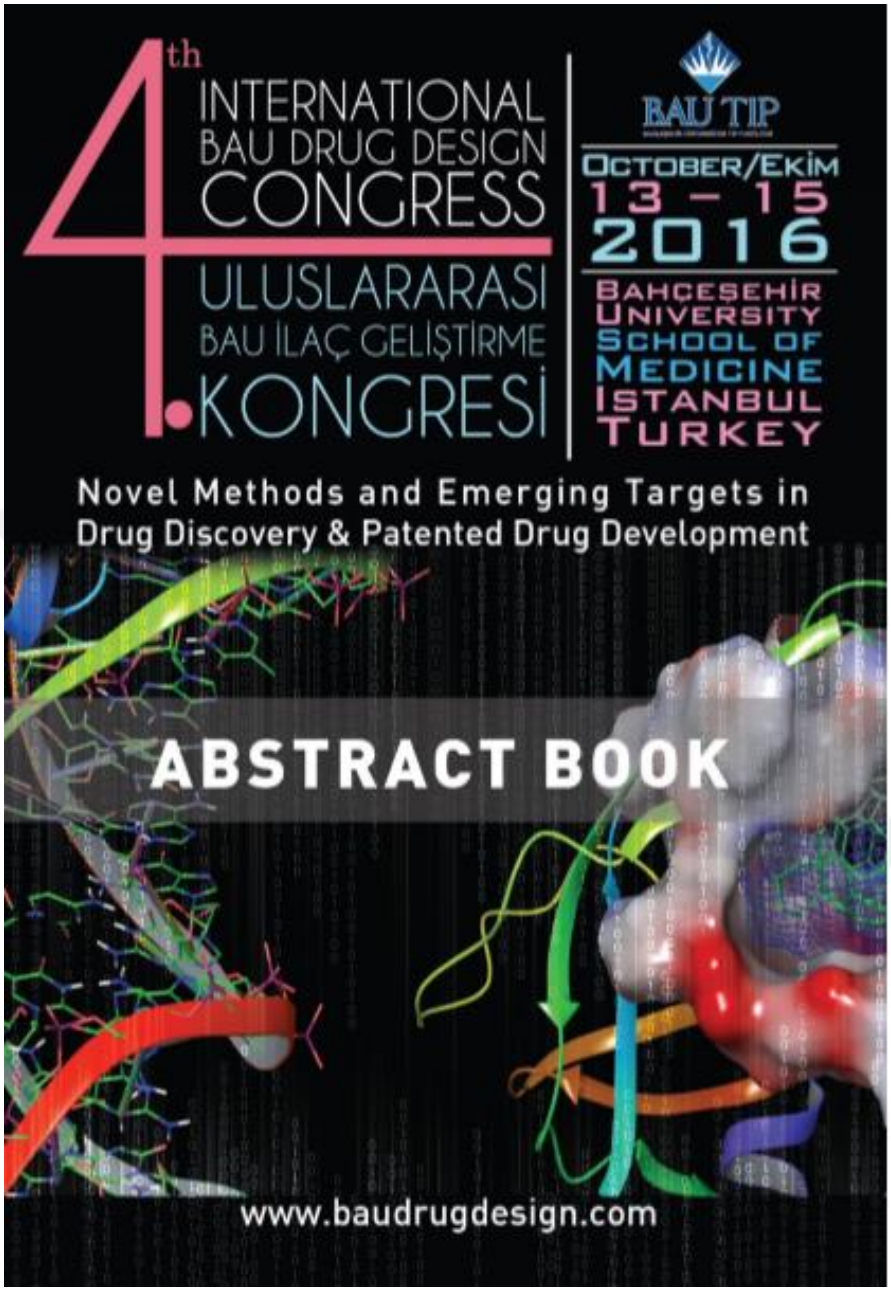
Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	İYİ	İYİ	İYİ

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
MC OFFİCE	İYİ

7.3 Kongre Kabul Yazıları ve Özetleri



PP-20 The Effect of Platelet Rich Plasma in Experimental Spinal Cord Injury

Hilal Sari[a], Burcin Alev[a], Mehmet Ersahin[b], Emin Mehmet Eminoglu[b], Goksel Sener[c], Aysen Yarat[a]

[a]Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Dentistry, Marmara University, Istanbul,Turkey; [b]Istanbul Medeniyet University, School of Medicine, Department of Neurosurgery, Istanbul,Turkey; [c]Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Marmara University, Istanbul, Turkey

E-mail: burcinalew@yahoo.com.tr

Background: Spinal cord injury (SCI) can lead to urinary tract infections, kidney and bladder problems (1). Oxidative stress and activation of inflammatory pathways in the SCI play an important role in tissue damage (2). Platelets have many growth factors and cytokines which start wound healing. Growth factors are released from platelets by stimulation with various agents. Platelet rich plasma (PRP) provides rapid improvement in both soft and hard tissues (3). In this study, the potential protective effect of application of PRP to spinal cord on the antioxidant-oxidant parameters of kidney after spinal cord injury was investigated.

Methods: Sprague-Dawley male rats were divided into three groups; control group, SCI group and PRP applied SCI group. Modified weight-drop model was performed for SCI induction. PRP was prepared by two consecutive centrifugations and applied to spinal cord. A week after SCI induction, rats were decapitated and kidneys were taken. Kidney tissue homogenates were prepared in saline to examine for malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels by thiobarbituric acid (4) and Ellman (5) methods respectively.

Results: Kidney GSH level decreased and MDA level increased significantly in SCI group compared to control group ($p<0.001$). Application of PRP improved GSH and MDA levels significantly compared to SCI group ($p<0.01$).
Conclusions: PRP treatment may have beneficial effects against SCI induced oxidative damage in kidney tissues through its anti-inflammatory and antioxidant effects. PRP treatment could ensure maintenance of oxidant-antioxidant balance.

Keywords: Spinal cord injury, *platelet rich plasma, oxidant-antioxidant parameters*

References:

128. Harrison SCW. Managing the urinary tract in spinal cord injury. (2010) ***Indian J Urol.***; 26(2): 245–252.
129. Şener TE, Tinay İ, Akbal C, Erşahin M, Çevik Ö, Çadırcı S, Çilingir ÖT, Çetinel Ş, Şener G. Tadalafil attenuates spinal cord injury induced oxidative organ damage in rats. (2014). ***Marmara Pharm.***; 18: 49-55.
130. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. (2013). ***Immunity & Ageing***; 10:23:1-10.
131. Ledwozyw A, Michalak J, Stępień A, Kądziołka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. (1986). ***Clin Chim Acta***; 155: 275-283.
132. Beutler E. Glutathione in red cell metabolism. (1975). In: ***A manual of Biochemical Methods***. 2nd ed., Beutler E. (Ed), Grune and Stratton, NY ; pp.112-114.